



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO
FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES ZARAGOZA
LABORATORIO DE ESTEQUIOMETRÍA Y MICROBIOLOGÍA
AMBIENTAL**

**Absorción y traslocación de metales pesados en helechos
colonizadores del relave “La Concha” en Taxco, estado de
Guerrero**

T E S I S

Que para obtener el título de

Bióloga

Presenta:

Gabriela Abad Moreno

Dr. Jorge Antonio Valdivia Anistro
Director de Tesis

Dra. A. Lourdes Castillo
Granada
Asesora

Dra. María Magdalena Ayala
Hernández
Asesora



Ciudad de México, Octubre 2024



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas

Tesis Digitales

Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©

PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

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

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

Dedicatoria

A mi tía, Ninfa Abad Moreno.

A mi abuelo, Mucio Abad Morales.

Y a todos los amigos que me motivaron a comenzar, continuar y concluir esta etapa.

Agradecimientos

Al Dr. Jorge Antonio Valdivia Anistro como director de tesis, por todo el apoyo y asesoría académica brindada antes y durante el desarrollo de esta.

A la Dra. A. Lourdes Castillo Granada, por las asesorías académicas para la preparación de las muestras y la cuantificación de metales pesados por espectroscopia de absorción atómica.

A la Dra. María Magdalena Ayala Hernández, por el apoyo como asesora de tesis.

Al Dr. Santiago Ramírez Barahona del Instituto de Biología de la Universidad Nacional Autónoma de México, por el apoyo para la identificación taxonómica de los ejemplares.

Al M. en C. Armando Cervantes Sandoval, por las asesorías académicas brindadas para el análisis estadístico.

Índice

Resumen.....	1
Introducción.....	2
Marco Teórico.....	3
Antecedentes.....	7
Planteamiento del problema.....	8
Descripción de la zona de estudio.....	9
Justificación.....	11
Pregunta de investigación.....	13
Hipótesis.....	13
Objetivos.....	13
 CAPÍTULO I. Muestreo, almacenamiento e identificación taxonómica de los helechos colonizadores del relave minero “La Concha”	
Método.....	14
Resultados.....	16
Discusión.....	18
Conclusión.....	20
 CAPÍTULO II. Determinación del color y, cuantificación del pH y de la materia orgánica en el sustrato asociado al rizoma de los helechos colonizadores del relave “La Concha”	
Método.....	21
Resultados.....	21
Discusión.....	23
Conclusión.....	25
 CAPÍTULO III. Concentración de metales (Pb, Fe, Cd, Cu y Zn) en el sustrato, rizoma, peciolo, frondas y esporas de los helechos colonizadores del relave “La Concha”	
Método.....	26
Resultados.....	27
Discusión.....	32
Conclusión.....	37
 CAPÍTULO IV. Evaluación de la capacidad de absorción y traslocación de los metales por los helechos colonizadores del relave “La Concha”	
Método.....	38
Resultados.....	39
Discusión.....	42
Conclusión.....	47
 CAPÍTULO V. Análisis de correlación estadística para identificar la influencia de las propiedades químicas del relave con la absorción de metales pesados de los helechos	
Método.....	48
Resultados.....	48
Discusión.....	55
Conclusión.....	57
Bibliografía.....	58

Resumen

Los metales pesados (MP) son contaminantes que no se degradan e impactan los componentes ecosistémicos de forma irreversible. En los últimos años, se han buscado nuevas alternativas para mitigar el daño ambiental que generan. La fitorremediación es una alternativa ambientalmente amigable que permite la acumulación e inmovilización de los MP. El éxito de la técnica de biorremediación depende de las propiedades de la planta. Por esta razón, el análisis de plantas que habitan sitios contaminados con MP es una opción viable para identificar cuáles pueden ser eficientes para su extracción e inmovilización. Debido a su versatilidad ecológica, los helechos tienen la capacidad de establecerse en suelos con MP en concentraciones altas, como ocurre en los relaves mineros. Los relaves de Taxco están colonizados por varias especies de helechos. El objetivo de la presente investigación fue analizar la capacidad de absorción y de traslocación de MP en los helechos colonizadores del relave “La Concha” en Taxco. Para cumplir con este objetivo, se realizó un recorrido a lo largo de la superficie del relave para identificar las zonas de colonización de los helechos. Se colectaron ejemplares de helechos y se identificaron taxonómicamente como *Pityrogramma ebenea*, *Polypodium plesiosorum*, *Cheilanthes cuneata* y *Adiantum amplum*. Adicionalmente, se colectaron muestras del sustrato asociado al rizoma y raíces de cada helecho para analizar sus propiedades químicas. Estos géneros de helechos han sido descritos en sitios con MP. Los valores de pH y el color del sustrato sugieren un estado avanzado de oxidación en el relave, lo que limita la formación de materia orgánica. Estos helechos absorben y translocan cadmio (Cd), cobre (Cu), hierro (Fe) y zinc (Zn) de las raíces a la fronda e incluso a las esporas. Para conocer su uso potencial en la fitorremediación se calcularon los factores de acumulación en raíz (RAF) y en brotes (SAF), así como el factor de translocación (TF). De acuerdo con los factores de bioconcentración (RAF y SAF), los helechos colonizadores del relave “La Concha” son 'plantas indicadoras' y se encuentran en el umbral para ser consideradas 'hiperacumuladoras' para algunos MP ($TF > 1.0$). Finalmente, las condiciones químicas y la capacidad de extracción e inmovilización de MP por estos helechos fue similar a lo que ha sido descrito en otras plantas que habitan sitios mineros contaminados. Por lo tanto, las especies de helechos que fueron identificadas tienen la capacidad de habitar sitios contaminados con MP, aunque es la primera vez que son reportadas colonizando un relave minero. Además, la acidez alta del suelo del relave impide el desarrollo de procesos edafológicos a pesar de la presencia de vegetación, lo cual, pudo ser corroborado con la concentración baja de materia orgánica. A pesar de esto, los helechos pueden establecerse en estos sitios y tener una capacidad limitada de absorber y translocar los MP.

Introducción

Los metales son elementos inorgánicos presentes naturalmente en el ambiente, algunos son nutrientes esenciales y otros son altamente tóxicos (Rascio & Navari-Izzo, 2011). Sin embargo, todos los metales a altas concentraciones son considerados contaminantes (Tchounwou *et al.*, 2012). Los metales pesados son contaminantes derivados de actividades antropogénicas y generan graves problemas ambientales debido a que no pueden degradarse (Hazrat *et al.*, 2019). El suelo es un componente ambiental sensible a la presencia de metales pesados, debido a que se unen a la fracción orgánica y propician su alteración y degradación química (Tchounwou *et al.*, 2012). También, los metales pesados pueden reemplazar a elementos fisiológicamente esenciales y producir estrés oxidativo, dañando componentes celulares como la membrana celular y el ADN (Jadia & Fulekar, 2009).

Los sitios contaminados con metales pesados han aumentado debido al incremento de la actividad industrial y minera (Briffa *et al.*, 2020). Por lo que, es imperante la búsqueda de estrategias que ayuden a remediar dichos sitios de manera eficiente (Mishra & Bharagava, 2016). Una alternativa es la *fitorremediación* debido a que las plantas tienen la capacidad de absorber metales pesados del aire, agua y suelo (Wei *et al.*, 2020a). Las técnicas de fitorremediación más utilizadas son la *fitoextracción* (acumulación de metales pesados) y la *fitoestabilización* (inmovilización de metales pesados) (Jadia & Fulekar, 2009).

En función de la concentración acumulada de MP en tejidos vegetales, las plantas se clasifican en: *excluseras* (no movilizan los metales pesados a la biomasa aérea), *indicadoras* (sus tejidos vegetales reflejan la misma concentración de metales pesados que hay en el sustrato), *acumuladoras* (translocan y acumulan metales pesados en la biomasa aérea) e *hiperacumuladoras* (acumulan metales pesados en la biomasa aérea más rápidamente y en concentraciones significativamente más altas) (Suman *et al.*, 2018). Las plantas hiperacumuladoras acumulan los metales pesados en su biomasa aérea y no presentan síntomas de toxicidad (Rascio & Navari-Izzo, 2011).

La *absorción* y la *traslocación* de metales pesados en las plantas se calcula a través del *factor de bioconcentración* (FB), el cual se divide en factor de acumulación en raíz (RAF = *Root Accumulation Factor*) y factor de acumulación en brotes (SAF = *Shoot Accumulation Factor*). El indicador del transporte interno de los metales pesados es el *factor de traslocación* (FT) (Medina & Montano, 2014).

Diversas plantas pueden absorber uno o varios metales pesados en ordenes de magnitud de miligramos por kilogramo (mg Kg^{-1}), por ejemplo: La herbácea *Eleocharis acicularis* (Cyperaceae), la cual puede absorber cobre ($\text{Cu} = 20,200 \text{ mg Kg}^{-1}$), zinc ($\text{Zn} = 11,200 \text{ mg Kg}^{-1}$), cadmio ($\text{Cd} = 239 \text{ mg Kg}^{-1}$) y arsénico ($\text{As} = 1470 \text{ mg Kg}^{-1}$) (reportada en Ali *et al.*, 2013); *Schima superba* (Theaceae), puede absorber $62,412.3 \text{ mg Kg}^{-1}$ de manganeso (Mn) y, *Alyssum markgrafii* (Brassicaceae) puede absorber $19,100 \text{ mg Kg}^{-1}$ de níquel (Ni) (reportadas en Ashraf *et al.*, 2019). Los helechos son un grupo de plantas que ha

mostrado una capacidad alta de absorción y acumulación de metales pesados son los helechos (Prakash, 2011).

Marco teórico

Concentraciones altas de metales pesados pueden degradar la calidad del suelo y de otros componentes ecosistémicos, además de afectar la dinámica de las redes tróficas (Tchounwou *et al.*, 2012). Estos efectos adversos se deben a que los metales pesados no pueden ser degradados y tienen una persistencia alta, por lo que, solo pueden ser transferidos y acumulados (Hazrat *et al.*, 2019). Su interacción con los componentes tróficos es porque tienen la capacidad de unirse a las moléculas orgánicas a través de uniones específicas (ligando-metal), lo cual, puede ocasionar la inhibición de dichas moléculas o la modificación de su estructura y organización. Además, los metales pesados pueden desplazar y reemplazar elementos esenciales en el metabolismo, produciendo efectos adversos de deficiencia y la síntesis de moléculas que generan estrés oxidativo (radicales libres). Este estrés oxidativo provoca la inactivación de proteínas y de enzimas, así como la peroxidación lipídica de la membrana celular y daño sobre el ADN (Navarro-Aviñó *et al.*, 2007; Jadia & Fulekar, 2009).

En los últimos años, el número de sitios contaminados con metales pesados ha aumentado, principalmente por el incremento de la actividad industrial y minera (Fashola *et al.*, 2016; Demková *et al.*, 2017; Yang *et al.*, 2018; Briffa *et al.*, 2020). Por lo que, es imperante la búsqueda de estrategias que ayuden a remediar dichos sitios de manera eficiente (Mishra & Bharagava, 2016).

Las plantas que se establecen en sitios contaminados con metales pesados desarrollan tolerancia a estos compuestos y se protegen a través de la distribución de los metales a tejidos del apoplasto donde no ocasionen efectos adversos y mediante el proceso de quelación (secuestro de metales por la unión a ligandos específicos, como peptídicos, para su posterior movilización hacia el interior de las vacuolas) (Pilon-Smits, 2005; Llugany *et al.*, 2007; Memon & Schröder, 2009).

Los *helechos* son plantas vasculares que se pueden establecer y desarrollar en suelos de origen antropogénico (Kachenko *et al.*, 2007) y acumular diferentes metales pesados (p. ej., *Pityrogramma calomelanos*, acumuladora As; Francesconi *et al.*, 2002). En condiciones ambientales controladas *Adiantum aethiopicum*, *Blechnum cartilagineum*, *Calochlaena dubia*, *Doodia aspera*, *Hypolepis muelleri*, *Nephrolepis cordifolia* y *Pellaea falcata* absorben Cd, Cr, Cu, Ni, Pb y Zn (Kachenko *et al.*, 2007). Los helechos han sido denominados *tragadores de metales pesados* (*heavy metal guzzlers*; Prakash, 2011). Lo que hace posible que se puedan utilizar varias especies de helechos en la biorremediación de sitios contaminados con metales pesados como los relaves mineros.

Se describe que diferentes especies de helechos se han establecido en *relaves mineros* y han mostrado la capacidad de absorber los metales pesados presentes en el sustrato (Wei *et al.*, 2020b). Por esta razón se consideran una alternativa para rehabilitar estos pasivos ambientales (Jally *et al.*, 2021). La vegetación asociada a los relaves mineros se ha adaptado

a condiciones de estrés a través de mecanismos de absorción/acumulación o exclusión de metales pesados, sin embargo, la respuesta fisiológica varía significativamente dependiendo de la especie y del metal en cuestión (Munford *et al.*, 2022). Es importante analizar el potencial de absorción y translocación de las diferentes especies de helechos que colonizan los relaves mineros.

Aunque la *fitorremediación* se utiliza en la biorremediación de sitios contaminados con metales pesados, los relaves mineros representan un reto mayor porque estos sitios se caracterizan por condiciones heterogéneas de pH, baja capacidad de retención de agua, altas concentraciones de metales pesados y ausencia de materia orgánica, nitrógeno y fósforo (Kossoff *et al.*, 2014). En teoría no hay condiciones para que las plantas sobrevivan y toleren las condiciones de estrés presentes en los relaves mineros (Wang *et al.*, 2017). Debido a esto, la remediación de relaves mineros se había enfocado en la estabilización física y química, sin embargo, son medidas paliativas que solo estabilizan temporalmente las condiciones ambientalmente adversas (Méndez & Maier, 2008).

Se ha observado que plantas nativas presentes en zonas aledañas a los relaves mineros desarrollan tolerancia a condiciones adversas y empiezan a colonizarlos (Jally *et al.*, 2021). Estas plantas nativas establecen las condiciones para que se inicie una *sucesión ecológica* (Munford *et al.*, 2022). Adicionalmente, absorben y translocan los metales pesados a lo largo de su biomasa vegetal, lo que limita su dispersión (Wang *et al.* 2017).

La tolerancia a metales pesados se puede resumir en dos procesos básicos: *exclusión* y *acumulación*. De acuerdo con la concentración de metales pesados que las plantas tolerantes almacenan en sus tejidos se pueden clasificar en (Kidd *et al.*, 2007; Bieby *et al.*, 2011; Suman *et al.*, 2018): *excluseras* (impiden la traslocación de los metales del sustrato a la parte aérea de la planta), *indicadoras* (contienen en sus tejidos la misma concentración de metales que en el sustrato), *acumuladoras* (almacenan los metales en la parte aérea) e *hiperacumuladoras* (conservan los metales en una cantidad de interés para la fitorremediación de sitios contaminados mediante la fitoextracción). Sin embargo, la mayoría de las plantas tolerantes a metales pesados se comportan como excluseras (Rascio & Navari-Izzo, 2011). Estas plantas restringen la absorción y la traslocación de los metales, lo que permite mantener concentraciones constantes y relativamente bajas en su biomasa aérea (Kidd *et al.*, 2007). A pesar de esto, la mayor atención se ha puesto en las plantas hiperacumuladoras debido a su capacidad para extraer uno o más metales pesados, las cuales, tienen una traslocación rápida y eficiente desde las raíces hasta la biomasa aérea, sin mostrar ningún síntoma visible de toxicidad (Kidd *et al.* 2007; Rascio & Navari-Izzo, 2011).

Las plantas ideales para la fitorremediación de preferencia deben ser de rápido crecimiento, tener alta cantidad de biomasa, un sistema radicular extenso, ser fáciles de cosechar y tolerar o acumular metales pesados en sus partes cosechables (Ali *et al.*, 2013). Sin embargo, no se ha descrito ninguna planta con todas esas características, por lo que las plantas que poseen gran cantidad de biomasa y son de rápido crecimiento pueden ser

modificadas genéticamente para que puedan hiperacumular algunos metales (Yang *et al.*, 2005).

Las técnicas de fitorremediación más utilizadas son: *fitodegradación*, *fitovolatilización*, *fitoextracción*, y *fitoestabilización* (Sarwar *et al.*, 2016). En sitios contaminados con metales pesados sólo se pueden implementar la *fitoextracción* (extracción y acumulación de los contaminantes en los órganos aéreos de la planta) y la *fitoestabilización* (inmovilización o reducción de la movilidad y biodisponibilidad de los contaminantes por el sistema radical y microorganismos asociados). Ambas técnicas sólo se pueden llevar a cabo con plantas que hayan desarrollado tolerancia a los metales pesados (Jadia & Fulekar, 2009; Gil-Loaiza *et al.*, 2016).

Las plantas aptas para la *fitoestabilización* necesitan expresar un mecanismo de exclusión de metales pesados y tener valores de FB y FT < 1.0. Por el contrario, las plantas aptas para la *fitoextracción* deben expresar un mecanismo de acumulación de metales pesados y tener valores de FB y FT > 1.0 (Méndez & Maier, 2008). De estas técnicas, la fitoextracción ha generado mayor interés debido a la posibilidad de extraer los metales pesados de forma eficiente. Para esto, se requieren plantas acumuladoras o hiperacumuladoras, las cuales, tienen una tasa de crecimiento lenta, raíces con penetración a poca profundidad y generación de poca biomasa (Yang *et al.*, 2005; Wang *et al.*, 2017). Estas plantas hiperacumuladoras deben tener la capacidad de absorber de 10 a 500 veces más a la sustancia contaminante en comparación con una planta de un sitio conservado (Yanqun *et al.*, 2005) o acumular >10.000 mg Kg⁻¹ de Zn y Fe, >1.000 mg Kg⁻¹ de Cu, Pb o >100 mg Kg⁻¹ de Cd, respectivamente (Kidd *et al.*, 2007).

Hay muchas maneras de medir la absorción y la traslocación de metales pesados en las plantas. El *factor de bioconcentración* (FB) es un indicador de la absorción de metales pesados en la planta y se puede dividir en: *factor de acumulación en raíz* (RAF = *Root Accumulation Factor*) y *factor de acumulación en brotes* (SAF = *Shoot Accumulation Factor*). Mientras que un indicador del transporte interno de los metales pesados es el *factor de traslocación* (FT) (Vyslouzilova, 2003; Kachenco *et al.*, 2007; Mendez & Maier, 2008; Medina & Montano, 2014). Estos factores se estiman de la siguiente manera:

$$RAF = \frac{\text{concentración del metal en el tejido radicular}}{\text{concentración en el sustrato}}$$

$$SAF = \frac{\text{concentración del metal en el tejido aéreo}}{\text{concentración en el sustrato}}$$

$$FT = \frac{\text{concentración del metal en el tejido aéreo}}{\text{concentración en el tejido radicular}}$$

Antecedentes

Los *helechos* son plantas vasculares que se reproducen por esporas, pero tienen raíces verdaderas, tallos y hojas complejas (United States Department of Agriculture [USDA], 2022). Se conocen ~10,500 especies, pero se estima que el número de especies se aproxima a las ~15,000 (Britannica, 2022). Los helechos pueden desarrollarse en hábitats con diferentes condiciones ambientales, como suelos contaminados o de origen antropogénico (Kachenko *et al.*, 2007). Varias especies han mostrado la capacidad de *acumular* diferentes *metales pesados*, como: *Pityrogramma calomelanos* que acumula As (Francesconi *et al.*, 2002); *Pteris biaurita* L., *P. quadriaurita* Retz y *P. ryukyuensis* Tagawa son hiper acumuladoras de As en frondas y raíces (Srivastava *et al.*, 2006); *Salvinia minima* Baker es un helecho acuático hiper acumulador de Pb (Gómez *et al.*, 2009); *P. vittata* acumula As y Pb, *P. multifida* y *P. oshimensis* son hiper acumuladoras de As en frondas en el rango de 1262-47,235 mg Kg⁻¹ (Tangahu *et al.*, 2011). Así también varias pteridofitas ubicadas en un río contaminado (Iksan *et al.*, 2019) y, cuatro especies de *Cheilanthes* (acumulación de Ni y Pb en hojas; Ghorpade *et al.*, 2021).

En estudios bajo condiciones controladas, se ha observado que varias especies de helechos tienen la capacidad de tolerar, sobrevivir y acumular diferentes metales pesados como son Cd, Cr, Cu, Ni, Pb y Zn (Kachenko *et al.*, 2007). Lo que sugiere que especies de este grupo pueden ser contempladas en la biorremediación de sitios contaminados con metales pesados (Zhao *et al.*, 2002; Srivastava *et al.*, 2006). Por esta capacidad mostrada, los helechos han sido considerados como *tragadores de metales pesados* (Prakash, 2011).

En relaves mineros, diferentes especies de helechos se han establecido y han mostrado la capacidad de acumular los metales que contiene el sustrato (Chang *et al.*, 2005; Chang *et al.*, 2009; Wei *et al.*, 2020); por lo que, han sido consideradas como una estrategia para su rehabilitación y para la recuperación de MP (Zhou *et al.*, 2011; Claverina *et al.*, 2020; Jally *et al.*, 2021).

Por lo tanto, la vegetación asociada a sitios contaminados con metales pesados como los relaves mineros, presenta mecanismos de acumulación o exclusión que les permite tolerar las concentraciones de estos y, aunque la respuesta de los helechos puede variar significativamente dependiendo de la especie y del metal (Kachenco *et al.*, 2007), son una alternativa importante para la remediación o estabilización de estos sitios.

Planteamiento del problema

Taxco es una de las principales zonas mineras del país desde la época prehispánica. En este periodo de tiempo, metales como Ag, Cu, Pb, Zn y Au fueron extraídos y durante este proceso, se generaron grandes cantidades de desechos, dando origen a los *relaves mineros* (Talavera *et al.*, 2005). Algunos de estos relaves se localizan dentro del área habitable, propiciando la interacción de las sustancias contaminantes (como los metales

pesados) con sus habitantes (Talavera *et al.*, 2006). Los metales pesados y otros contaminantes (material particulado $PM_{2.5}$ y PM_{10}) de los relaves mineros representan un problema ecológico y de salud pública, debido a su relación con enfermedades crónicas (cardíacas, pulmonares, respiratorias e, incluso, cáncer) (Méndez & Maier, 2008). Además, debido a su composición química, los relaves mineros son susceptibles a la oxidación ambiental generando *lixiviados* extremadamente ácidos (*drenaje ácido de mina*, DAM) que incrementan la movilidad de los metales pesados (Méndez *et al.*, 2007).

Anteriormente, los relaves mineros de Taxco tenían la capacidad para neutralizar el DAM a través de la calcita adyacente en la zona, sin embargo, el proceso es dependiente de la disponibilidad del mineral (Talavera *et al.*, 2005). Varios metales pesados están presentes en altas concentraciones en estos relaves y su movilidad aumenta significativamente en la temporada de lluvia (Talavera *et al.*, 2006). De acuerdo con las concentraciones promedio de algunos relaves de la región de Taxco, el relave minero “La Concha” se destaca por tener concentraciones altas de Cd, Cu, Pb y Zn (Talavera *et al.*, 2016) y, valores de pH ácidos (< 2.9) hasta ligeramente alcalinos (8.4) (Sánchez-Montero, 2019). A pesar de las condiciones previamente descritas algunas plantas han colonizado al relave. En “La Concha” se identificaron 23 especies de plantas pertenecientes a 16 familias, destaca la presencia del helecho *Pityrogramma calomelanos* (Gómez-Bernal *et al.*, 2010).

Los helechos son una opción viable para la absorción y translocación de metales pesados (Prakash, 2011) y, de esta forma inducir una sucesión ecológica (Munford *et al.*, 2022). En particular, *Pityrogramma calomelanos* identificada en el relave minero “La Concha”, es el único helecho fuera del género *Pteris* que se considera hiperacumulador de metales pesados, en este caso de As (Francesconi *et al.*, 2002). Debido a esto, es importante explorar el potencial de absorción y de traslocación de metales pesados en los helechos colonizadores del relave minero “La Concha” como un grupo potencial de plantas nativas para desarrollar la fitorremediación en sitios mineros de Taxco.

Descripción de la zona de estudio

La región de Taxco ha sido una de las más importantes productoras de metales preciosos en México desde la época prehispánica y continuó así durante la época colonial (1521-1810) hasta la actualidad. En este periodo de tiempo las minas de Taxco han producido principalmente Ag, volviéndose una de las áreas productoras más grades de México. Sin embargo, también se ha llegado a producir Au, Pb, Zn, y Cu (Talavera *et al.*, 2005).

Taxco se encuentra a 1,752 msnm y el lecho rocoso en el área está compuesto por esquistos, calizas, areniscas, lutitas, capas rojas y rocas volcánicas ácidas cuyas edades van desde el Cretácico hasta el Oligoceno (Talavera *et al.*, 2006). El clima de la zona es semicálido subhúmedo y la principal temporada de lluvias ocurre en el verano (junio-septiembre), con lluvias esporádicas en el otoño (octubre-diciembre) y la temporada seca ocurre durante el invierno y la primavera (enero-mayo) (Gómez-Bernal *et al.*, 2010). La

vegetación prevaleciente es el bosque tropical caducifolio (Martínez *et al.* 2004; Hinojosa-Espinosa & Cruz-Durán, 2010).

Algunas veces los desechos mineros se vertían directamente a los ríos, mientras que en otras ocasiones se acumulaban cerca de las minas (Talavera *et al.*, 2005). La mayoría de los relaves, excepto los niveles superiores de los relaves “Guerrero II” y “La Concha” fueron generados antes de 1976 a partir de la explotación de minas individuales. Las personas que trabajaron en las minas afirman que los niveles más bajos de “La Concha” se generaron durante el periodo 1940-1950 (Talavera *et al.*, 2005).

Los relaves mineros de Taxco presentan altas concentraciones de Ag, Cd, Cu, Fe, Mn, Pb, V, Zn y As. En general, son heterogéneos y liberan cantidades importantes de metales tóxicos, dicha liberación está controlada esencialmente por el pH. Con valores de pH altos, las concentraciones de metales disminuyen drásticamente, incluso por debajo del límite de detección del método. En contraparte, con un pH ligeramente ácido a casi neutro y bajo condiciones oxidantes, los metales se precipitan para formar varios tipos de sulfatos, carbonatos e hidróxidos o se absorben en superficies de óxidos de Fe y oxihidróxidos (Talavera *et al.*, 2005).

Las características fisicoquímicas de los relaves de Taxco indican que tienen una gran capacidad para generar DAM con grandes cantidades de metales tóxicos y sulfato (SO_4^{2-}). Sin embargo, este se puede neutralizar a través de la calcita, y de los oxihidróxidos de Fe y de Al, produciendo lixiviados casi neutros con cantidades considerables de As, Fe, Zn, Cd y Mn. La neutralización de DAM a través de la calcita suele alcanzar un $\text{pH} > 6.5$, mientras que a través de oxihidróxidos de Fe y Al se obtiene un $\text{pH} = 4.5 - 6.5$. Con base en las condiciones de los relaves, es altamente probable que la calcita aún actúe como el principal amortiguador de pH, pero la capacidad de neutralización de esta se agota localmente dando lugar a la neutralización a través de los oxihidróxidos e incluso con arcilla (Talavera *et al.*, 2006).

El relave “La Concha” se encuentra a ~12 Km del suroeste de la ciudad de Taxco y contiene desechos mineros originados entre 1940 y 1970 (Gómez-Bernal *et al.*, 2010). Mientras que el pH del mismo muestra valores de neutro a ligeramente básico ($\text{pH} = 7.0 - 8.4$) o ácidos ($\text{pH} < 2.9$), teniendo un amplio rango entre 2.9 y 8.4 (Talavera *et al.*, 2005).

Algunas plantas nativas de la zona han colonizado el relave, pertenecen a 23 especies de 16 familias, entre las cuales las mejor representadas son: Asteraceae, Cupressaceae, Amaranthaceae, Commelinaceae y Fabaceae. Destacando la presencia del helecho *Pityrogramma calomelanos* (Gómez-Bernal *et al.*, 2010)

Justificación

Aunque la fitorremediación comenzó a aplicarse en algunos sitios contaminados con metales pesados, los relaves mineros representan un mayor reto, ya que se caracterizan por tener valores de pH extremos, baja capacidad de retención de agua, altas concentraciones de metales pesados, alta salinidad y ausencia de materia orgánica, nitrógeno y fósforo (Qiu &

Sego, 2001; Moreno & Neretnieks, 2006; Courtney, 2013; Kossoff *et al.*, 2014). En teoría no hay condiciones para que las plantas sobrevivan y toleren las condiciones de los relaves (Wang *et al.*, 2017). Debido a esto, la remediación de relaves mineros se había enfocado en la estabilización física y química. La estabilización física consiste en cubrir los desechos mineros con un material inocuo y la estabilización química implica utilizar un agente químico para formar una costra temporal sobre los relaves (Méndez & Maier, 2008).

Actualmente se ha observado que en relaves mineros algunas plantas nativas han desarrollado suficiente tolerancia a las condiciones existentes como para iniciar a colonizarlos (Zhou *et al.*, 2011; Claverina *et al.*, 2020; Jally *et al.*, 2021). Esto, resulta fundamental para considerar las técnicas de fitorremediación, ya que el uso de especies nativas es esencial debido a que han demostrado tener mayor tolerancia a las condiciones ambientales locales, proveen una base para la sucesión ecológica y la incorporación de especies introducidas representa un problema para la biodiversidad. Incluso, representa una opción más eficiente, ya que el dosel de las plantas reduce la dispersión eólica, mientras que las raíces previenen la erosión hídrica, inmovilizan los metales mediante adsorción o acumulación y proveen una rizosfera en la que los metales se precipitan y estabilizan (Méndez *et al.*, 2007; Méndez & Maier, 2008; Noriega-Luna *et al.*, 2016; Wang *et al.*, 2017).

En Taxco se encuentra un distrito minero que tuvo una actividad alta desde tiempos prehispánicos, generando grandes cantidades de desechos (Talavera *et al.* 2005; 2006). Los desechos mineros de este distrito no recibieron un tratamiento para disminuir su toxicidad antes de su acumulación, por lo que, son una fuente importante de contaminación, a través de la formación del DAM (Méndez *et al.*, 2007). Adicionalmente, los relaves mineros se caracterizan por tener una composición heterogénea que impide el desarrollo de procesos edáficos que, en consecuencia, limitan la disponibilidad de nutrientes y la formación de materia orgánica (Kossoff *et al.*, 2014). Todo lo anterior limita la formación de costras biológicas y el establecimiento de plantas para generar una sucesión ecológica (Wang *et al.*, 2017). Sin embargo, diversos relaves mineros tienen evidencias de mecanismos de resiliencia que disminuyen y cambian las condiciones de estrés a través del establecimiento de bacterias fijadoras de nitrógeno (Huang *et al.*, 2011), la formación de costras biológicas (Liu *et al.*, 2012) y, en consecuencia, el establecimiento de vegetación (Li *et al.*, 2016). Estas respuestas resilientes han sido descritas en el relave “La Concha”, así como la presencia de materia orgánica (Montero-Sánchez, 2019; Arias-Muñoz y Contreras-Vázquez, 2022; García-Gutiérrez, 2022; Villagómez-Peña, 2022; Sánchez-López, 2023), por lo que, es imperante analizar la capacidad de absorción y de translocación de metales pesados por los helechos que se encuentran colonizando los residuos mineros, como una alternativa para la identificación de nuevas especies vegetales que puedan ser utilizadas en la remediación del distrito minero de Taxco.

Pregunta de investigación

¿Cuál es la capacidad de absorción y de translocación de metales pesados de los helechos colonizadores del relave minero “La Concha”?

Hipótesis

Los helechos son plantas que tienen la capacidad de tolerar concentraciones elevadas de metales pesados, lo cual, les ha permitido colonizar el relave minero “La Concha” y, en consecuencia, tendrán la capacidad de absorber dichos elementos hasta alcanzar niveles de hiperacumulación y realizarán su translocación a sus partes aéreas sin mostrar síntomas de toxicidad.

Objetivos

Objetivo general

Analizar la capacidad de absorción y de traslocación de metales pesados por los helechos colonizadores del relave “La Concha” en Taxco, estado de Guerrero.

Objetivos particulares

- i. Identificar taxonómicamente los helechos para conocer la diversidad de especies que se encuentran colonizando el relave minero “La Concha”.
- ii. Determinar el color, el pH y la cantidad de materia orgánica del sustrato que se encuentra en contacto directo con las raíces de los helechos.
- iii. Cuantificar la concentración de metales pesados (Pb, Fe, Cu, Zn y Cd) para conocer su abundancia en el sustrato y en diferentes estructuras anatómicas de los helechos (rizoma, peciolo, frondas y esporas de los helechos).
- iv. Calcular los factores de bioacumulación y de traslocación de los metales pesados por los helechos para definir su capacidad potencial para biorremediación.
- v. Realizar un análisis de correlación para identificar la influencia de las propiedades químicas del relave con la absorción de metales pesados de los helechos.

CAPÍTULO I

Muestreo, almacenamiento e identificación taxonómica de los helechos colonizadores del relave minero “La Concha”

a. Método

Se realizaron recorridos en el área de distribución del relave “La Concha”. Se observó la presencia de diferentes ejemplares de helechos, principalmente en la base de este (Figura 1D). Por lo que, el número de individuos disminuye en la proximidad de la parte alta. Los sitios de muestreo se seleccionaron con base en la heterogeneidad de la topografía, color del sustrato, tipo de vegetación y crecimiento de las plantas.

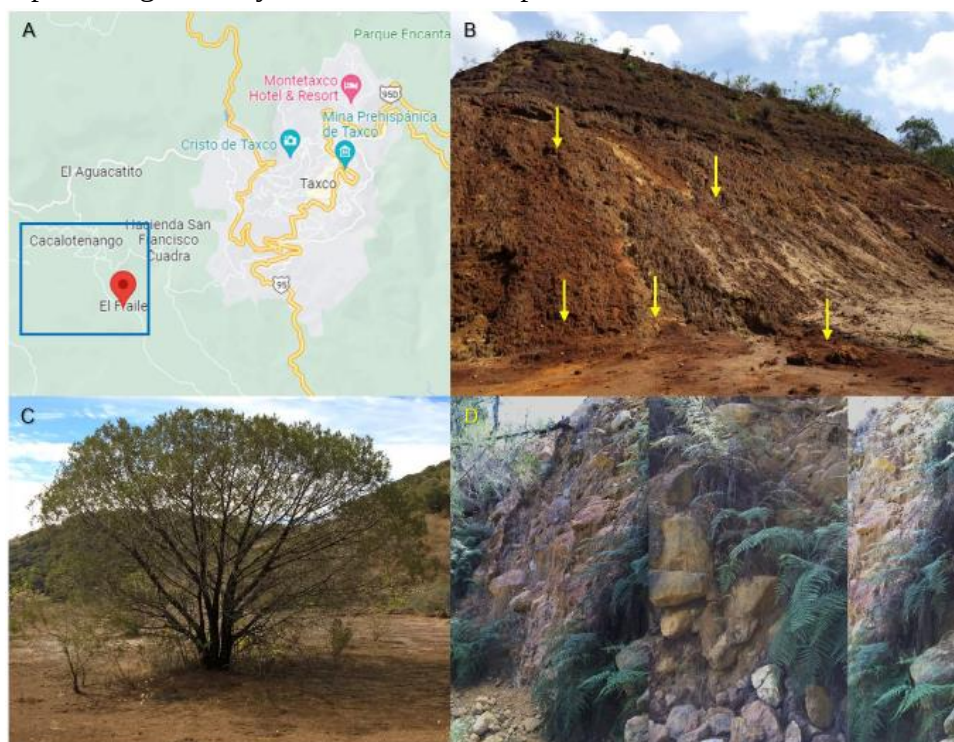


Figura 1. Relave minero “La Concha” en Taxco, estado de Guerrero. A) El cuadro en color azul representa el área con presencia de relaves en el Distrito Minero de Taxco; B) Relave minero “La Concha”, las flechas en color amarillo indican los puntos con presencia de formación de DAM; C) Vegetación que se encuentra colonizando la parte superior del relave; D) Ejemplares de helechos que fueron observados en la superficie del relave “La Concha”.

Se recolectaron helechos en etapa reproductiva, los cuales se herborizaron de acuerdo con el método propuesto por Lot y Chiang (1986).

Además, se colectaron aproximadamente 200g del sustrato que se encontraba en contacto directo con el rizoma, el cual, fue almacenado en bolsas con cierre hermético a 4.0°C y en oscuridad para evitar su alteración química.

La identificación taxonómica de los ejemplares de helechos se realizó con apoyo del Dr. Santiago Ramírez Barahona en el Instituto de Biología de la Universidad Nacional Autónoma de México (UNAM).

b. Resultados

Antes del presente trabajo de investigación, sólo se había reportado a *Pityrogramma calomelanos* como la única especie de helecho colonizando el relave “La Concha” (Gómez-Bernal *et al.*, 2010). Sin embargo, durante el recorrido para la selección de los sitios de muestreo se observaron otras especies.

Los sitios del relave colonizados por helechos se caracterizaban por tener varios tipos de plantas, por el color y la cantidad de sustrato. Tomando en cuenta estas características se seleccionaron cuatro sitios de muestreo.

El **sitio 1 (S1)** es el más lejano al centro del relave y está próximo al río Cacalotenango, los helechos no crecen directamente sobre el relave sino sobre una pared con sustrato expuesto a la intemperie, por lo que, presenta evidencias de formación de lixiviados. En este sitio se colectó únicamente una especie que no pudo ser identificada taxonómicamente (Figura 2).



Figura 2. Ejemplar de helecho ubicado en el sitio 1 que no pudo ser identificado taxonómicamente.

El **sitio 2 (S2)** se encuentra dentro del relave y se colectaron dos individuos de helechos. El **sitio 3 (S3)** se encuentra hacia la parte central del relave y los helechos ya empiezan a presentar mayores síntomas de toxicidad y también se colectaron dos individuos. Los helechos de ambos sitios fueron identificados como *Pityrogramma ebenea* (Figura 3).



Figura 3. Ejemplo de un helecho identificado como *Pityrogramma ebenea*, especie colectada en los sitios 2 y 3.

El **sitio 4** es el lugar más cercano al centro del relave con presencia de helechos. Se colectaron tres individuos que fueron identificados como: *Cheilanthes cuneata* (Figura 4), *Polypodium plesiosorum* (Figura 5), y *Adiantum amplum* (Figura 6).



Figura 4. Sitio 4: *Cheilanthes cuneata*.



Figura 5. Sitio 4: *Polypodium plesiosorum* Kunze.



Figura 6. Sitio 4: *Adiantum amplum* C. Presl.

c. Discusión

El mayor reto para la identificación taxonómica de los helechos colonizadores del relave “La Concha” fueron los síntomas de toxicidad que presentaban algunos ejemplares ante las condiciones de estrés del sitio, como: la acidez, la ausencia o deficiencia de nutrientes y las concentraciones altas de metales pesados. Visualmente algunos ejemplares presentaban decoloración en las frondas, malformaciones o necrosis, ausencia de esporas y un rizoma casi inexistente conforme se adentraban en el relave. Estos efectos son comunes en plantas que habitan sitios contaminados con metales pesados por ser organismos sésiles y no poder huir de la fuente de estrés (Yadav *et al.*, 2021). En otra planta presente en este relave minero *Cupressus lindleyi*, han sido descritas alteraciones estructurales en sus ramas y hojas por exposición prolongada a metales pesados (Gómez-Bernal *et al.*, 2014). Los helechos responden de la misma manera a la presencia de metales pesados en su hábitat (Balestri *et al.*, 2014; Das & Mazumdar, 2016; Bora & Sarma, 2021). Debido a esto, el ejemplar

recolectado en el sitio 1 no pudo ser identificado adecuadamente. Sin embargo, sí se identificaron los otros cuatro individuos que colonizaban el relave minero.

Hasta el desarrollo del presente trabajo sólo se había reportado una especie de helecho en el relave, *Pityrogramma calomelanos* (Gómez-Bernal *et al.*, 2010). La cual pertenece a la familia Pteridaceae, es nativa de la zona y fue reportada como hiperacumuladora de arsénico (Francesconi *et al.*, 2002). En este estudio se encontró a *Pityrogramma ebenea*. Hasta el momento, este sería el primer registro de esta especie colonizando un sitio contaminado con metales pesados, a pesar de ser clasificada como una especie exótica con un potencial amplio de colonización (List of Species Alien in Europe and to Europe, 2009). Sin embargo, es probable que *P. ebenea* tenga la misma capacidad de hiperacumulación de metales como ha sido observado en otras especies del género, como *P. calomelanos* (Pulukkunadu-Thekkeveedu & Hegde, 2021).

Con respecto a las demás especies que se identificaron, una pertenece a la familia Polypodiaceae (*Polypodium plesiosorum*) y dos a la familia Pteridaceae (*Adiantum amplum* y *Cheilanthes cuneata*), respectivamente. Es importante mencionar que *Cheilanthes cuneata* que es una especie endémica de México (Departamento de Botánica, Instituto de Biología). Para *Polypodium plesiosorum* no existen reportes sobre su ubicación en sitios con presencia o con capacidad de absorber metales pesados, como ha sido observado en otras especies del género, como: *P. lanceolatum* (Jayasekera & Rossbach, 1996) y *P. cambricum* (Roccoliello *et al.*, 2010); para esta última especie existe una investigación que describe los cambios en crecimiento, ultraestructura y germinación de esporas por efecto del cobre (Muccifora, 2008). Mientras que, para *Adiantum amplum*, no existen reportes sobre capacidad de absorber o tolerar metales pesados pero, otras especies han mostrado cambios metabólicos y oxidativos por estos cationes (Kováčik *et al.*, 2022). Finalmente, la especie endémica de México, *Cheilanthes cuneata*, tampoco tiene trabajos que describan su capacidad de absorción de absorción y translocación de metales.

Según la CONABIO la zona de distribución de las especies identificadas todas resultaron ser nativas de la zona, característica importante para considerar la fitorremediación del sitio. Además, la presencia de los helechos *Pityrogramma ebenea*, *Polypodium plesiosorum*, *Cheilanthes cuneata* y *Adiantum amplum* en el relave minero es evidencia de un proceso de resiliencia ecológica, un indicio de un proceso de sucesión ecológica y la etapa inicial para su estabilización (Wong, 2003; Méndez & Maier, 2008; Suzuki & Yoshida, 2015; Farley & Voinov, 2016).

d. Conclusión

El relave minero “La Concha” se encuentra colonizado por helechos, lo cual, era de esperarse porque estos organismos vegetales tienen la capacidad de desarrollarse en sitios contaminados con metales pesados. Se identificaron helechos de géneros taxonómicos que han sido encontrados en sitios contaminados con metales pesados y que tienen la capacidad de absorberlos. Sin embargo, las especies identificadas en el presente estudio no tienen reportes de establecimiento en este tipo de depósitos de desechos mineros y se desconoce su capacidad potencial de absorción de metales pesados. Finalmente, las especies de helechos identificadas se encuentran dentro de su zona de distribución, lo cual, las convierte en candidatas para la biorremediación de sitios contaminados en sitios con las mismas condiciones ambientales si tienen la capacidad de absorción y translocación de con metales pesados.

CAPÍTULO II

Determinación del color y, cuantificación del pH y de la materia orgánica en el sustrato asociado al rizoma de los helechos colonizadores del relave “La Concha”

a. Método

Las muestras de sustrato se secaron a temperatura ambiente y, posteriormente, se hizo su disgregación en un tamiz de 2.0 mm para quitar las partículas de mayor tamaño. El color se determinó con el método comparativo con las tablas Munsell (AS-22) y el contenido porcentual de materia orgánica (%MO) se realizó con el método de Walkley & Black (AS-07); ambos descritos en la NOM-021-RECNAT-2000.

La determinación del pH se realizó con dos métodos, primero fue cuantificado en agua ($\text{pH}_{\text{H}_2\text{O}}$) durante el trabajo en campo con el método potenciométrico establecido en el “Manual de técnicas de análisis de suelos aplicadas a la remediación de sitios contaminados” (Fernández-Linares *et al.*, 2006). Posteriormente, en laboratorio, el pH fue determinado con el método electrométrico en solución de cloruro de potasio (pH_{KCl} ; KCl 1.0M) establecido en la NOM-021-RECNAT-2000. El método electrométrico en solución de cloruro de potasio (KCl 1.0M) es recomendable para estudios en suelos ácidos y, los resultados obtenidos normalmente, generan una disminución del pH de hasta de 1.5 unidades, respecto a los valores obtenidos al medir el pH en agua. La solución de KCl ayuda a disminuir las variaciones derivadas de soluciones de suelo concentradas o diluidas.

b. Resultados

El color del sustrato al rizoma de los helechos colonizadores del relave “La Concha” fue heterogéneo en los cuatro sitios de muestreo (Tabla 1). El color en condiciones secas tuvo una predominancia de tonos amarillos oscuros; mientras que, en húmedo, el color amarillo cambio a pardo.

Tabla 1. Color del sustrato asociado al rizoma de los helechos que colonizan el relave “La Concha”.

H = helecho y S = sitio.

		Color	
		Seco	Húmedo
Sitio 1	H1S1	<i>Very dark gray</i> Gris muy oscuro	<i>Black</i> Negro
Sitio 2	H1S2	<i>Yellowish brown</i> Marrón amarillento	<i>Dark yellowish brown</i> Marrón amarillento oscuro
	H2S2	<i>Brown</i> Marrón	<i>Brown</i> Marrón
Sitio 3	H1S3	<i>Brownish yellow</i> Amarillo parduzco	<i>Dark yellowish brown</i> Marrón amarillento oscuro
	H2S3	<i>Yellowish brown</i> Marrón amarillento	<i>Dark yellowish brown</i> Marrón amarillento oscuro
Sitio 4	H1S4	<i>Dark yellowish brown</i> Marrón amarillento oscuro	<i>Dark yellowish brown</i> Marrón amarillento oscuro
	H2S4	<i>Dark yellowish brown</i> Marrón amarillento oscuro	<i>Dark yellowish brown</i> Marrón amarillento oscuro
	H3S4	<i>Yellowish brown</i> Marrón amarillento	<i>Dark yellowish brown</i> Marrón amarillento oscuro

Los valores de pH fueron variables en los cuatro sitios de muestreo, con una predominancia de valores ácidos (~63%) (Tabla 2). El pH_{H_2O} mostró un rango que va de 3.3 hasta 9.19, es decir desde valores *fuertemente ácidos* hasta valores *fuertemente alcalinos*. El pH_{KCl} también tuvo un amplio rango de valores, desde 2.56 hasta 7.65, es decir desde valores *fuertemente ácidos* hasta *medianamente alcalino*.

Tabla 2. pH del sustrato asociado al rizoma de los helechos que colonizan el relave “La Concha”.

H = helecho y S = sitio. Clasificación [NOM-021-SEMARNAT-2000]: rojo = fuertemente ácido; azul = moderadamente ácido; café = medianamente alcalino y, verde = fuertemente alcalino.

	Sitio 1	Sitio 2		Sitio 3		Sitio 4		
	H1S1	H1S2	H2S2	H1S3	H2S3	H1S4	H2S4	H3S4
pH (H₂O)	9.19	4.8	5.15	3.3	3.54	6.37	6.37	3.62
pH (KCl)	7.65	4.3	3.38	2.56	2.58	6.48	6.48	3.50

La concentración de la **materia orgánica** (%MO; método de Walkley & Black) en el sustrato del rizoma tuvo valores clasificados como *muy bajos* a *medio*, siendo predominantemente *muy bajo* (Tabla 3).

Tabla 3. Porcentaje de materia orgánica en el sustrato asociado al rizoma de los helechos que colonizan el relave “La Concha”. H = helecho y S = sitio. Clasificación [NOM-021-SEMARNAT-2000]: rojo = bajo; verde = medio y, azul = muy alto.

	Sitio 1	Sitio 2		Sitio 3		Sitio 4		
	H1S1	H1S2	H2S2	H1S3	H2S3	H1S4	H2S4	H3S4
% MO	ND	1.75	6.63	1.57	3.49	1.95		7.53

Para el sitio 1 no fue posible detectar la presencia de materia orgánica y, fue el sitio con el color más oscuro y con pH altos. Para el resto de los sitios de muestreo, los colores fueron similares entre sí. Los sitios 2 y 4 mostraron valores contrastantes de materia orgánica; mientras que el sitio 3 tuvo la concentración más baja cuantificada en este parámetro. Una tendencia en estos tres sitios (de 2 a 4) fue la dominancia de pH ácidos.

c. Discusión

Los *relaves mineros* están conformados por una mezcla de partículas de diferente tamaño que no cumplen con las condiciones físicas y químicas para que se lleven a cabo los procesos que participan y definen a los suelos naturales (Kossof *et al.*, 2014). A pesar de esto, el sustrato de los relaves es clasificado como un *tecnosol*, un suelo de origen antropogénico derivado de actividades económicas (Echevarría & Morel, 2015). Por esta razón, para poder analizar las propiedades del sustrato asociado al rizoide de los helechos, se utilizaron normas y métodos empleados en el estudio de suelos naturales. Con base en el **color del suelo** es posible inferir los procesos de pedogénesis y depende de la presencia de materia orgánica, hierro y, en una menor proporción, de manganeso (Owens & Rutledge, 2005). Sin embargo, los colores determinados en las muestras de las raíces de los helechos están vinculados al grado de *oxidación de los desechos mineros*, debido a la abundancia de *sulfuros minerales* (como la pirita) y a concentraciones altas de *hierro* (Talavera-Mendoza *et al.*, 2005). La oxidación del ion sulfuro (S^{2-}) que está presente en la pirita, produce ácido sulfúrico (H_2SO_4) que, en consecuencia, se acidifica la zona y se lleva a cabo la oxidación del hierro (Fe^{2+} a Fe^{3+}) (Li *et al.*, 2021). El proceso anterior genera el *color pardo-rojizo* característico de los relaves mineros (Montero-Sánchez, 2019).

El **pH del suelo** es considerado como la propiedad más importante para generar el ambiente óptimo para el funcionamiento de las comunidades microbianas y vegetales, debido a determina su reactividad por medio del estatus acidez-alcalinidad (Bolanand & Kandaswamy, 2005). También, el pH influye en la cantidad y estabilidad en los nutrientes y en las sustancias tóxicas que se acumulan en el suelo (Thomas, 1996). De acuerdo con la

NOM-021-SEMARNAT-2000, los sustratos asociados al rizoides de los helechos se clasificaron como: *fuertemente ácidos*, *moderadamente ácidos*, *medianamente alcalinos* y, *fuertemente alcalinos*. Esta variabilidad de pH es una característica de los relaves mineros y que se vincula con su composición heterogénea (Crognale *et al.*, 2017). Esto ha sido observado en muestras de sustrato del relave “La Concha” con ausencia (Montero-Sánchez, 2019; Arias-Muñoz & Contreras-Vázquez, 2022) o con presencia de vegetación (Villagómez-Peña, 2022). De hecho, Villagómez-Peña, 2022, analizó el pH del sustrato asociado a los musgos colonizadores de “La Concha”, observando que en la mayoría de los sitios dónde se ubicaban estos organismos los valores de pH fueron neutros. Pero, en la parte baja del relave, que fue el área dónde fueron colectados los helechos del presente estudio, el sustrato tiene una tendencia hacia la acidez (Arias-Muñoz & Contreras-Vázquez, 2022).

Una característica que define a los relaves mineros es la ausencia de **materia orgánica** (Šimonovičová *et al.*, 2019); esta generalidad fue aplicada en la descripción de los relaves de Taxco como “La Concha” (Corrales-Pérez & Romero, 2013; Talavera-Mendoza *et al.*, 2015). Sin embargo, en “La Concha”, Montero-Sánchez (2019) y Arias-Muñoz & Contreras-Vázquez (2022) cuantificaron el porcentaje de materia orgánica (%MO) en sitios con presencia y ausencia de vegetación. Los valores de %MO obtenidos en el presente estudio son similares a lo cuantificado en la parte baja del relave, que es el área de ubicación de los helechos (Arias-Muñoz & Contreras-Vázquez, 2022). En comparación con los musgos, el sustrato de las raíces de los helechos presentó una concentración mayor de materia orgánica (Villagómez-Peña, 2022); La mayor concentración cuantificada en el sustrato de los musgos es la menor en los helechos. La formación de la materia orgánica del suelo es un proceso que depende de diversas variables, siendo el pH, la textura y la actividad microbiana las que mayor influencia pueden tener (Lehmann & Kleber, 2015). Los relaves mineros se caracterizan tener una textura gruesa (un contenido elevado de arenas; Echevarría & Morel, 2015) y una tendencia hacia la acidificación (por la oxidación de sus residuos se produce el drenaje ácido de mina; Gil-Loaiza *et al.*, 2016; Shi *et al.*, 2016). Estas condiciones limitan el establecimiento de comunidades microbianas que participen en los procesos de humificación (He *et al.*, 2022).

d. Conclusión

Las propiedades químicas del sustrato asociado al rizoides de los helechos colonizadores del relave “La Concha” mostraron las limitaciones en los procesos edafológicos y, en consecuencia, de las condiciones nutricionales. Por su composición, el sustrato del relave tiende a la oxidación, generando condiciones de acidez extrema; siendo el color y los valores de pH evidencias de esta condición ambiental. En consecuencia, existe una limitada formación de materia orgánica; aunque hubo sitios que presentaron concentraciones óptimas de este parámetro. Estas condiciones adversas impedirían el establecimiento de cualquier especie vegetal, sin embargo, los helechos son plantas que

tienen una capacidad adaptativa amplia que les ha permitido desarrollarse en sitios contaminados con metales pesados.

CAPÍTULO III

Concentración de metales (Pb, Fe, Cd, Cu y Zn) en el sustrato, rizoma, peciolo, frondas y esporas de los helechos colonizadores del relave “La Concha”

a. Método

En laboratorio, los helechos fueron fraccionados en rizoma, peciolo, frondas y esporas. A excepción de las esporas, cada estructura vegetal se lavó con agua destilada y secada a temperatura ambiente sobre papel de estraza. Una vez secas las estructuras anatómicas de los helechos se realizó una digestión ácida (García *et al.* 2006).

Para la digestión se utilizó material lavado con agua acidulada para evitar interferencias. La digestión de cada estructura de los helechos se realizó por separado y se utilizaron 0.3 g de cada muestra. La digestión se llevó a cabo en vasos de precipitado (50mL) utilizando una mezcla (3:1, ácido nítrico, HNO₃, y ácido sulfúrico, H₂SO₄) en una parrilla de calentamiento y en la campana de extracción. La digestión concluyó cuando la solución se volvió transparente y liberó vapor blanco. Posteriormente, cada muestra fue aforada a 50 mL con agua destilada. Posterior al aforo, la muestra se filtró en un embudo a través de una capa de algodón y se almacenaron en frascos de polietileno previamente lavados con agua acidulada (Ahn *et al.* 2011).

El sustrato fue secado a temperatura ambiente. Una vez secadas las muestras, fueron procesadas a través de un tamiz de 2.0 mm para quitar las partículas grandes. Una fracción del sustrato fue procesado a través de un tamiz de 0.5 mm. Posteriormente, se realizó su maceración de la muestra en un mortero de ágata (SEMARNAT, 2000). A partir de este punto, el procesamiento de las muestras fue similar a lo realizado con las muestras de biomasa vegetal.

La cuantificación de los metales pesados se realizó con la técnica de Espectroscopía de absorción atómica de flama (AAS). La lectura de la concentración de los diferentes metales se realizó con la asesoría técnica y experimental de la Dra. Lourdes Castillo Granada del Laboratorio de Espectroscopia (FES-Zaragoza, UNAM). El instrumento utilizado fue un espectrofotómetro de absorción atómica marca Varían, modelo 1475, con lámparas de cátodo hueco para cada elemento y con mezcla de aire/acetileno para la flama. Las lecturas se obtuvieron en absorbancia y se interpolaron en una curva de calibración de concentración conocida.

b. Resultados

La concentración de los metales pesados en el sustrato y en las estructuras anatómicas de los helechos colonizadores del relva “La Concha” fueron comparadas con límites máximos permisibles (LMP) de la normatividad mexicana y de la Organización Mundial de la Salud (WHO = *World Health Organisation*) (Tabla 4; Figura 7).

En el **sustrato asociado al rizoide** de los tres helechos del sitio 4 (H1S4, H2S4 y H3S4) se encuentran por arriba del LMP para **Pb** establecido en la NOM-147-SEMARNAT/SSA1-2004 para suelos contaminados con metales pesados ($400 \text{ mg Kg}^{-1} \text{ Pb}$); en todas las muestras, la concentración de **Fe** se encuentra por debajo del LMP de la WHO ($50,000 \text{ mg Kg}^{-1} \text{ Fe}$). Finalmente, todas las concentraciones de **Cd**, **Cu** y **Zn** se encuentran por arriba de los LMP establecidos ($37 \text{ mg Kg}^{-1} \text{ Cd}$, NOM-147-SEMARNAT/SSA1-2004; $100 \text{ mg Kg}^{-1} \text{ Cu}$ y $300 \text{ mg Kg}^{-1} \text{ Zn}$, WHO).

En las **estructuras anatómicas** de los helechos (Figura 8), el **Pb** no fue detectado en la mayoría de las muestras. En cinco muestras el **Pb** no fue cuantificado en el sustrato, pero se observó su presencia en el rizoma; esto es de esperarse por la interacción directa entre ambos. El helecho H1S2 mostró evidencias de su translocación al peciolo; mientras que los helechos H1S3 y H2S3 tuvieron evidencias de translocación a las frondas. En cinco helechos, el **Fe** fue translocado de forma secuencial del rizoide hasta las frondas; tres helechos (H1S2, H1S3 y H2S3) lo translocaron hasta el peciolo y, los tres helechos con esporas lograron translocar este elemento hasta dicha estructura reproductiva. El **Cd** no fue detectado en el rizoma de H1S1, en el peciolo de H1S2 y, en las esporas de H2S4. En el resto de los helechos, el **Cd** fue translocado de rizoide a frondas (H1S3, H2S3 y H3S4) y de rizoide a esporas (H2S2 y H1S4). El **Cu** y el **Zn** no mostraron limitaciones de translocación, porque fueron movilizados del rizoide al resto de las estructuras aéreas, incluyendo las esporas. Un dato interesante es que los helechos (H1S3 y H2S3) que translocan Pb a las frondas no pueden hacerlo con el Fe y viceversa.

Tabla 4. Concentración de metales pesados en sustrato, rizoma, peciolo, frondas y esporas. * = helechos con esporas. Valores que rebasan los límites máximos permisibles en sustrato de acuerdo con: § = NOM-147-SEMARNAT/SSA1-2004; ¥ = World Health Organisation (tomado de Ogunlana *et al.*, 2020).

			Pb	Fe	Cd	Cu [¥]	Zn
			[mg Kg ⁻¹]				
H1S1 [No identificado]		Sustrato	ND	46,667	667 [§]	833 [¥]	10,238 [¥]
		Rizoma	167	3000	ND	204	274
		Peciolo	ND	55	10	130	69
		Fron das	ND	167	20	130	78
H1S2 [Pityrogramma ebenea]		Sustrato	ND	28,333	167 [§]	1,667 [¥]	2,619 [¥]
		Rizoma	278	2,778	98	617	719

H2S2* [Pityrogramma ebenea]		Peciolo	42	55	ND	130	88	
		Fron das	ND	ND	20	148	137	
		Sustrato	ND	33,333	333 [§]	3,333 [¥]	2,143 [¥]	
		Rizoma	667	8,500	33	792	333	
		Peciolo	ND	778	50	375	381	
		Fron das	ND	1,000	50	333	500	
		Esporas	ND	833	25	187	107	
H1S3 [Pityrogramma ebenea]		Sustrato	ND	39,444	500 [§]	1,667 [¥]	952 [¥]	
		Rizoma	83	6,722	29	204	441	
		Peciolo	ND	333	15	194	132	
		Fron das	42	ND	29	148	294	
		H2S3 [Pityrogramma ebenea]	Sustrato	ND	46,111	333 [§]	1,667 [¥]	1,905 [¥]
			Rizoma	500	6,000	50	708	405
			Peciolo	ND	222	17	667	99
Fron das	208		ND	50	458	286		
H1S4* [Polypodium plesiosorum]			Sustrato	1,667 [§]	22,778	500 [§]	2,917 [¥]	3,571 [¥]
			Rizoma	170	2947	17	637	461
			Peciolo	ND	778	33	375	524
		Fron das	ND	13,89	17	208	381	
		Esporas	ND	3,167	25	312	357	
H2S4* [Cheilanthes cuneata]		Sustrato	1,667 [§]	22,778	500 [§]	2,917 [¥]	3,571 [¥]	
		Rizoma	170	2,947	17	637	461	
		Peciolo	ND	667	17	333	238	
		Fron das	ND	778	33	250	405	
		Esporas	ND	1,167	ND	250	286	
H3S4 [Adiantum amplum]		Sustrato	3,333 [§]	9,444	500 [§]	3,333 [¥]	1,667 [¥]	
		Rizoma	ND	1,833	33	333	476	
		Peciolo	ND	2,885	38	240	494	
		Fron das	ND	889	33	250	452	

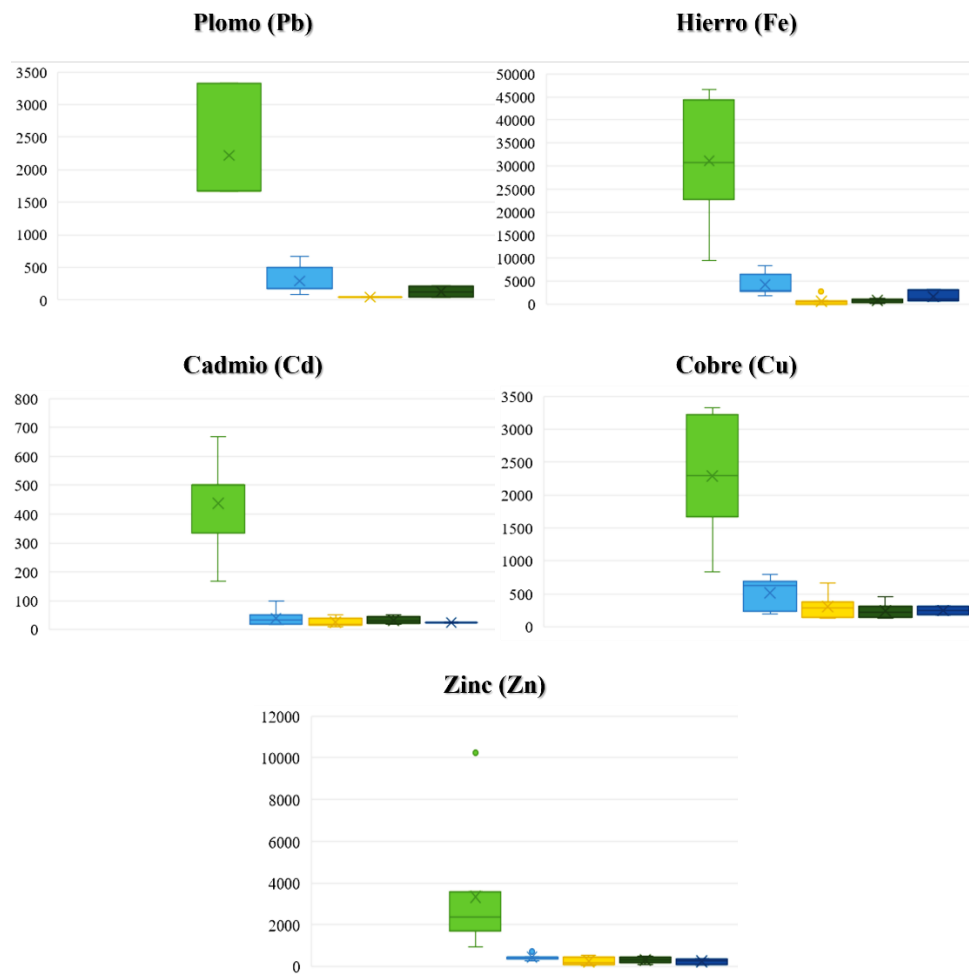


Figura 7. Variación de la concentración (mg Kg⁻¹) de los metales pesados en el sustrato (**verde claro**), rizoma (**azul claro**), peciolo (**amarillo**), frondas (**verde oscuro**) y esporas (**azul oscuro**).

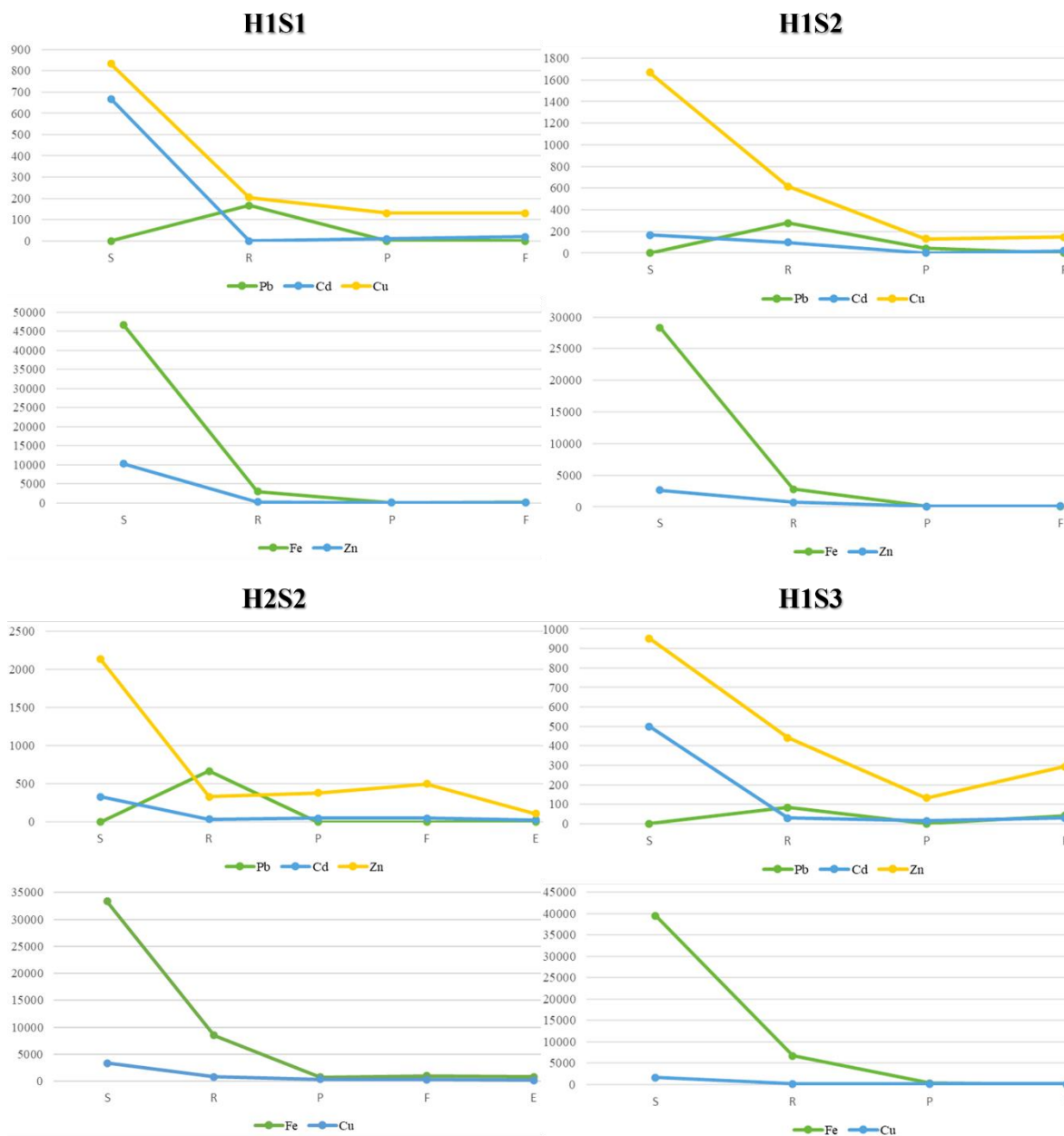


Figura 8. Dinámica de translocación de los metales pesados del sustrato al rizoide y, posteriormente, a las partes aéreas de los helechos colonizadores del relave minero “La Concha”. Concentraciones en mg Kg^{-1} . H1S1 = desconocido; H1S2, H2S2, H1S3 y H2S3 = *Pityrogramma ebenea*; H1S4 = *Polypodium plesiosorum*; H2S4 = *Cheilanthes cuneata* y, H3S4 = *Adiantum amplum*.

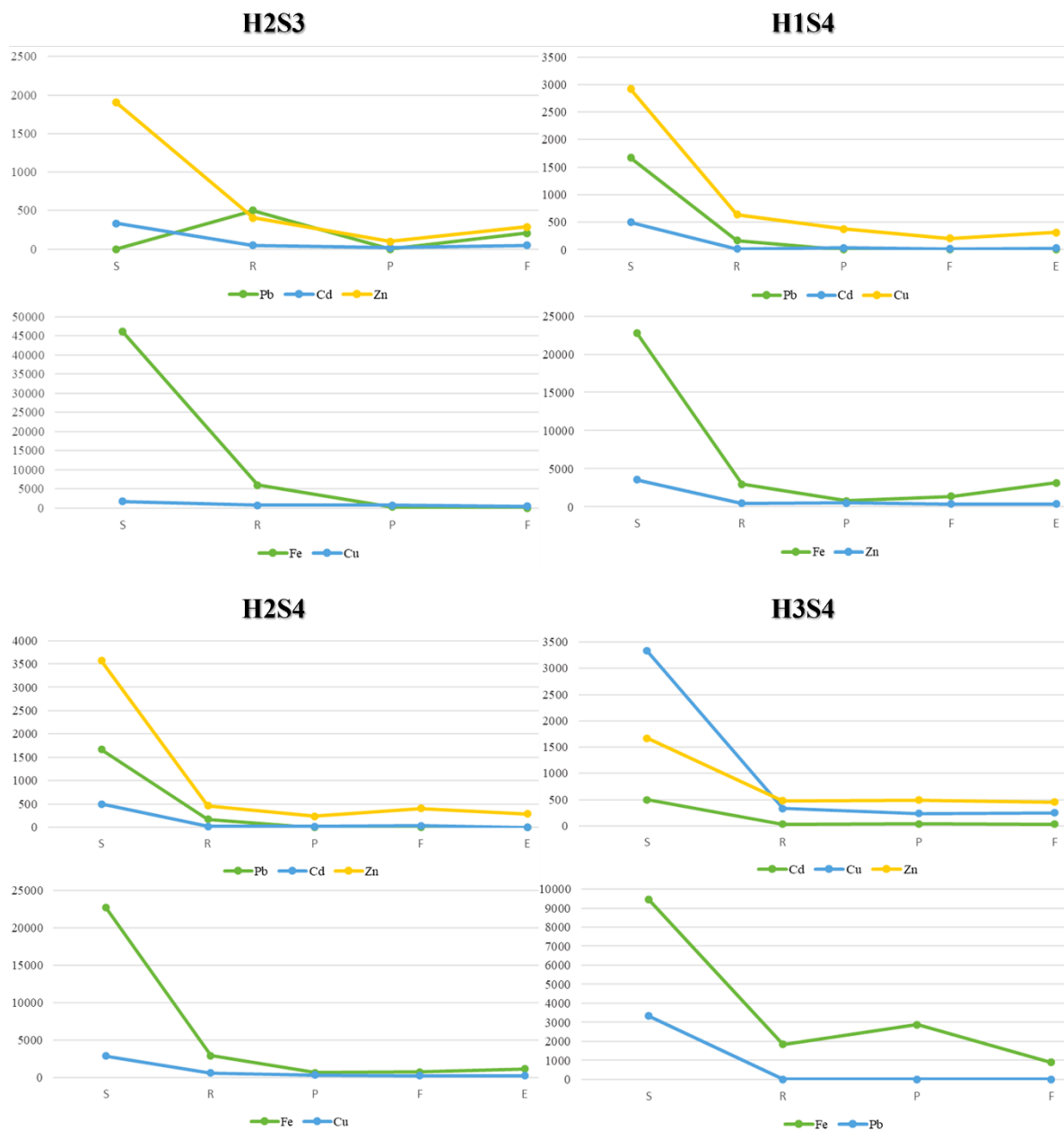


Figura 8. Continuación. Dinámica de translocación de los metales pesados del sustrato al rizoides y, posteriormente, a las partes aéreas de los helechos colonizadores del relave minero “La Concha”. Concentraciones en mg Kg⁻¹. H1S1 = desconocido; H1S2, H2S2, H1S3 y H2S3 = *Pityrogramma ebenea*; H1S4 = *Polypodium plesiosorum*; H2S4 = *Cheilanthes cuneata* y, H3S4 = *Adiantum amplum*.

c. Discusión

El procedimiento **AS-14** de la **NOM-021-SEMARNAT-2000**, establece las especificaciones de fertilidad, salinidad y clasificación (31 diciembre 2002), es utilizado para determinar la concentración de micronutrientes disponibles (Cu, Fe, Mn y Zn) y metales contaminantes (Cd, Ni y Pb) en el suelo. En este método, los valores de concentración definidos para ambas categorías se encuentran muy por debajo de lo cuantificado en el presente estudio. Por ejemplo, en la categoría de micronutrientes, la concentración (en mg Kg⁻¹) adecuada de Fe es >4.5, de Cu >0.2 y, de Zn >1.0; mientras que, en la categoría de elementos tóxicos, las concentraciones definidas como *peligrosas* son de 3 a 5 mg Kg⁻¹ de Cd y 100 a 300 mg Kg⁻¹ de Pb. Al comparar los resultados obtenidos con las concentraciones de referencia totales por tipo de uso de suelo (Tabla 1) de la **NOM-147-SEMARNAT/SSA1-2004**, que establece criterios para determinar las concentraciones de remediación de suelos contaminados por arsénico, bario, berilio, cadmio cromo hexavalente, mercurio, níquel, plata, plomo selenio, talio y/o vanadio (2 marzo 2007), se observó que las concentraciones de Cd (mínima = 167 y máxima = 667, en mg Kg⁻¹) en el relave están por arriba de los límites para suelo de uso agrícola (37 mg Kg⁻¹) y para uso industrial (450 mg Kg⁻¹) y, para el Pb (mínima = 1,667 y máxima = 3,333, en mg Kg⁻¹), se tiene la misma tendencia (uso agrícola = 400 mg Kg⁻¹ y uso industrial = 800 mg Kg⁻¹). La WHO tiene establecidos LMP de metales pesados en suelo (Ogunlana *et al.*, 2020), las concentraciones de Cd, Cu y Zn en los residuos son extremadamente altas a lo estipulado por esta organización: Cd = 3.0 mg Kg⁻¹, Cu = 100 mg Kg⁻¹ y, Zn = 300 mg Kg⁻¹. El único metal que está por debajo del LMP de la WHO (50,000 mg Kg⁻¹) es el Fe, esto puede explicarse por la oxidación de los residuos de “La Concha”, ya que se producen lixiviados que aumentan la movilidad de los metales; siendo una evidencia la coloración parda-rojiza por efecto de la oxidación de Fe (Florence *et al.*, 2016).

De acuerdo con el binomio FAO/WHO (*Food and Agriculture Organization/World Health Organisation*), las estructuras anatómicas de los helechos colonizadores del relave “La Concha” tienen concentraciones por arriba de los LMP en vegetales (**Pb** = 0.3 mg Kg⁻¹, **Fe** = 425.5 mg Kg⁻¹, **Cd** = 0.2 mg Kg⁻¹, **Cu** = 73.35 mg Kg⁻¹ y **Zn** = 99.4 mg Kg⁻¹) (Mensah *et al.*, 2009). A pesar de lo anterior, ninguna especie de helecho cumple con el criterio de translocación de metales pesados para ser considerado *hiperacumulador*: >10,000 de Zn y Fe; >1,000 de Cu y Pb y, >100 de Cd (mg Kg⁻¹ en tejido aéreo; Kidd *et al.*, 2007). En 2014, Hajar *et al.* recopilaron los valores de las concentraciones de metales pesados consideradas normales en plantas (en mg Kg⁻¹): Pb = 3.0, Fe = 640-2,486, Cd = 2.0, Cu = 0.4-45.8 y, Zn = 1.0-160. Las concentraciones cuantificadas en alguna de las estructuras anatómicas de los helechos colonizadores del relave “La Concha” rebasan estos valores (ver Tabla 4). Es importante mencionar que no existen trabajos previos que describan la capacidad de colonizar sitios contaminados y de absorber metales pesados. Esto fue corroborado en la base

de datos del *International Journal of Phytoremediation* (<https://www.tandfonline.com/journals/bijp20>), por ser una revista especializada en el área de investigación.

Para comparar los resultados de *Pityrogramma ebenea*, se utilizaron los trabajos realizados con *Pityrogramma calomelanos*. Iksan et al. (2019) reportan concentraciones de Pb y Cd en raíz (rizoma), tallo (peciolo) y hojas (fronda) en partes por millón (ppm), que son equivalentes a las unidades utilizadas en el presente estudio, mg Kg⁻¹. Para **Pb** en *rizoma* reportan una concentración mínima de 111 y máxima de 475; *peciolo*: mínima de 157 y máxima de 344 y, *fronda*: mínima de 114 y máxima de 411. En el rizoma de *P. ebenea* se cuantifico una concentración de mínima de 83 (H1S3) y máxima de 667 (H2S2); en peciolo fue detectado en un ejemplar (H1S2) con 42 y, fronda, mínima de 42 (H1S3) y máxima de 208 (H2S3). Los ejemplares de *P. ebenea* que colonizan el relave “La Concha” tienen la capacidad potencial de absorber más Pb en rizoma. Para **Cd** en *P. calomelanos* (Iksan et al., 2019) en *rizoma* reportan una concentración mínima de 120 y máxima de 376; *peciolo*: mínima de 98 y máxima de 343 y, *fronda*: mínima de 111 y máxima de 310. En el rizoma de *P. ebenea* se cuantifico una concentración de mínima de 29 (H1S3) y máxima de 98 (H1S2); en peciolo mínima de 15 (H1S3) y máxima de 50 (H2S2) y, fronda, mínima de 20 (H1S2) y máxima de 50 (H2S2 y H2S3). Los ejemplares de *P. ebenea* que colonizan el relave “La Concha” tienen una capacidad menor de absorber Cd en comparación con *P. calomelanos*. Ancheta et al. (2020) analizan la capacidad de acumulación de **Cu** en el rizoma y la fronda de cuatro ejemplares de *P. calomelanos* que colonizan relaves de Cu y oro (Ag) de la mina Didipio (Nueva Vizcaya, Filipinas). Las concentraciones mínimas y máximas cuantificadas fueron: 578.08 y 5,924.14 en *rizomas* y, 34.67 y 181.31 en *frondas*. En el rizoma de *P. ebenea* se cuantifico una concentración de mínima de Cu de 204 (H1S3) y máxima de 792 (H2S2) y, fronda una mínima de 148 (H1S2 y H1S3) y una máxima de 458 (H2S3). Los ejemplares de *P. ebenea* que colonizan el relave “La Concha” tienen la capacidad potencial de absorber más Cd en las frondas.

Hasta el momento, hay dos investigaciones que reportan información sobre el género *Polypodium*: 1) Jayasekera & Rossbach (1996) analizan la capacidad de absorción de metales pesados en plantas que se encuentran en un área prístina de un bosque húmedo de montaña en Sri Lanka. En este estudio analizan la capacidad de absorción de As, Cd, Co, Cu, Ni, Pb y Zn en *Polypodium lanceolatum*. Este helecho tiene un estilo de vida epifito y mostró una capacidad de absorber entre 0.469±0.03 y 0.607±0.02 de Pb, entre 5.1±0.3 y 28.3±2.1 de Cd, y entre 14.1±0.76 y 23.2±1.2; pero todos estos valores fueron cuantificados en µg g⁻¹, unidades que no se aproximan a lo evaluado en el presente estudio. 2) Muccifora (2008) analizó el efecto del Cu durante la germinación y el desarrollo de gametofitos de *Polypodium cambricum*. Las concentraciones de Cu (como bromuro de cobre, CuBr₂) fueron en µg g⁻¹ (10⁻⁵, 5.0 x 10⁻⁵ y 10⁻⁴ M), observando un efecto inhibitorio de este elemento sobre las

esporas. Por lo tanto, los resultados obtenidos con *Polypodium plesiosorum* (H1S4) no pudieron ser comparados adecuadamente.

En la investigación realizada por Iksan et al. (2019) también analizaron a *Cheilanthes nitida*, especie que fue utilizada para comparar los resultados obtenidos con *Cheilanthes cuneata* (H2S4). Las concentraciones (mínima y máxima en mg Kg⁻¹) cuantificadas en *C. nitida* fueron: **Pb** en rizoma, 178 y 443; en peciolo, 199 y 445; en fronda, 173 y 445. La concentración de este metal en *C. cuneata* solo fue cuantificada en el rizoma: 170 mg Kg⁻¹. La concentración mínima y máxima (mg Kg⁻¹) de **Cd** en *C. nitida* (Iksan et al., 2019) fue: rizoma, 181 y 346; peciolo, 180 y 389, y fronda, 104 y 392. En *C. cuneata* se cuantificaron 17 mg Kg⁻¹ en rizoma y peciolo, y 33 mg Kg⁻¹ en fronda. En 2021, Ghorpade et al. evaluaron la capacidad de absorción de **Pb** en cuatro especies del género *Cheilanthes* para determinar su potencial uso en biorremediación, obteniendo las siguientes concentraciones (en mg Kg⁻¹) en su biomasa total: *C. farinosa*: 28.370±9.90, *C. anceps*: 18.966±13.89, *C. tenuifolia*: 6.729±3.68, y *C. albomarginata*: 9.245±1.46. El rizoma de *C. cuneata* (H2S4) contiene más Pb que las especies mencionadas que fueron analizadas en su biomasa total.

Los valores de metales pesados en las estructuras aéreas de *Adiantum amplum* (H3S4) fueron comparados con dos trabajos donde se evaluó la capacidad de absorción de metales pesados en especies de este género: **Pb** en frondas de *A. caudatum* y *A. philippense* (Pongthornpruek et al., 2008) y, **Zn** en rizoma y fronda *A. capillus veneris* (Abdulqader et al., 2015). En *A. caudatum* y *A. philippense* se cuantificó 90.786±67.33 y 22.928±16.74 mg Kg⁻¹ de Pb, respectivamente; pero en el ejemplar del relave “La Concha” no fue detectado este metal. Mientras que la concentración de Zn en *A. capillus veneris* fue de 0.06 mg Kg⁻¹ en rizoide y de 0.21 mg Kg⁻¹ en fronda; valores pequeños en comparación con el ejemplar H3S4 (rizoma: 476 mg Kg⁻¹ y, fronda: 452 mg Kg⁻¹).

El ejemplar **H1S1** no pudo ser identificado taxonómicamente debido a modificaciones estructurales que pueden ser una consecuencia de estar en un sitio limitado en nutrientes o por las concentraciones altas de metales pesados (Das & Mazumdar, 2016; Bora & Sarma, 2021; Yadav et al., 2021). Este ejemplar fue analizado como el resto de las especies identificadas. El **Pb** solo pudo ser determinado en rizoma y su concentración (167 mg Kg⁻¹) está por arriba del LMP para vegetales (0.3 mg Kg⁻¹; Mensah et al., 2009). El **Fe** pudo ser cuantificado en todas las estructuras anatómicas de este helecho, solo el rizoma (3000 mg Kg⁻¹) rebasa el límite estipulado por la FAO/WHO (425.5 mg Kg⁻¹). El Cd y Cu también fueron medidos en todo el helecho y sus concentraciones están por arriba de los LMP (Cd = 0.2 y Cu = 73.35, valores en mg Kg⁻¹). El Zn cuantificado en la anatomía de este helecho está por debajo de las concentraciones permisibles. Este helecho, como el resto de los ejemplares, no cumplió con las características para ser considerado hiperacumulador. De los metales analizados en el presente estudio, el Fe influye considerablemente en el desarrollo óptimo de una planta a pesar de que su abundancia es alta en la corteza terrestre, sin embargo,

la cantidad que puede ser absorbida y utilizada por las plantas es limitada (Morrissey & Guerinot, 2009). Las plantas con déficit de Fe muestran síntomas negativos, como: clorosis venosa y, crecimiento y desarrollo anormal (enanismo y hojas encogidas) (Ning *et al.*, 2023). Aunque los helechos del relave no mostraron deficiencias de Fe en su biomasa, la presencia de varios metales pesados en el sustrato si puede influir en su desarrollo (Angulo-Bejarano *et al.*, 2021; Ali & Gill, 2022), lo cual, pudo haber limitado la identificación taxonómica del ejemplar H1S1. Sin embargo, esta presión ambiental generada por los metales pesados es lo que ha inducido el desarrollo de mecanismos de detoxificación y de absorción que las lleva a ser candidatas para procesos de fitorremediación (Manara, 2012; Ghuge *et al.*, 2023).

El ciclo de vida de los helechos tiene dos fases (o generaciones), una de ellas es la esporofítica, en la cual se desarrollan las esporas (Krieg & Chambers, 2022). Las **esporas** de los helechos son importantes para la alternancia de generaciones y su germinación depende de diversos factores ambientales, como: disponibilidad y tipo de luz, gravedad, fitohormonas, temperatura y de iones metálicos (Suo *et al.*, 2015). De estos últimos, el ion calcio (Ca^{2+}) es el más estudiado. Además, las esporas de los helechos tienen la capacidad de tolerar la desecación (López-Pozo *et al.*, 2019). A pesar de su versatilidad ecológica y su importancia en la dispersión de este grupo (Baldrian, 2003; Rose & Dassler, 2017), se desconoce la capacidad de absorción de metales pesados en las esporas de los helechos. En 1980, Petersen *et al.* analizaron el efecto de tres metales pesados (Cd, Co y Hg) sobre la germinación de esporas del helecho *Onoclea sensibilis*, observaron una disminución considerable del proceso y llegando a la conclusión de que este bioensayo es útil para evaluar la toxicidad de estos cationes. En 2008, Muccifora observó que el Cu tiene un efecto inhibitorio en la germinación de las esporas del helecho *Polypodium cambricum*. En hongos se ha descrito el mismo efecto de los metales pesados en su proceso de esporulación (Pawlowska & Charvat, 2004; Gajewska *et al.*, 2022). Pero, a diferencia de los helechos, en hongos si se ha evaluado la absorción de metales en esporas. González-Guerreo *et al.* (2010) observaron la acumulación de Cd, Cu y Zn en las esporas del hongo micorrícico *Glomus intraradices*. Estos metales también fueron cuantificados en las esporas de los helechos colonizadores del relave “La Concha” (Ver Tabla 4; ejemplares H2S2, H1S4 y H2S4). La acumulación de Pb en esporas también ha sido evaluada en diferentes hongos micorrícicos; observado una posible dependencia de esta capacidad con el tipo de planta que están asociados (Salazar *et al.*, 2018); pero este metal no fue detectado en las esporas de los helechos del relave. En dos hongos (*Neurospora crassa* y *Aspergillus ochraceus*) se observó un contenido alto de Fe en sus esporas (~74%) porque es indispensable para su proceso de germinación (Matzanke *et al.*, 1987). Debido a la concentración de Fe en las esporas, no tendría por qué verse limitando su potencial de germinación como ha sido observado en otros helechos colonizadores de relaves mineros (Claveria *et al.*, 2020).

d. Conclusión

Los helechos colonizadores del relave “La Concha” tienen la capacidad de absorber y translocar cuatro de los cinco metales analizados. La concentración de dichos metales se encuentra por arriba de los límites estipulados por la normatividad ambiental internacional pero, ninguno de los ejemplares, alcanza los niveles de metales en biomasa para ser clasificados como hiperacumuladores. Finalmente, la cuantificación de estos cationes en las esporas de los helechos no había sido descrito en este grupo plantas en laboratorio bajo condiciones controladas o en individuos colectados de otros sitios contaminados con metales pesados.

CAPÍTULO IV

Evaluación de la capacidad de absorción y traslocación de los metales por los helechos colonizadores del relave “La Concha”

a. Método

La presencia de metales pesados en las estructuras anatómicas de los helechos da indicios de su translocación, sin embargo, el proceso debe ser evaluado matemáticamente para definir el potencial que tienen estas plantas para la fitorremediación.

El *factor de bioconcentración* (FB) es un indicador de la absorción de metales pesados en la planta y se puede dividir en: *factor de acumulación en raíz* (RAF = *Root Accumulation Factor*) y *factor de acumulación en brotes* (SAF = *Shoot Accumulation Factor*). Si los valores de FB > 1.0 indicaría que los helechos son plantas con potencial de hiperacumulación y, en cambio, si FB < 1.0 los helechos tendrán capacidad de exclusión. Mientras que un indicador del transporte interno de los metales pesados es el *factor de traslocación* (FT); si los valores son > 1.0 indicaran que los helechos tienen una gran capacidad para transportar los metales desde las raíces hasta las partes aéreas, como lo realizan las plantas hiperacumuladoras.

Estos factores se determinaron aplicando las siguientes relaciones:

$$RAF = \frac{\text{concentración del metal en el tejido radicular}}{\text{concentración en el sustrato}}$$

$$SAF = \frac{\text{concentración del metal en el tejido aéreo}}{\text{concentración en el sustrato}}$$

$$FT = \frac{\text{concentración del metal en el tejido aéreo}}{\text{concentración en el tejido radicular}}$$

En este estudio, el tejido aéreo de los helechos está representado por el peciolo, las frondas y las esporas. Finalmente, se realizó un análisis de correlación de la capacidad de absorción y de translocación de los metales pesados por los helechos con las propiedades químicas del sustrato a través de análisis de varianza de un factor, matriz de correlación y análisis de componentes principales (ACP).

b. Resultados

El *factor de acumulación en raíz* (RAF = *Root Accumulation Factor*) tuvo valores <1.0, lo que indicara que ninguno de los helechos analizados realizó una absorción óptima en rizoma de los metales evaluados experimentalmente (Tabla 5).

Tabla 5. Factor de acumulación en raíz (RAF = *Root Accumulation Factor*) de los helechos colonizadores del relave “La Concha”. NIT = no identificado taxonómicamente; ND = no determinado.

		RAF (Root Accumulation Factor)				
		Pb	Fe	Cd	Cu	Zn
NIT	H1S1	ND	0.0643	ND	0.2449	0.0268
<i>Pityrogramma ebenea</i>	H1S2	ND	0.098	0.5868	0.3701	0.2745
	H2S2	ND	0.255	0.0991	0.2376	0.1554
	H1S3	ND	0.1704	0.058	0.1224	0.4632
	H2S3	ND	0.1301	0.1502	0.4247	0.2126
<i>Polypodium plesiosorum</i>	H1S4	0.102	0.1294	0.034	0.2184	0.1291
<i>Cheilanthes cuneata</i>	H2S4	0.102	0.1294	0.034	0.2184	0.1291
<i>Adiantum amplum</i>	H3S4	ND	0.1941	0.066	0.0999	0.2855

El helecho NIT tuvo el mayor RAF en Cu, seguido de Fe y, por último, Zn. En los helechos identificados como *Pityrogramma ebenea* tuvieron los siguientes RAF promedio y su desviación estándar: Fe = 0.163375 ± 0.03946 , Cd = 0.223525 ± 0.14531 , Cu = 0.2887 ± 0.08696 y, Zn = 0.276425 ± 0.07471 ; con el siguiente comportamiento general del RAF = Cu > Zn > Cd > Fe. Los helechos identificados como *Polypodium plesiosorum* y *Cheilanthes cuneata* tuvieron el siguiente RAF: Cu > Fe > Zn > Pb. Finalmente, el helecho identificado como *Adiantum amplum* tuvo el siguiente RAF: Zn > Fe > Cu > Cd. El helecho NIT tuvo los menores valores de RAF; mientras que los helechos identificados como *Pityrogramma ebenea* mostraron los mayores valores de RAF.

El *factor de acumulación en brotes* (SAF = *Shoot Accumulation Factor*) de los helechos fue <1.0, indicando que son plantas indicadoras (Tabla 6). Por lo que, ningún helecho tiene una capacidad óptima de absorción de metales en sus tejidos aéreos. El helecho NIT tuvo los menores valores de SAF en tres de los cuatro metales en ambas estructuras.

Para Fe, el helecho identificado como *Adiantum amplum* tuvo los mayores valores de SAF tanto en peciolo como en fronda. Dentro del grupo de helechos identificados como *Pityrogramma ebenea*, el ejemplar H2S2 mostro los mayores valores de SAF para Cd en las tres estructuras (peciolo, fronda y espora). También, en este grupo, se encontraron los mayores valores de SAF para Cu en peciolo y fronda; mientras que, el helecho identificado como *Adiantum amplum*, mostró los menores valores de SAF para este metal en ambas estructuras. Finalmente, para el Zn, el mayor SAF en peciolo fue identificado en *Adiantum amplum*, en fronda fue H1S3 (*Pityrogramma ebenea*) y en esporas fue *Polypodium plesiosorum*.

Tabla 6. Factor de acumulación en brotes (SAF = Shoot Accumulation Factor) de los helechos colonizadores del relave “La Concha”. NDT = no identificado taxonómicamente; ND = no determinado.

			SAF (Shoot Accumulation Factor)			
			Fe	Cd	Cu	Zn
NIT	H1S1	Peciolo	0.0012	0.015	0.1561	0.0067
		Fron das	0.0036	0.03	0.1561	0.0076
<i>Pityrogramma ebenea</i>	H1S2	Peciolo	0.0019	ND	0.078	0.0336
		Fron das	ND	0.1198	0.0888	0.0523
	H2S2	Peciolo	0.0233	0.1502	0.1125	0.1778
		Fron das	0.03	0.1502	0.0999	0.2333
		Esporas	0.025	0.0751	0.0561	0.0499
	H1S3	Peciolo	0.0084	0.030	0.1164	0.1387
		Fron das	ND	0.058	0.0888	0.3088
	H2S3	Peciolo	0.0048	0.0511	0.4001	0.052
		Fron das	ND	0.1502	0.2747	0.1501
<i>Polypodium plesiosorum</i>	H1S4	Peciolo	0.0342	0.066	0.1286	0.1467
		Fron das	0.061	0.034	0.0713	0.1067
		Esporas	0.139	0.05	0.107	0.1
<i>Cheilanthes cuneata</i>	H2S4	Peciolo	0.0293	0.034	0.1142	0.0666
		Fron das	0.0342	0.066	0.0857	0.1134
		Esporas	0.0512	ND	0.0857	0.0801
<i>Adiantum amplum</i>	H3S4	Peciolo	0.3055	0.076	0.072	0.2963
		Fron das	0.0941	0.066	0.075	0.2711

La determinación del *factor de translocación* (FT) mostró que algunos helechos del relave minero “La Concha” se encuentran en el umbral para ser considerados hiperacumuladores para algún metal (FT>1.0) (Tabla 7).

Tabla 7. Factor de translocación de los helechos colonizadores del relave “La Concha”.

NDT = no identificado taxonómicamente; ND = no determinado.

			TF (Factor de Traslocación)				
			Pb	Fe	Cd	Cu	Zn
NIT	H1S1	Peciolo	ND	0.0183	ND	0.6373	0.2518
		Frondas	ND	0.0557	ND	0.6373	0.2847
<i>Pityrogramma ebenea</i>	H1S2	Peciolo	0.1511	0.0198	ND	0.2107	0.1224
		Frondas	ND	ND	0.2041	0.2399	0.1905
	H2S2	Peciolo	ND	0.0915	1.5152	0.4735	1.1441
		Frondas	ND	0.1176	1.5152	0.4205	1.5015
		Esporas	ND	0.098	0.7576	0.2361	0.3213
	H1S3	Peciolo	ND	0.0495	0.5172	0.951	0.2993
		Frondas	0.506	ND	1.0	0.7255	0.6667
	H2S3	Peciolo	ND	0.037	0.34	0.9421	0.2444
		Frondas	0.416	ND	1.0	0.6469	0.7062
<i>Polypodium plesiosorum</i>	H1S4	Peciolo	ND	0.264	1.9412	0.5887	1.1367
		Frondas	ND	0.4713	1.0	0.3265	0.8265
		Esporas	ND	1.0747	1.4706	0.4898	0.7744
<i>Cheilanthes cuneata</i>	H2S4	Peciolo	ND	0.2263	1.0	0.5228	0.5163
		Frondas	ND	0.264	1.9412	0.3925	0.8785
		Esporas	ND	0.396	ND	0.3925	0.6204
<i>Adiantum amplum</i>	H3S4	Peciolo	ND	1.5739	1.1515	0.7207	1.0378
		Frondas	ND	0.485	1.0	0.7508	0.9496

Los helechos **H1S1** (NIT) y **H1S2** (*Pityrogramma ebenea*) tuvieron valores extremadamente bajos de FT en varios metales, por lo que, se puede concluir que no tienen buena capacidad de absorción o de traslocación.

El helecho **H2S2** (*Pityrogramma ebenea*) mostró valores de TF > 1.0 para Cd y Zn en los tejidos aéreos, por lo que, se puede concluir que este ejemplar tiene una buena capacidad de traslocación para ambos metales.

Los helechos **H1S3** y **H2S3** tuvieron un TF = 1 en frondas para Cd, por lo que, estos ejemplares de *Pityrogramma ebenea* pueden translocar dicho metal.

El helecho **H1S4** (*Polypodium plesiosorum*) tuvo varios valores de TF ≥ 1.0 para Cd (1.9412) y Zn (1.1367) en peciolo, Cd (1.0) en fronda y, Fe (1.0747) y Cd (1.4706) en esporas.

El helecho **H2S4** (*Cheilanthes cuneata*) tuvo valores de TF ≥ 1.0 para Cd en peciolo (1.0) y frondas (1.9412).

El helecho **H3S4** (*Adiantum amplum*) tuvo valores de TF ≥ 1.0 en peciolo para Fe (1.5739), Cd (1.1515) y Zn (1.0378); en fronda, el TF de Cd fue igual a 1.0.

c. Discusión

La *fitorremediación* de metales pesados ocurre a través de la *fitoextracción* (acumulación de metales pesados) y la *fitoestabilización* (inmovilización de metales pesados) (Jadia & Fulekar, 2009; Wei *et al.*, 2020a). Con base en su capacidad de *fitoextracción* las plantas son clasificadas en exclusoras, indicadoras, acumuladoras e hiperacumuladoras (Rascio & Navari-Izzo, 2011; Suman *et al.*, 2018). La absorción y la traslocación de metales pesados en las plantas se calcula a través del **factor de bioconcentración** (BF = Biocentration Factor), el cual se divide en *factor de acumulación en raíz* (RAF = Root Accumulation Factor) y *factor de acumulación en brotes* (SAF = Shoot Accumulation Factor). El indicador del transporte interno de los metales pesados es el **factor de traslocación** (TF = Translocation Factor) (Medina & Montano, 2014). En el presente estudio se calculó el SAF y el TF de los helechos colonizadores del relave “La Concha” para determinar su potencial uso para la fitorremediación. De acuerdo con Méndez & Maier (2008), los helechos colonizadores del relave “La Concha” son **plantas indicadoras** porque su SAF fue <1.0 . Mientras que por sus valores translocación algunos helechos se encuentran en el **umbral de hiperacumulación** ($TF > 1.0$) (Yang *et al.*, 2005; Kidd *et al.*, 2007; Wang *et al.*, 2017).

En el presente estudio se calcularon los dos factores de bioconcentración (FB) utilizados para identificar el potencial de hiperacumulación y de fitoextracción (Vural, 2024). El **factor de acumulación en raíz** (RAF) determina la relación de concentración de los metales pesados entre la raíz y el sustrato, el cual, es reportado con diversos acrónimos (Buscaroli, 2017). A diferencia de lo mencionado por Méndez & Maier (2008), puede haber valores de $RAF > 1.0$. Por ejemplo, Vural (2024) analizó la acumulación de metales en el 'diente de león' (*Taraxacum officinale* F.H. Wigg), calculando valores de $RAF > 1.0$ para Pb en el 50% de las muestras pero, para los demás metales evaluados (Al, As, Ba, Cd, Co, Cr, Cu, Fe, Mn, Ni, Sr y Zn), los valores de RAF fueron <1.0 . Los valores de RAF de todos los metales pesados analizados en el presente estudio fueron <1.0 (Pb, Fe, Cd, Cu y Zn; ver Tabla 5). En la planta medicinal 'rosa de monte' o 'rosa sin espinas' (*Paeonia lactiflora* Pall.) de China tuvo valores de $RAF < 1.0$ en los mismos metales evaluados en los helechos de Taxco (Wang & Hu, 2023). El **factor de acumulación en brotes** (SAF) describe la relación entre concentración de los metales pesados entre el sustrato y también puede ser reportado con acrónimos diferentes (Buscaroli, 2017). Bech *et al.* (2012b) reportan valores de $SAF < 1.0$ para Pb en dos herbáceas de la familia de las asteráceas (*Bidens triplinervia* y *Senecio* sp.) que se encuentran colonizando desechos mineros en Perú. En el trabajo de Vural (2024) en el 'diente de león' también reporta valores de $SAF > 1.0$ para Pb y es seguido por el Zn con $SAF = 0.5$ y el resto de los metales con $SAF < 0.5$.

Para helechos no se encontraron trabajos de investigación reportando de forma independiente el RAF y SAF, ambos factores son considerados como variantes de **factor de**

bioconcentración (BF). Por ejemplo, Roccotiello et al. (2010) evaluaron la tolerancia y acumulación de Zn en *Polypodium cambricum* L. y *Pteris vittata* L. Ambas especies mostraron valores elevados de bioacumulación a Zn (de 1.1 a 2.6 en *P. cambricum* L. y, de 9.4 a 90.7 en *P. vittata* L.), sus resultados mostraron una heterogeneidad vinculada con la concentración de tratamiento utilizada (50, 125, 250 y 500 mg Kg⁻¹ de Zn). Los resultados de RAF y SAF en los helechos del relave “La Concha” no alcanzaron valores cercanos a 1.0; esta variabilidad puede ser una consecuencia de las condiciones en las que se llevó a cabo cada estudio.

Abdulqader et al. (2015) reportaron el BF (relación de concentración entre el sustrato y la planta) en *Adiantum capillus veneris* (helecho 'culantrillo de pozo') para Cu (0.158), Fe (0.05), Ni (0.058) y Zn (0.112). En los helechos de Taxco se calcularon valores de BF, como RAF, mayores para Cu, Fe y Zn. Para SAF, los valores de BF fueron similares para Cu, mayores para Fe y Zn.

Ancheta et al. (2020) analizaron dos especies de helechos (*Pityrogramma calomelanos* y *Nephrolepis biserrata*) que colonizan zonas mineras de Cu-Au en Didipio, Nueva Vizcaya (Filipinas). Para Cu, dos individuos de *P. calomelanos* tuvieron valores de BF < 0.5 y otro ejemplar mostró un BF = 2.32; mientras que *N. biserrata* tuvo un BF = 1.03 para el mismo elemento. En el relave “La Concha” se identificó a *Pityrogramma ebenea* que, para el mismo metal, tuvo valores BF < 0.5 (en forma de RAF y SAF).

Claveria et al. (2020) analizaron la capacidad de acumulación de metales pesados en helechos colonizadores de minas abandonadas en Filipinas (*Pityrogramma calomelanos*, *Pteris vittata* y *Pteris melanocaulon*). De acuerdo con sus resultados los helechos mostraron valores de BF < 1.0 para Cu, indicando que estas plantas no tienen los mecanismos de absorción en sus estructuras anatómicas para Cu y As, excluyéndolos durante la absorción de los nutrientes. Para Cu, esta misma tendencia fue observada en los helechos del relave “La Concha” tanto en RAF como en SAF.

Yu et al. (2020) cuantificaron la acumulación de diversos metales por el helecho medicinal *Blechnum orientale* L. ('helecho fuerte') colectado en zonas urbanas, suburbanas y forestales rurales al sur de China. En comparación con el presente estudio, el Fe fue el único metal que no fue analizado. El BF fue determinado como la relación de la concentración de metales en raíz con la concentración en suelo, el cual, es igual al RAF cuantificado en los helechos de Taxco. Los valores de BF en *B. orientale* L. fueron < 1.0, disminuyendo de la siguiente manera: Cd > Cu > Pb > Zn. En los helechos del relave “La Concha” El RAF tuvo la siguiente tendencia de disminución: Cd > Zn > Cu > Pb; mientras que para SAF se observó la siguiente tendencia: Cu (pecíolo) > Zn (fronda) > Fe (pecíolo) > Cd (0.102).

El **factor de traslocación** (TF) es un indicador de la capacidad de transporte de los metales pesados a las estructuras anatómicas de las plantas (Medina & Montano, 2014). El TF es un concepto utilizado ampliamente en la literatura científica para hacer referencia a la acumulación de elementos en las diferentes partes de la planta a partir de las raíces, como: parte aérea/raíz, brote/raíz, hoja/raíz, tallo/raíz, madera/raíz, principalmente (Buscaroli,

2017). Este parámetro describe la capacidad de exclusión de las plantas para absorber y acumular los metales para evitar los efectos tóxicos que generan (, Kachenko *et al.*, 2007). De acuerdo con Brooks (1998) cuando BF y TF son <1.0 las plantas son aptas para fitoestabilización y, cuando ambos son >1.0 se clasifican como aptas para fitoextracción. La planta medicinal 'rosa de monte' (*Paeonia lactiflora* Pall.) tuvo valores de TF de raíz a tallo y de tallo a hoja >1.0 para Al, As, Cd, Cr, Cu, Fe, Mn, Pb y Zn (Wang & Hu, 2023), lo cual, indicaría que es una planta fitoextractora para esos elementos (Brooks, 1998). Los helechos colonizadores del relave “La Concha” tuvieron TF<1.0 de rizoide a peciolo y de peciolo a fronda para Cd, Cu, Fe, Pb y Zn (ver Tabla 7), indicando que son plantas aptas para fitoestabilización (Brooks, 1998). Pero, en algunos casos específicos, se observó que dichos helechos pueden ser clasificados como fitoextractores de rizoide a peciolo para **Cd** (*Adiantum amplum*, *Pityrogramma ebenea* y *Polypodium plesiosorum*); para **Fe** de fronda a espora (*Polypodium plesiosorum*) y de rizoide a peciolo (*Adiantum amplum*) y, para Zn de rizoide a peciolo (*Adiantum amplum*, *Pityrogramma ebenea* y *Polypodium plesiosorum*) y, solo *Pityrogramma ebenea*, mostró translocación de este elemento de fronda a espora.

En sitios contaminados por actividades mineras, diversas plantas nativas mostraron la capacidad de translocar metales a sus brotes o retoños (Bech *et al.*, 2012a). De cinco metales evaluados (As, Fe, Mn, Pb y Zn) en cuatro especies de plantas (*Sonchus oleraceus* L. y *Baccharis latifolia* Ruiz & Pav Pers de la familia Asteraceae, *Plantago orbignyana* Steinheil de la familia Plantaginaceae, y *Lepidium bipinnatifidum* Desv. de la familia Brassicaceae), todas mostraron una translocación eficiente a Fe (mínimo = 0.5, máximo = 12.2), Mn (mínimo = 0.8, máximo = 30.3), Pb (mínimo = 1.1, máximo = 143) y Zn (mínimo = 0.8, máximo = 21.5); siendo *Lepidium bipinnatifidum* Desv. ('maíz tostado') la planta más eficiente para la translocación de los metales. Los helechos analizados en el presente trabajo mostraron algunos valores similares de FT para Fe y Zn. Este mismo grupo de trabajo calculo el TF en dos herbáceas de la familia de las asteráceas que también habitan sobre desechos mineros, *Senecio* sp. mostró TF>1.0 para Pb (~9.5) y Zn (~5.0) y, *Bidens triplinervia* mostró TF<1.0 para ambos metales (Pb = ~0.1 y, Zn = ~0.25) (Bech *et al.*, 2012b). En comparación con este trabajo, los helechos de Taxco tienen la capacidad de translocar en mayor proporción al Zn, pero no de Pb. Por otro lado, Cruzado-Tafur et al. (2021) analizaron la acumulación a metales (As, Ag, Cd, Cu, Pb y Zn) en plantas nativas que crecen sobre sitios mineros en los Andes peruanos. Los valores de TF fueron heterogéneos entre 21 especies vegetales analizadas, sin embargo, la mayoría tuvo TF>1.0 para todos los metales. En nuestro estudio, la mayoría de los valores de TF para los helechos fueron <1.0.

En helechos existen algunos estudios en los que se ha determinado el FT para metales. Por ejemplo, Kachenko et al. (2007) analizaron la capacidad de tolerancia a metales pesados en condiciones controladas en diversas especies de helechos, de las cuales, ninguna fue identificada en el relave “La Concha”. En este estudio analizaron la translocación de la raíz

a fronda en cuatro de los cinco metales evaluados en el presente trabajo (Cd, Cu, Pb y Zn). Los valores mínimos y máximos del TF en el estudio de Kachenko et al. (2007) fueron, respectivamente: 0.19 y 0.88 para Cd, 0.12 y 0.27 para Cu, 0.15 y 0.43 para Pb y, 0.25 y 0.91 para Zn. La translocación máxima a las frondas por especie de los helechos identificados en el relave “La Concha” fueron, para **Cd**: 1.5152 en *Pityrogramma ebenea*, 1.0 en *Polypodium plesiosorum*, 1.9412 en *Cheilanthes cuneata*, y 1.0 en *Adiantum amplum*; para **Cu**: 0.6373 en el helecho NIT, 0.7255 en *Pityrogramma ebenea*, 0.3265 en *Polypodium plesiosorum*, 0.3295 en *Cheilanthes cuneata*, y 0.7508 en *Adiantum amplum*; para **Pb**, solo fue calculado en dos individuos de *Pityrogramma ebenea* con valores de 0.416 y 0.506, respectivamente y, para **Zn**: 0.2847 en el helecho NIT, 1.5015 en *Pityrogramma ebenea*, 0.8265 en *Polypodium plesiosorum*, 0.8785 en *Cheilanthes cuneata*, y 0.9496 en *Adiantum amplum*. Los valores de TF en los helechos de Taxco son superiores a los cuantificados en dicho trabajo. Roccotiello et al. (2010) evaluaron la translocación de Zn dos especies de helechos (*Polypodium cambricum* L. y *Pteris vittata* L.). A diferentes concentraciones experimentales de Zn (50, 125, 250 y 500 mg Kg⁻¹), los TF fueron <1.0 de raíces a fronda. La mayoría de los resultados de TF para Zn en los helechos del relave “La Concha” fueron superiores a lo estimado en dicho trabajo. Abdulqader et al. (2015) determinaron el TF (brote/rizoide) en *Adiantum capillus veneris* (helecho 'culantrillo de pozo'), los cuales fueron: 2.0 para Cu, 0.474 para Fe y 1.678 para Zn. El TF en fronda de los helechos de Taxco fueron menores en Cu (máximo de 0.7508), similares para Fe (máximo de 0.485) y cercanos en Zn (máximo de 1.5015). En minas abandonadas de Filipinas, Claveria et al. (2020) analizaron la capacidad de acumulación de metales pesados en *Pityrogramma calomelanos*, *Pteris vittata* y *Pteris melanocaulon*. El Cu es el único metal que está en común con este trabajo. Los valores máximos de translocación para este metal pesado fueron los siguientes: 0.26 para *P. calomelanos*, 0.20 para *P. vittata* y 0.05 *Pteris melanocaulon*. El relave “La Concha” comparte una especie del género *Pityrogramma* (*P. ebenea*), la cual, en uno de sus individuos, tuvo una translocación máxima de 0.7255; el resto de los helechos también superó los TF en fronda para dicho metal. En el 'helecho fuerte' (*Blechnum orientale* L.), Yu et al. (2020) cuantificaron la translocación de Cd, Cu, Pb y Z, las cuales fueron <1.0. Los helechos colonizadores de “La Concha” tuvieron valores TF ≥ 1.0 para Cd, TF < 1.0 para Cu y Fe, y TF > 1.0 para Zn.

En este estudio se determinó la translocación de los metales a las esporas, hasta el momento, no hay trabajos que lo hayan realizado. *Polypodium plesiosorum* tuvo valores de TF > 1.0 para Cd (1.4706) y Fe (1.0747), el resto de los metales (Cu, Pb y Zn) mostraron valores de TF < 1.0.

Por lo tanto, por su capacidad de translocación, los helechos colonizadores del relave “La Concha” se encuentran en el umbral de hiperacumulación pueden ser aptos para fitoextracción de Cd, Fe y Zn.

d. Conclusión

Los helechos colonizadores del relave “La Concha” mostraron factores de acumulación de metales pesados limitados en raíz y en brotes, sin embargo, el factor de translocación mostró que algunos helechos pueden ser considerados como candidatos para biorremediar concentraciones altas de Cd, Fe y Zn. Finalmente, el ejemplar que no pudo ser identificado taxonómicamente fue el que tuvo la menor capacidad de absorción y translocación de metales pesados, lo cual, podría estar vinculado con las alteraciones morfológicas que presenta por el efecto de exposición a dichos cationes.

CAPÍTULO V

Análisis de correlación estadística para identificar la influencia de las propiedades químicas del relave con la absorción de metales pesados de los helechos

a. Método

Se realizó un análisis de varianza (ANOVA) de un factor para determinar la diferencia entre los promedios (medias aritméticas) de las propiedades químicas del sustrato (Tabla 8). Este análisis mostró que los parámetros son distintos en cada sustrato de los helechos ($p < 0.05$). De los metales, el Pb destacó en el ANOVA, pero tuvo un valor de $p = 0.0111$, esta referencia estadística se debe a que fue cuantificado en algunas muestras de sustrato y de rizoma (ver Tabla 8).

b. Resultados

Tabla 8. ANOVA de un factor de los valores cuantificados en los parámetros químicos del sustrato asociado al rizoma de los helechos colonizadores del relave “La Concha”. MO = materia orgánica.

Parámetro	<i>p-value</i>
pH _{H2O}	8.67e-15
pH _{KCl}	<2e-16
MO	9.28e-05
Pb	0.0111

Al realizar el mismo análisis pero considerando a la especie de helecho identificada (Tabla 9), se observó que el ejemplar NIT tiene condiciones que se diferencian del resto de los helechos debido a que su sustrato presenta valores mayores de pH y, al parecer, un contenido nulo de MO. Los sustratos de los ejemplares relacionados con *Pityrogramma*

ebenea y el ejemplar de *Adiantum amplum* tienen valores de pH ácido; mientras que los ejemplares de *Polypodium plesiosorum* y *Cheilanthes cuneata* presentaron valores cercanos a la neutralidad. El ejemplar de *Adiantum amplum* tuvo la mayor concentración de MO, lo cual, explica su diferenciación con el resto de los helechos; comportamiento que se mantiene con la influencia del Pb, al ser tener este helecho la mayor concentración de este metal. Finalmente, el resto de los ejemplares comparten similitudes en las concentraciones de Pb y en el tipo de muestra que fue cuantificado.

Tabla 9. ANOVA de un factor de los valores cuantificados en los parámetros químicos del sustrato vinculado con las especies identificadas de los helechos. MO = materia orgánica, S = sustrato, R = rizoma, P = peciolo y F = fronda.

	Sitio 1	Sitio 2	Sitio 3	Sitio 4					
	NIT	<i>Pityrogramma ebenea</i>		<i>Polypodium plesiosorum</i>	<i>Cheilanthes cuneata</i>	<i>Adiantum amplum</i>			
pH _{H2O}	C	a		B	b	a			
pH _{KCl}	C	a		B	b	a			
MO	—	a		A	a	b			
Pb	A	a		A	a	b			
	R	R (4)	P (1)	F (1)	S	R	S	R	S

La influencia del Pb se justifica al realizar un ANOVA de un factor para describir la relación de la concentración de los metales con las propiedades del sustrato (Tabla 10).

Tabla 10. ANOVA de un factor de las concentraciones de los metales pesados cuantificados en el sustrato asociado al rizoide de los helechos colonizadores del relave “La Concha”.

Metal	p-value
Pb	0.0013
Fe	2.31e-09
Cd	7.21e-11
Cu	2.55e-09
Zn	4.62e-04

Para corroborar estos resultados, se analizaron los promedios ($\bar{x}$) y las desviaciones estándar (DE) de los metales pesados en cada tipo de muestra (Tabla 11). El ANOVA para describir la similitud de las concentraciones de metales pesados en los tipos de muestra dónde

fueron cuantificados (Tabla 12), mostró que el sustrato se diferencia del resto de las muestras porque en este componente fueron cuantificadas las mayores concentraciones de todos los metales pesados.

Tabla 11. Promedio ($\bar{x}$) y desviación estándar (DE) de las concentraciones de los metales pesados por tipo de muestra. ND = no detectado.

Metal		Sustrato	Rizoma	Pecíolo	Fronchas	Esporas
Pb	$\bar{x}$	833	254.37	5.25	31.25	ND
	DE	1,259.85	222.68	14.85	72.91	
Fe	$\bar{x}$	31,111	4,340.87	721.62	404.86	1,722
	DE	12,858.68	2,394.53	924.19	461.18	1,262.21
Cd	$\bar{x}$	437.5	34.62	22.5	31.5	17
	DE	152.74	29.54	16.41	12.93	14.43
Cu	$\bar{x}$	2,292	516.5	305.5	240.62	250
	DE	944.85	233.21	177.05	111.11	62.5
Zn	$\bar{x}$	3,333	446.25	253.12	316.62	250
	DE	2,932.63	130.89	188.06	148.59	128.83

Tabla 12. ANOVA de un factor de las concentraciones de los metales pesados cuantificados vinculado con el tipo de muestra.

Metal	Sustrato	Rizoma	Pecíolo	Fronchas	Esporas
Pb	b	a	a	a	—
Fe	b	a	a	a	a
Cd	b	a	a	a	a
Cu	b	a	a	a	a
Zn	b	a	a	a	a

Debido a esto, se realizó un ANOVA sin las concentraciones de metales pesados en sustrato, lo que demostró que el Fe ($p = 0.0008$) y el Cu ($p = 0.0199$) son los cationes que se diferencian del resto. En general, ambos son los cationes que tienen las concentraciones más altas en las estructuras anatómicas de los helechos, sobresaliendo las similitudes en rizoma, frondas y esporas (Tabla 13).

Tabla 13. ANOVA de un factor de las concentraciones de los metales pesados cuantificados en las estructuras anatómicas de los helechos.

Metal	Rizoma	Pecíolo	Frondas	Esporas
Fe	b	a	A	ab
Cu	b	ab	A	ab

Para comprender la relación que existe entre los parámetros y las concentraciones de los metales, se realizó una matriz de correlación (*pairwise two-sided p-values*), donde las variables con un $p < 0.05$ serán las de mayor correlación (Figura 9). Este análisis mostró trece correlaciones que cumplen con el criterio estadístico: Cd – Cu, Cd – Fe, Cd – Pb, Cd – Zn, Cu – Fe, Cu – Pb, Cu – Zn, Fe – Pb, Fe – Zn, MO – Pb, MO – pH_{KCl}, Pb – Zn y, pH_{H2O} – pH_{KCl}.

Pairwise two-sided p-values:								
	Cd	Cu	Fe	MO	Pb	pH	pH.KCl	Zn
Cd		<.0001	<.0001	0.9910	0.0002	0.5550	0.5920	<.0001
Cu	<.0001		<.0001	0.5037	<.0001	0.5289	0.6426	0.0076
Fe	<.0001	<.0001		0.6245	0.0465	0.8351	0.5705	<.0001
MO	0.9910	0.5037	0.6245		0.0350	0.0988	0.0191	0.7773
Pb	0.0002	<.0001	0.0465	0.0350		0.8408	0.8274	0.0101
pH	0.5550	0.5289	0.8351	0.0988	0.8408		<.0001	0.0764
pH.KCl	0.5920	0.6426	0.5705	0.0191	0.8274	<.0001		0.1270
Zn	<.0001	0.0076	<.0001	0.7773	0.0101	0.0764	0.1270	

Figura 9. Matriz de correlación entre los parámetros químicos del sustrato y las concentraciones de los metales pesados. En rojo los valores de $p < 0.05$.

Posteriormente, se repitió el mismo análisis pero sin utilizar los valores cuantificados en el sustrato porque tienen las mayores concentraciones de metales pesados (Figura 10). Las correlaciones con valores de $p < 0.05$ fueron: Cd – Zn, Cu – Fe, Cu – Pb, Cu – Zn, Fe – Pb, MO – Pb, MO – pH_{KCl}, y pH_{H2O} – pH_{KCl}. En comparación con el análisis anterior, cinco correlaciones previas no fueron significativas (Cd – Cu, Cd – Fe, Cd – Pb, Fe – Zn y, Pb – Zn).

Pairwise two-sided p-values:								
	Cd	Cu	Fe	MO	Pb	pH	pH.KCl	Zn
Cd		0.1058	0.3330	0.4178	0.6088	0.1237	0.0841	0.0005
Cu	0.1058		0.0071	0.7052	0.0061	0.2897	0.3076	0.0332
Fe	0.3330	0.0071		0.8010	0.0455	0.2482	0.1835	0.0686
MO	0.4178	0.7052	0.8010		0.0016	0.1441	0.0351	0.4805
Pb	0.6088	0.0061	0.0455	0.0016		0.9178	0.5723	0.5591
pH	0.1237	0.2897	0.2482	0.1441	0.9178		<.0001	0.2494
pH.KCl	0.0841	0.3076	0.1835	0.0351	0.5723	<.0001		0.6917
Zn	0.0005	0.0332	0.0686	0.4805	0.5591	0.2494	0.6917	

Figura 10. Matriz de correlación entre los parámetros químicos del sustrato y las concentraciones de los metales pesados, pero sin considerar las concentraciones cuantificadas en sustrato.

En rojo los valores de $p < 0.05$.

Considerando estos resultados, se realizó un análisis de componentes principales (*principal component analysis*, PCA) (Torres *et al.* 2014), que es un análisis exploratorio para describir la dimensionalidad de los datos y explorar la influencia de cada variable (Figura 11).

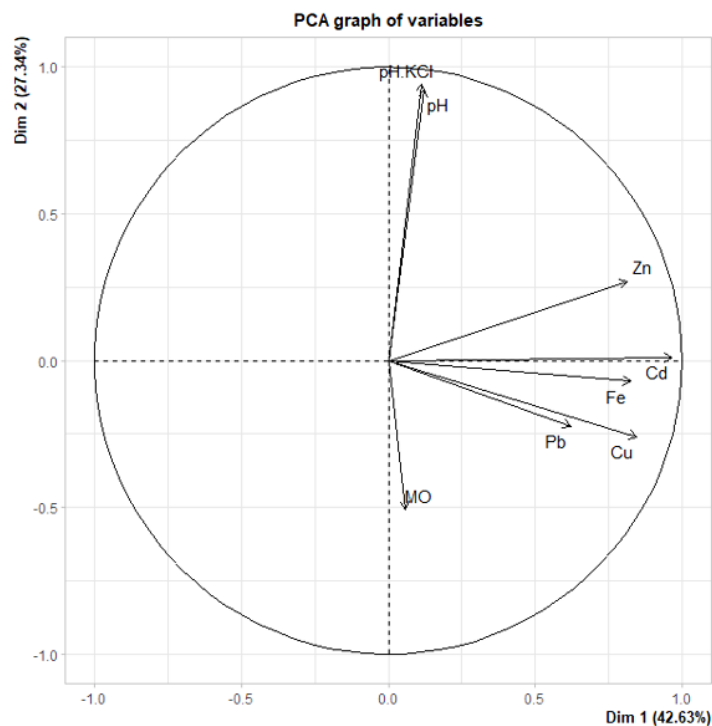


Figura 11. Análisis de componentes principales (PCA) entre los parámetros químicos del sustrato y las concentraciones de los metales pesados.

En este análisis multivariado se observó que el pH (H₂O y KCl), Cd y Zn son las variables de mayor influencia. En este análisis está incluido el sustrato, pero al no ser considerado como en los análisis anteriores, se observó que la MO es la variable de menor influencia, el pH (H₂O y KCl) y los metales pesados están ubicados de forma opuesta (Figura 12).

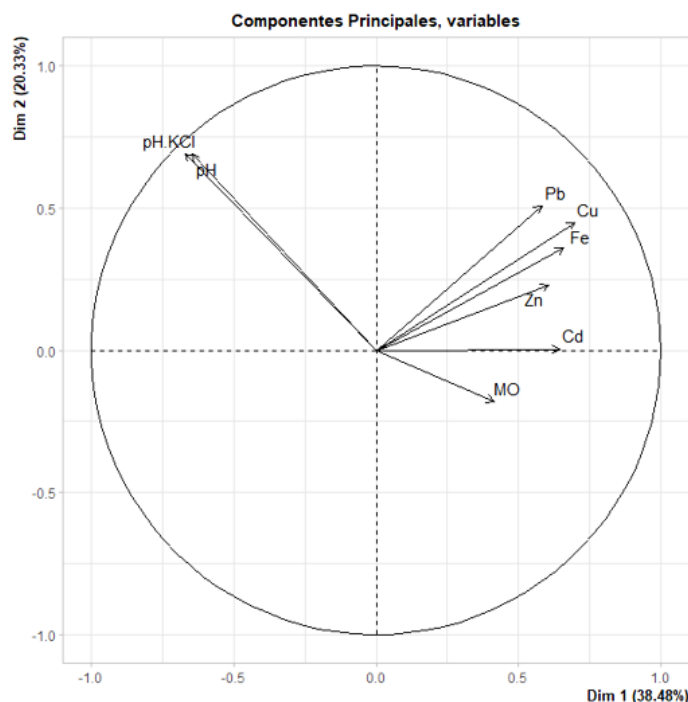


Figura 12. Análisis de componentes principales (PCA) entre los parámetros químicos del sustrato y las concentraciones de los metales pesados, pero sin considerar los datos cuantificados en sustrato.

Al realizar un PCA dónde se incluye como variable a las especies identificadas se observó que los helechos NIT, *Pityrogramma ebenea* y *Adiantum amplum* se encuentran en componentes independientes; solo los individuos relacionados con *Polypodium plesiosorum* y *Cheilanthes cuneata* tienen condiciones similares, por lo que, se encuentran agrupados (Figura 13). Estos resultados son similares a lo descrito en el ANOVA (Tabla 9). Al realizar un PCA considerando el tipo de muestra analizada se observó que el sustrato está en un componente independiente debido a las altas concentraciones de metales pesados que presenta; mientras que el resto se mantienen agrupados (Figura 14). Estos resultados son similares a lo descrito en el ANOVA (Tabla 12).

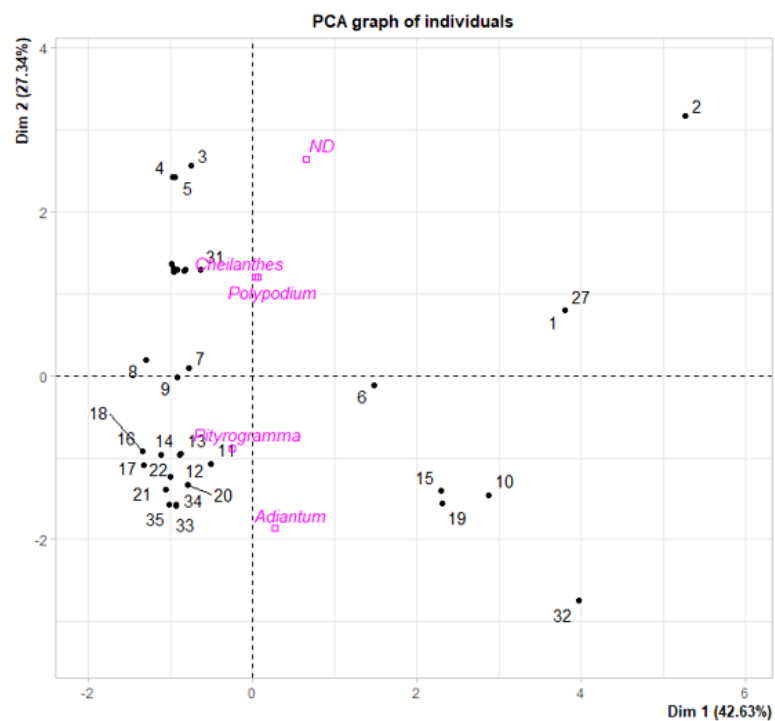


Figura 13. Análisis de componentes principales (PCA) entre los parámetros químicos del sustrato y las concentraciones de los metales pesados considerando a las especies de helechos identificadas.

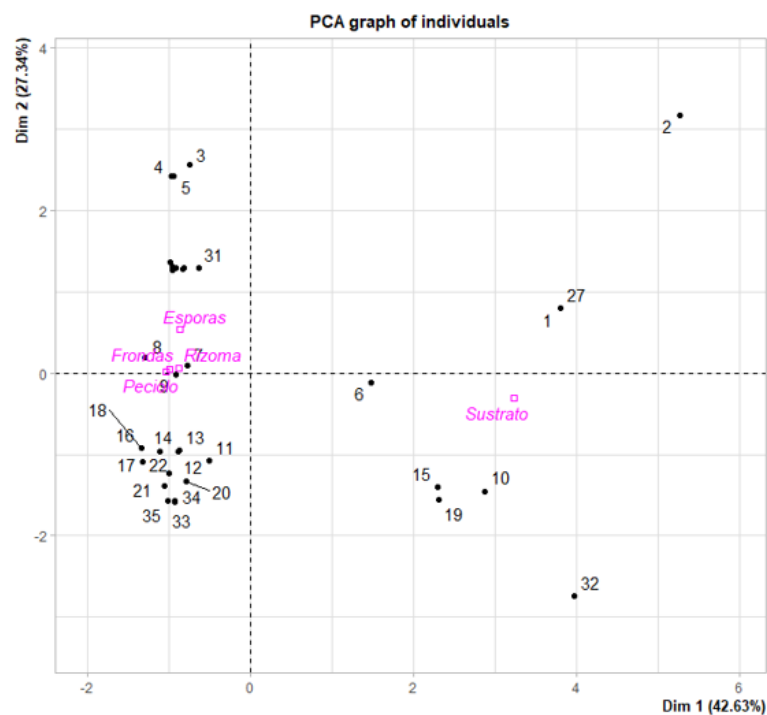


Figura 14. Análisis de componentes principales (PCA) entre los parámetros químicos del sustrato y las concentraciones de los metales pesados considerando el tipo de muestra.

c. Discusión

Los análisis estadísticos son indispensables para la interpretación de los resultados obtenidos de una investigación experimental (Fay & Gerow, WormBook, 2005-2018). Diversos estudios que han analizado la capacidad de acumulación y translocación de metales pesados en plantas han aplicado análisis estadísticos en sus resultados para identificar su potencial uso en fitorremediación. Además Bech et al. (2012a y b) identificaron que la capa de suelo (*topsoil*) donde se ubican las plantas pueden tener diferencias en sus propiedades químicas (contenido de carbono orgánico, pH y textura) siendo los suelos con acidez ligera (pH = 6.8) los que mostraron un contenido moderado de carbono orgánico y una textura gruesa. El pH de los sustratos donde se encontraron los helechos colonizadores del relave “La Concha” fue heterogéneo pero, a diferencia a lo observado por Bech et al. (2012b), a pH elevados se cuantificó el menor contenido de MO y el mayor contenido de MO fue cuantificado en condiciones fuertemente ácidas (ver Tablas 2 y 3 del capítulo II). Estas discrepancias pueden justificar la baja influencia estadística del contenido de MO en el ACP (ver Figura 12). Además, Bech et al. (2012b) observaron que el Pb fue el metal más sobresaliente debido a su elevada concentración en sustrato; en el presente estudio, el Pb mostró ser estadísticamente significativo ($p = 0.0111$) a pesar de no haber sido detectado en todas las muestras analizadas. Por otro lado, en el sustrato del rizoides del helecho con mayor contenido de MO (*Adiantum amplum*; ver Tabla 4 del capítulo III) tuvo la mayor concentración de Pb (Tabla 9); lo cual, puede explicarse por la afinidad alta de la MO a los cationes (Arias-Muñoz & Contreras-Vázquez, 2022). De acuerdo con Bech et al. (2012a y b) las concentraciones elevadas de metales pesados en sustrato inhiben su translocación a las partes aéreas de las plantas; esta tendencia pudo ser confirmada estadísticamente en los helechos de Taxco (ver Tabla 12).

Subramanian et al. (2022) analizaron el potencial de acumulación y translocación de elementos traza (Al, Cd, Cr, Cu, Fe, Ni y Pb) en diferentes especies de plantas. En este estudio se observó que los metales con mayor acumulación en las estructuras vegetales son aquellos que tienen una importancia su crecimiento y desarrollo. En la presente investigación, se observó una translocación significativa del Fe y Cu a las estructuras aéreas de los helechos (Tabla 13). El Fe es un nutriente esencial en los procesos de fotosíntesis y respiración de las plantas (Connolly & Guerinot, 2002). Además, este elemento es el grupo prostético de diversas enzimas (p. ej. citocromo) y es esencial para la síntesis de clorofila (Rout & Sahoo, 2015; Wolfgang *et al.*, 2020). El Cu es un elemento que participa en los mismos procesos del Fe pero, adicionalmente, participa en el crecimiento y desarrollo de las plantas y, también es un componente estructural genético para genes de defensa (Mir *et al.*, 2021; Chen *et al.*, 2022). Lo anterior justifica la translocación de estos elementos del rizoides a las frondas y esporas de los helechos colonizadores de “La Concha”.

Ogugua et al. (2023) analizaron las respuestas fisiológicas durante la germinación de semillas de tomate al ser regadas con lixiviados mineros. Los autores observaron correlaciones significativas entre el crecimiento y la acumulación-translocación de metales

pesados que, en consecuencia, pueden generarse alteraciones estructurales por su toxicidad. Lo anterior explicaría la variación de la ubicación del helecho NIT en el ACP (Figura 13), que fue el ejemplar que presentó alteraciones que impidieron su correcta identificación taxonómica. En este análisis se observó que los ejemplares relacionados con *Adiantum* y *Pityrogramma* también se distribuyen de forma aislada y, solo existió correlación entre los individuos relacionados con *Cheilanthes* y *Polypodium*. De acuerdo con Subramanian et al. (2022) la similitud de propiedades en respuesta a la presencia de metales pesados se da por proximidad en la ubicación de las plantas, lo cual, explicaría la relación entre *Cheilanthes* y *Polypodium* dado que se encontraban en la misma zona de distribución dentro del relave “La Concha”. También Ogugua et al. (2023) observaron que la translocación de los metales es mayor en las raíces porque la toxicidad de estos cationes afecta la movilización de agua y nutrientes a las estructuras aéreas. En este estudio, la concentración de metales en el sustrato influye considerablemente en la tendencia estadística de los resultados (Tabla 12), sin embargo, se observó una correlación en la concentración de estos cationes en las estructuras anatómicas de los helechos (Figura 14).

Wang & Hu (2023) describieron una correlación positiva entre la concentración de metales pesados debido a que proceden de una misma fuente de origen mineral. Los metales cuantificados en el sustrato asociado a las raíces de los helechos de “La Concha” también tuvieron una correlación significativa entre ellos, debido a su origen geológico y al proceso que los dejó disponibles en el ambiente. Lo anterior explicaría la distribución de los metales pesados en los diferentes APCs realizados en el presente estudio (ver Figuras 11 y 12).

Vural (2024) una tendencia de agrupamiento entre los diferentes metales cuantificados en suelo (Al, Cd, Co, Cr, Cu, Fe, Mn, Ni, Pb y Zn) debido a que comparten o coexisten durante los procesos biogeoquímicos que desarrollan en la zona de estudio. En el análisis de correlación realizado en este estudio se observó que los metales cuantificados en el sustrato del relave tienen una distribución diferencial (Figura 11), donde el Cd y Zn se separan del resto del grupo. Pero, al comparar con las concentraciones de metales translocadas a las estructuras de los helechos, se observó su agrupación dentro del mismo componente (Figura 12). Lo anterior puede explicarse a que en este análisis no se consideraron las concentraciones en sustrato debido a la significancia en este componente del relave (Tabla 12 y Figura 9).

De acuerdo con Kachenko et al. (2007), los helechos pueden tener acumulación diferencial de metales en raíces y frondas, y que podría depender del tipo de especie utilizada. Esta heterogeneidad fue estadísticamente significativa. En este estudio, a pesar de que las especies de helechos mostraron un agrupamiento diferencial al correlacionar los parámetros químicos del sustrato y las concentraciones de los metales pesados (Figura 13), las estructuras anatómicas se agruparon porque tuvieron capacidades similares de translocación entre los diferentes grupos taxonómicos identificados en el relave “La Concha” (Figura 14).

Por otro lado, Yu et al. (2020) observaron la capacidad de acumulación de metales en el helecho *Blechnum orientale* L. no depende completamente de su concentración en el suelo (Hg y Pb, principalmente). Algunos de los helechos aquí estudiados confirman esta

tendencia, pero el Pb fue un metal que fue translocado al rizoma en proporción mayor a lo cuantificado en el sustrato (ver Figura 8 del capítulo III). Esto se debe a que concentraciones elevadas de metales pesados solo pueden movilizarse al sistema radicular debido al contacto directo que mantienen y, en algunos casos, algún catión puede movilizarse en mayor proporción a las estructuras aéreas (Bech *et al.*, 2012a y b).

d. Conclusión

Los análisis estadísticos describieron los diferentes factores involucrados en la absorción, acumulación y translocación de metales pesados. Los helechos colonizadores del relave “La Concha” tienen similitudes y diferencias entre diferentes tipos de plantas que han sido estudiadas con el mismo objetivo. Como era de esperarse, el sustrato presenta la mayor concentración de metales y el rizoides es el componente que los absorbe en mayor proporción. A pesar de lo anterior, estos helechos mostraron una translocación similar a pesar de ser de diferentes especies. Por lo tanto, el origen geológico y la disponibilidad de los metales en el sustrato del relave “La Concha” permite que el proceso de absorción y translocación sea similar entre los diferentes helechos analizados.

Bibliografía

Abdulqader, R., Al-khesraji, T. O. & Aljanabi, G. D. (2015). The *Adiantum capillus veneris* Phytoremediation of some heavy metals (copper, iron, nickel and zinc) in polluted area with North Oil Refinery company wastewater, Biagy-IRAQ. 10.13140/RG.2.1.4951.1845.

Ali, B., & Gill, R. A. (2022). Editorial: Heavy metal toxicity in plants: Recent insights on physiological and molecular aspects, volume II. *Frontiers in plant science*, 13, 1016257. <https://doi.org/10.3389/fpls.2022.1016257>

Ancheta, M. H., Quimado, M. O., Tiburan Jr, C. L., Doronila, A., & Fernando, E. S. (2020). Copper and arsenic accumulation of *Pityrogramma calomelanos*, *Nephrolepis biserrata*, and *Cynodon dactylon* in Cu- and Au- mine tailings. *Journal of Degraded and Mining Lands Management*, 7(3), 2201–2208. <https://doi.org/10.15243/jdmlm.2020.073.2201>

Angulo-Bejarano, P. I., Puente-Rivera, J., & Cruz-Ortega, R. (2021). Metal and Metalloid Toxicity in Plants: An Overview on Molecular Aspects. *Plants*, 10(4), 635. <https://doi.org/10.3390/plants10040635>

Anh B.T., Kim D.D., Tua T.V., Kien N.T., Anh D.T. (2011). Phytoremediation potential of indigenous plants from Thai Nguyen province, Vietnam. *Journal of Environmental Biology*, 32(2), 257–262.

Arias-Muños K., Contreras-Vázquez G. A. (2022). Cuantificación y descripción de la materia orgánica presente en un relave minero [FES-Zaragoza, UNAM]. Repositorio Institucional de la UNAM: <http://132.248.9.195/ptd2022/agosto/0829794/Index.html>

Baldrian, P. (2003). Interactions of heavy metals with white-rot fungi. *Enzyme and Microbial Technology*, 32(1), 78–91.
[https://doi.org/10.1016/S0141-0229\(02\)00245-4](https://doi.org/10.1016/S0141-0229(02)00245-4)

Balestri, M., Ceccarini, A., Forino, L. M., Zelko, I., Martinka, M., Lux, A., & Ruffini Castiglione, M. (2014). Cadmium uptake, localization and stress-induced morphogenic response in the fern *Pteris vittata*. *Planta*, 239(5), 1055–1064.
<https://doi.org/10.1007/s00425-014-2036-z>

Baker A.J.M. (1981). Accumulators and Excluders - Strategies in the Response of Plants to Heavy-Metals. *Journal of Plant Nutrition*, 3, 643–654.
<https://doi.org/10.1080/01904168109362867>

Bech, J., Duran, P., Roca, N., Poma, W., Sánchez, I., Barceló, J., Boluda, R., Roca-Pérez, L. & Poschenrieder, C. (2012a). Shoot accumulation of several trace elements in native plant species from contaminated soils in the Peruvian Andes. *Journal of Geochemical Exploration* 123, 106-111.
<https://doi.org/10.1016/j.gexplo.2011.04.007>

Bech, J., Duran, P., Roca, N., Poma, W., Sánchez, I., Roca-Pérez, L., Boluda, R., Barceló, J. & Poschenrieder, C. (2012b). Accumulation of Pb and Zn in *Bidens triplinervia* and *Senecio* sp. spontaneous species from mine spoils in Peru and their potential use in phytoremediation. *Journal of Geochemical Exploration* 123, 109–113.
<https://doi.org/10.1016/j.gexplo.2012.06.021>

Bolan, N. S. & Kandaswamy, K. (2005). pH. In: Daniel Hillel (Editor): *Encyclopedia of Soils in the Environment*, Elsevier, Pages 196-202, ISBN 9780123485304,
<https://doi.org/10.1016/B0-12-348530-4/00002-3>

- Bora, M. S., & Sarma, K. P. (2021). Anatomical and ultrastructural alterations in *Ceratopteris pteridoides* under cadmium stress: A mechanism of cadmium tolerance. *Ecotoxicology and environmental safety*, 218, 112285. Advance online publication. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2021.112285>
- Brooks R. R., Lee J., Reeves R. D., Jaffre, T. (1977). Detection of Nickeliferous Rocks by Analysis of Herbarium Specimens of Indicator Plants. *Journal of Geochemical Exploration* 7, 49–57. [https://doi.org/10.1016/0375-6742\(77\)90074-7](https://doi.org/10.1016/0375-6742(77)90074-7)
- Buscaroli, A. (2017). An overview of indexes to evaluate terrestrial plants for phytoremediation purposes (Review). *Ecological Indicators*, 82, 367–380. <https://doi.org/10.1016/j.ecolind.2017.07.003>
- Chen, G., Li, J., Han, H., Du, R., & Wang, X. (2022). Physiological and Molecular Mechanisms of Plant Responses to Copper Stress. *International Journal of Molecular Sciences*, 23(21), 12950. <https://doi.org/10.3390/ijms232112950>
- Claveria, R. J. R., Perez, T. R., Navarrete, I. A., Perez, R. E. C. & Lim, B. C. C. (2020). The identification of heavy metal accumulator ferns in abandoned mines in the Philippines with applications to mine rehabilitation and metal recovery. *Journal of Sustainable Mining*, 19(1). <https://doi.org/10.46873/2300-3960.1005>
- Connolly, E. L., & Guerinot, M. (2002). Iron stress in plants. *Genome biology*, 3(8). <https://doi.org/10.1186/gb-2002-3-8-reviews1024>
- Crognale, S., D'annibale, A., Pesciaroli, L., Stazi, S. R., & Petruccioli, M. (2017). Fungal Community Structure and As-Resistant Fungi in a Decommissioned Gold Mine Site. *Frontiers in microbiology*, 8, 2202. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2017.02202>
- Cruzado-Tafur, E., Bierla, K., Torró, L., & Szpunar, J. (2021). Accumulation of As, Ag, Cd, Cu, Pb, and Zn by Native Plants Growing in Soils Contaminated by Mining Environmental Liabilities in the Peruvian Andes. *Plants (Basel, Switzerland)*, 10(2), 241. <https://doi.org/10.3390/plants10020241>

Das, S., & Mazumdar, K. (2016). Phytoremediation potential of a novel fern, *Salvinia cucullate*, Roxb. Ex Bory, to pulp and paper mill effluent: Physiological and anatomical response. *Chemosphere*, 163, 62–72.

<https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2016.08.013>

Departamento de Botánica, Instituto de Biología (IBUNAM), "*Cheilanthes cuneata*" Kaulf. ex Link, ejemplar de: Herbario Nacional de México (MEXU), Plantas Vasculares. En "Portal de Datos Abiertos UNAM" (en línea), México, Universidad Nacional Autónoma de México.

Echevarria, G. & Morel, J. (2015). Technosols of Mining Areas. *Tópicos em Ciência do Solo*, ISSN 1519-3934. IX. 92-111.

Farley, J. & Voinov, A. (2016). Economics, socio-ecological resilience and ecosystem services. *Journal of Environmental Management*, 183(2), 389–398.

<https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2016.07.065>.

Fay, D.S. & Gerow K. A biologist's guide to statistical thinking and analysis. In: *WormBook: The Online Review of C. elegans Biology* [Internet]. Pasadena (CA): WormBook; 2005-2018. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK153593/>

Fernández L. L. C., Rojas A. N. G., Roldán C. T. G., Ramírez I. M. E., Zegarra M. H. G., Uribe H. R., Reyes Á. R. J., Flores H. D., Arce O. J. M. (2006). *Manual de técnicas de análisis de suelos aplicadas a la remediación de sitios contaminados*. México, D. F.: SEMARNAT, INE, IMP.

Florence, K., Sapsford, D. J., Johnson, D. B., Kay, C. M., & Wolkersdorfer, C. (2016). Iron-mineral accretion from acid mine drainage and its application in passive treatment. *Environmental technology*, 37(11), 1428–1440. <https://doi.org/10.1080/09593330.2015.1118558>

Gajewska, J., Floryszak-Wieczorek, J., Sobieszczuk-Nowicka, E., Mattoo, A., & Arasimowicz-Jelonek, M. (2022). Fungal and oomycete pathogens and heavy metals: an inglorious couple in the environment. *IMA fungus*, 13(1), 6. <https://doi.org/10.1186/s43008-022-00092-4>

García H., El Zauahre M., Morán H., Acosta Y., Senior A., Fernández N. (2006). Análisis comparativo de dos técnicas de digestión para la determinación de metales pesados en lodos residuales. *Multiciencias*, 6(3), 234–243.

García-Gutiérrez D. (2022). Aislamiento e identificación de bacterias oxidantes del azufre en el jal minero “La Concha” en Taxco de Alarcón, Guerrero [FES-Zaragoza, UNAM]. Repositorio Institucional de la UNAM:
<http://132.248.9.195/ptd2022/octubre/0831937/Index.html>

Ghughe, S. A., Nikalje, G. C., Kadam, U. S., Suprasanna, P., & Hong, J. C. (2023). Comprehensive mechanisms of heavy metal toxicity in plants, detoxification, and remediation. *Journal of hazardous materials*, 450, 131039.
<https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2023.131039>

He, J., Zhu, N., Xu, Y., Wang, L., Zheng, J., & Li, X. (2022). The microbial mechanisms of enhanced humification by inoculation with *Phanerochaete chrysosporium* and *Trichoderma longibrachiatum* during biogas residues composting. *Bioresource technology*, 351, 126973.
<https://doi.org/10.1016/j.biortech.2022.126973>

Ghorpade, P. N., Thakar, S. B. & Kale, M. V. (2019). Study of heavy metal concentration of four *Cheilanthes* species and soil substratum from Northern Western Ghats of India. *Research Journal of Life Sciences Bioinformatics Pharmaceutical and Chemical Sciences* 7(4), 41.
<https://doi.org/10.26479/2021.0704.03>

Gil-Loaiza, J., White, S. A., Root, R. A., Solís-Dominguez, F. A., Hammond, C. M., Chorover, J., & Maier, R. M. (2016). Phytostabilization of mine tailings using compost-assisted direct planting: Translating greenhouse results to the field. *Science of the total environment*, 565, 451–461.
<https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2016.04.168>

Gómez-Bernal J. M., Santana-Carillo J., Romero-Martin F., Armienta-Hernández M. A., Morton-Bermea O., Ruiz-Huerta E. A. (2010). Plantas de sitios contaminados con desechos mineros en Taxco, Guerrero, México. *Boletín de la Sociedad Botánica de México*, 87, 131–133.
<https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=57715868011>

Gómez-Bernal J. M., Morton-Bermea, O., Ruíz-Huerta, E.A., Armienta-Hernández, M. A. & González-Dávila, O. (2014). Microscopic evidences of heavy metals distribution and anatomic alterations in breaching-leaves of *Cupressus lindleyi* growing around mining wastes. *Microscopy research and technique*, 77(9), 714–726.

<https://doi.org/10.1002/jemt.22392>

González-Guerrero, M., Melville, L. H., Ferrol, N., Lott, J. N., Azcón-Aguilar, C., & Peterson, R. L. (2008). Ultrastructural localization of heavy metals in the extraradical mycelium and spores of the arbuscular mycorrhizal fungus *Glomus intraradices*. *Canadian journal of microbiology*, 54(2), 103–110.

<https://doi.org/10.1139/w07-119>

Hajar, E. W. I., Sulaiman, A., Z., B. & Sakinah, A. M. M (2014). Assessment of Heavy Metals Tolerance in Leaves, Stems and Flowers of *Stevia rebaudiana* Plant. *Procedia Environmental Sciences*, 20, 386–393.

<https://doi.org/10.1016/j.proenv.2014.03.049>.

He, J., Zhu, N., Xu, Y., Wang, L., Zheng, J., & Li, X. (2022). The microbial mechanisms of enhanced humification by inoculation with *Phanerochaete chrysosporium* and *Trichoderma longibrachiatum* during biogas residues composting. *Bioresource technology*, 351, 126973.

<https://doi.org/10.1016/j.biortech.2022.126973>

Hinojosa-Espinosa O. y Cruz-Durán R. (2010). Compositae en Atenango del Río, Guerrero, México. *Boletín de la Sociedad Botánica de México*, 86, 71–73.

<http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=57713498007>

Huang L., Baumgartl T., Mulligan D. (2012). Is rhizosphere remediation sufficient for sustainable revegetation of mine tailings? *Annals of Botany*, 110, 223–238.

<https://doi.org/10.1093/aob/mcs115>

Huang, L. N., Tang, F. Z., Song, Y. S., Wan, C. Y., Wang, S. L., Liu, W. Q., & Shu, W. S. (2011). Biodiversity, abundance, and activity of nitrogen-fixing bacteria during primary succession on a copper mine tailings. *FEMS microbiology ecology*, 78(3), 439–450.

<https://doi.org/10.1111/j.1574-6941.2011.01178.x>

Iksan, M., Aba, L. & Kusriani, K. (2019). The Ability of Ferns to Accumulate Heavy Metals (Hg, Pb And Cd) In The Waters of The Gorontalo River. *International Journal of Applied Biology*, 3 (1).

<https://doi.org/10.20956/ijab.v3i1.5930>

Jadia C. D. & Fulekar M. H. (2009). Phytoremediation of heavy metals: Recent techniques. *African Journal of Biotechnology*, 8(6), 921–928.

Jayasekera, R., & Rossbach, M. (1996). Background levels of heavy metals in plants of different taxonomic groups from a montane rain forest in Sri Lanka. *Environmental geochemistry and health*, 18(2), 55–62.

<https://doi.org/10.1007/BF01771132>

Kachenko A. G., Singh B., Bhatia N. P. (2007). Heavy metal tolerance in common fern species. *Australian Journal of Botany*, 55(1), 63–73.

<https://doi.org/10.1071/BT06063>

Kabata-Pendias, A. (2011). *Trace Elements in Soils and Plants*. (4th ed.) Press (Taylor & Francis).

<https://doi.org/10.1201/b10158>

Kidd P. S., Becerra C. C., García L. M., Monterroso C. (2007). Aplicación de plantas hiperacumuladoras de níquel en la fitoextracción natural: el género *Alyssum* L. *Ecosistemas*, 16(2), 26–43.

Krieg, C. P., & Chambers, S. M. (2022). The ecology and physiology of fern gametophytes: A methodological synthesis. *Applications in Plant Sciences*, 10(2), e11464.

<https://doi.org/10.1002/aps3.11464>

Kossof D., Dubbin W.E., Alfredsson M., Edwards S. J., Macklin K.A., & Hudson-Edwards K. A. (2014). Mine tailings dams: Characteristics, failure, environmental impacts, and remediation. *Applied Geochemistry*, 51, 229–245.

<https://doi.org/10.1016/j.apgeochem.2014.09.010>

Kováčik J., Husáková L., Babula P., & Matušíková I. (2022). Metabolic and Oxidative Changes in the Fern *Adiantum raddianum* upon Foliar Application of Metals. *International journal of molecular sciences*, 23(23), 14736.

<https://doi.org/10.3390/ijms232314736>

Lehmann, J. & Kleber, M. (2015). The contentious nature of soil organic matter. *Nature*, 528, 60–68.

<https://doi.org/10.1038/nature16069>.

Li, Y., Sun, Q., Zhan, J., Yang, Y., & Wang, D. (2016). Vegetation successfully prevents oxidization of sulfide minerals in mine tailings. *Journal of environmental management*, 177, 153–160.

<https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2016.04.026>

Li, L., Tian, S., Li, Y., Li, J., Huang, J., & Hu, X. (2021). Study on the Role of Quartz in the Bio-Oxidation of Sulfide Minerals From Mine Solid Waste. *Bulletin of environmental contamination and toxicology*, 107(6), 1103–1110.

<https://doi.org/10.1007/s00128-021-03313-5>

List of Species Alien in Europe and to Europe. (2009). In: *Handbook of Alien Species in Europe*. Invading Nature - Springer Series in Invasion Ecology, vol 3. Springer, Dordrecht.

https://doi.org/10.1007/978-1-4020-8280-1_11

Liu W., Song Y., Wang B., Li J., Shu W. (2012). Nitrogen fixation in biotic crusts and vascular plant communities on a copper mine tailings. *European Journal of Soil Biology*, 50, 15–20.

<https://doi.org/10.1016/j.ejsobi.2011.11.009>

Llugany M., Tolrà R., Poschnrieder C., Barceló J. (2007). Hiperacumulación de metales: ¿una ventaja para la planta y para el hombre? *Ecosistemas*, 16(2), 4–9.

López-Pozo, M., Ballesteros, D., Laza, J. M., García-Plazaola, J. I., & Fernández-Marín, B. (2019). Desiccation Tolerance in Chlorophyllous Fern Spores: Are Ecophysiological Features Related to Environmental Conditions? *Frontiers in Plant Science*, 10, 1130.

<https://doi.org/10.3389/fpls.2019.01130>

Lorestani B., Cheraghi M., Yousefi N. (2011). Accumulation of Pb, Fe, Mn, Cu and Zn in plants and choice of hyperaccumulator plant in the industrial town of Vian, Iran. *Archives of Biological Sciences*, 63(3), 739–745.

<https://doi.org/10.2298/ABS1103739L>

Löser C., Zehnsdorf A., Görsch K., Seidel H. (2006). Bioleaching of Heavy Metal Polluted Sediment: Influence of Temperature and Oxygen (Part 1). *Engineering Life Sciences*, 6(4), 355–363.

<https://doi.org/10.1002/elsc.200520141>

Ma, L. Q., Komar K.M., Tu C., Zhang W., Cai Y., Kennelley E. D. (2001). A fern that hyperaccumulates arsenic. *Nature*, 409(6820), 579.

<https://doi.org/10.1038/35054664>

Manara, A. (2012). Plant Responses to Heavy Metal Toxicity. In: Furini, A. (eds) *Plants and Heavy Metals*. Springer Briefs in Molecular Science. Springer, Dordrecht.

https://doi.org/10.1007/978-94-007-4441-7_2

Martínez G.M., Cruz D.R., Castrejón R.J.F., Valencia A.S., Jiménez R.J. y Ruiz-Jiménez C.A. (2004). Flora vascular de la porción guerrerense de la sierra de Taxco, Guerrero, México. *Anales del Instituto de Biología. Serie Botánica*, 75, 105–189.

Matzanke, B. F., Bill, E., Trautwein, A. X., & Winkelmann, G. (1987). Role of siderophores in iron storage in spores of *Neurospora crassa* and *Aspergillus ochraceus*. *Journal of Bacteriology*, 169(12), 5873–5876.

<https://doi.org/10.1128/jb.169.12.5873-5876.1987>

Méndez M. O., Glenn E. P., Maier R. M. (2007). Phytostabilization Potential of Quailbush for Mine Tailings: Growth, Metal Accumulation, and Microbial Community Changes.

Journal of Environmental Quality, 36(1), 245–253.

<https://doi.org/10.2134/jeq2006.0197>

Méndez M. O. y Maier R. M. (2008). Phytostabilization of Mine Tailings in Arid and Semiarid Environments – An emerging Remediation Technology. *Environmental Health Perspectives*, 116(3), 278–283.

<https://doi.org/10.1289/ehp.10608>

Mensah, E., Kyei-Baffour, N., Ofori, E., Obeng, G. (2009). Influence of Human Activities and Land Use on Heavy Metal Concentrations in Irrigated Vegetables in Ghana and Their Health Implications. In: Yanful, E.K. (eds.) *Appropriate Technologies for Environmental Protection in the Developing World*. Springer, Dordrecht.

https://doi.org/10.1007/978-1-4020-9139-1_2

Mir, A. R., Pichtel, J., & Hayat, S. (2021). Copper: uptake, toxicity and tolerance in plants and management of Cu-contaminated soil. *Biomaterials: an international journal on the role of metal ions in biology, biochemistry, and medicine*, 34(4), 737–759.
<https://doi.org/10.1007/s10534-021-00306-z>

Montero-Sánchez R. (2019). Descripción de la dinámica del azufre en el Jal Minero “El Fraile” en Taxco de Alarcón, estado de Guerrero [FES-Zaragoza, UNAM]. Repositorio Institucional de la UNAM: https://repositorio.unam.mx/contenidos/descripcion-de-la-dinamica-del-azufre-en-el-jal-minero-39el-fraile39-en-taxco-de-alarcon-estado-de-guerrero-3454282?c=pjL0z4&d=false&q=*&i=4&v=1&t=search_0&as=0

Morrissey, J., & Guerinot, M. L. (2009). Iron uptake and transport in plants: the good, the bad, and the ionome. *Chemical reviews*, 109(10), 4553–4567.
<https://doi.org/10.1021/cr900112r>

Muccifora S. (2008). Effects of copper on spore germination, growth and ultrastructure of *Polypodium cambricum* L. gametophytes. *Environmental pollution* (Barking, Essex: 1987), 153(2), 369–375.
<https://doi.org/10.1016/j.envpol.2007.08.012>

Navarro-Aviñó J. P., Aguilar A. I., López-Moya J. R. (2007). Aspectos bioquímicos y genéticos de la tolerancia y acumulación de metales pesados en plantas. *Ecosistemas*, 16(2), 10–15.

Niazi N. K., Singh B., Van Zwieten L., Kachanko A. G. (2011). Phytoremediation Potential of *Pityrogramma calomelanos* var. *austroamericana* and *Pteris vittata* L. Grown at a Highly Variable Arsenic Contaminated Site. *International Journal of Phytoremediation*, 13, 912–932.
<https://doi.org/10.1080/15226514.2011.568023>

Niazi N. K., Singh B., Van Zwieten L., Kachenko A. G. (2012). Phytoremediation of an arsenic-contaminated site using *Pteris vittata* L. and *Pityrogramma calomelanos* var. *austroamericana*: a long-term study. *Environmental Science and Pollution Research International*, 19(8), 3506–3515.
<https://doi.org/10.1007/s11356-012-0910-4>

Ning, X., Lin, M., Huang, G., Mao, J., Gao, Z., & Wang, X. (2023). Research progress on iron absorption, transport, and molecular regulation strategy in plants. *Frontiers in plant*

science, 14, 1190768.

<https://doi.org/10.3389/fpls.2023.1190768>

Nordstrom, D.K. (2011). **Sulfide Mineral Oxidation**. In: Reitner, J., Thiel, V. (eds) *Encyclopedia of Geobiology*. Encyclopedia of Earth Sciences Series. Springer, Dordrecht. https://doi.org/10.1007/978-1-4020-9212-1_198

Noriega-Luna B., Morales-Rodríguez A. A., Luna-Quintanilla R., Ulloa-Vázquez T., Cruz-Jiménez G., Serafín-Muñoz A. H., Gutiérrez-Ortega N. L. (2016). Identificación de especies vegetales asociadas a jales del distrito minero de Guanajuato. *Acta Universitaria*, 26(NE-2), 71–77. <https://doi.org/10.15174/au.2016.1465>

Ogugua, U. V., Kanu, S. A., & Ntushelo, K. (2023). Relationship between different physiological processes of Tomato seedlings exposed to acid mine water Uncovered using correlation analysis. *Heliyon*, 9(8), e18975. <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2023.e18975>

Ogunlana, R., Korode, A.I., & Ajibade, Z.F. (2021). Assessing the level of heavy metals concentration in soil around transformer at Akoko community of OndoState, Nigeria. *Journal of Applied Sciences and Environmental Management*, 24, 2183–2189. <https://doi.org/10.4314/jasem.v24i12.26>

Owens, P. R. & Rutledge, E. M. (2005). **Morphology**. In: Daniel Hillel (Editor): *Encyclopedia of Soils in the Environment*, Elsevier, Pages 511-520, ISBN 9780123485304. <https://doi.org/10.1016/B0-12-348530-4/00002-3>.

Pawlowska, T. E., & Charvat, I. (2004). Heavy-metal stress and developmental patterns of arbuscular mycorrhizal fungi. *Applied and environmental microbiology*, 70(11), 6643–6649. <https://doi.org/10.1128/AEM.70.11.6643-6649.2004>

Petersen, R.L., Arnold, D., Lynch, D.G., & Price, S.A. (1980). A heavy metal bioassay based on percent spore germination of the sensitive fern, *Onoclea sensibilis*. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, 24, 489–495. <https://doi.org/10.1007/BF01608145>

Pongthornpruek, S., Pampasit, S., Sriprang, N., Nabheerong, P., & Promtep, K. (2013). Heavy Metal Accumulation in Soil and Some Fern Species at Phu Soi Dao National Park, Phitsanulok Province, Thailand. *NU. International Journal of Science*, 5(2), 151–164.

Pulukkunadu-Thekkeveedu, R., & Hegde, S. (2021). In vitro spore germination and phytoremediation of Hg and Pb using gametophytes of *Pityrogramma calomelanos*. *International journal of phytoremediation*, 23(3), 307–315.
<https://doi.org/10.1080/15226514.2020.1813075>

Rascio N. y Navari-Izzo F. (2011). Heavy metal hyperaccumulating plants: How and why do they do it? And what makes them so interesting? *Plant Science*, 180(2), 169–181.
<https://doi.org/10.1016/j.plantsci.2010.08.016>

Roccotiello, E., Manfredi, A., Drava, G., Minganti, V., Giorgio Mariotti, M., Berta, G., & Cornara, L. (2010). Zinc tolerance and accumulation in the ferns *Polypodium cambricum* L. and *Pteris vittata* L. *Ecotoxicology and environmental safety*, 73(6), 1264–1271.
<https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2010.07.019>

Rose, J. P. & Dassler, C. L. (2017). Spore Production and Dispersal in Two Temperate Fern Species, With an Overview of the Evolution of Spore Production in Ferns. *American Fern Journal*, 107(3), 136–155.
<https://doi.org/10.1640/0002-8444-107.3.136>

Rout, G. R. & Sahoo, S. (2015). Role of iron in plant growth and metabolism. *Reviews in Agricultural Science*, 3, 1–24.
<https://doi.org/10.7831/ras.3.1>

Salazar, M. J., Menoyo, E., Faggioli, V., Geml, J., Cabello, M., Rodriguez, J. H., Marro, N., Pardo, A., Pignata, M.L. & Becerra, A. G. (2018). Pb accumulation in spores of arbuscular mycorrhizal fungi. *Science of The Total Environment*, 643, 238–246.
<https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2018.06.199>

Sánchez-López J. F. (2023). Cuantificación de nitrógeno total y aislamiento de bacterias fijadoras de nitrógeno en residuos mineros. Reporte de Servicio Social. Facultad de Estudios Superiores Zaragoza, UNAM.

- SEMARNAT. (2000). Norma Oficial Mexicana NOM-021-RECNAT-2000. Especificaciones de fertilidad, salinidad y clasificación de suelos. Estudios, muestreos y Análisis. México, D. F.
- Shi, X., Chen, Y. T., Wang, S. F., Pan, H. W., Sun, H. J., Liu, C. X., Liu, J. F., & Jiang, Z. P. (2016). Phytoremediation potential of transplanted bare-root seedlings of trees for lead/zinc and copper mine tailings. *International Journal of Phytoremediation*, 18(11), 1155–1163.
<https://doi.org/10.1080/15226514.2016.1189399>
- Šimonovičová, A., Kraková, L., Paudišová, E., & Pangallo, D. (2019). Occurrence and diversity of cultivable autochthonous microscopic fungi in substrates of old environmental loads from mining activities in Slovakia. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 172, 194–202.
<https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2019.01.064>
- Subramanian, D., Subha, R. & Murugesan, A. K. (2022). Accumulation and translocation of trace elements and macronutrients in different plant species across five study sites. *Ecological Indicators*, 135, 108522.
<https://doi.org/10.1016/j.ecolind.2021.108522>
- Suo, J., Chen, S., Zhao, Q. *et al.* (2015). Fern spore germination in response to environmental factors. *Frontiers in Biology*, 10, 358–376.
<https://doi.org/10.1007/s11515-015-1342-6>
- Suzuki, K. & Yoshida, T. (2015). Ecological resilience of population cycles: A dynamic perspective of regime shift. *Journal of Theoretical Biology*, 370, 103–115.
<https://doi.org/10.1016/j.jtbi.2015.01.026>
- Talavera M. O., Armienta H. M. A., García A. J., Flores M. N. (2006). Geochemistry of leaches from the El Fraile sulfide tailings piles in Taxco, Guerrero, southern Mexico. *Environmental Geochemistry and Health*, 28, 243–255.
<https://doi.org/10.1007/s10653-005-9037-6>
- Talavera M. O., Yta M., Moreno T. R., Dótor A. A., Flores M. N., Duarte G. C. (2005). Mineralogy and geochemistry of sulfide-bearing tailings from silver mines in the Taxco, Mexico area to evaluate their potential environmental impact. *Geofísica internacional*, 44(1), 49–64.

<https://doi.org/10.22201/igeof.00167169p.2005.44.1.552>

Thomas, G. (1996). Soil pH and Soil Acidity. En: DL Sparks, AL Page, PA Helmke, RH Loeppert, PN Soltanpour, MA Tabatabai, CT Johnston, ME Sumner (Eds), *Methods of soil analysis, part 3 Chemical methods* 475-490. Soil Science Society of America, Inc., USA.

Torres G.R., Pérez C.F., Lupo L.C., & Martinez, O.G. (2014). Registro preliminar del depósito atmosférico anual de esporas de helechos de las yungas sobre un gradiente ambiental en la cuenca media del río Perico (Jujuy, Argentina). *Boletín de la Sociedad Argentina de Botánica*, 49(4), 503-512.

http://www.scielo.org.ar/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1851-23722014000400008&lng=es&tlng=pt.

Villagómez-Peña I. A. (2022). Evaluación del potencial de bioextracción de elementos potencialmente tóxicos por briofitas asociadas al jal minero "La Concha", Taxco, Guerrero [FES-Zaragoza, UNAM]. Repositorio Institucional de la UNAM: <http://132.248.9.195/ptd2022/septiembre/0830366/Index.html>

Vural A. (2024). Trace element accumulation behavior, ability, and propensity of *Taraxacum officinale* F.H. Wigg (Dandelion). *Environmental science and pollution research international*, 31(11), 16667–16684. <https://doi.org/10.1007/s11356-024-32293-2>

Wang L., Ji B., Hu Y., Liu R., Sun W. (2017). A review on in situ phytoremediation of mine tailings. *Chemosphere*, 184, 594–600. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2017.06.025>

Wang, J., & Hu, Y. (2023). Translocation and accumulation of heavy metals from the rhizosphere soil to the medicinal plant (*Paeonia lactiflora* Pall.) grown in Bozhou, Anhui Province, China. *Environmental Pollutants and Bioavailability*, 35(1). <https://doi.org/10.1080/26395940.2023.2223768>

Wolfgang, S., Sebastien, T. & Buckhout, T. J. (2020). Editorial: Iron Nutrition and Interactions in Plants. *Frontiers in Plant Science*, 10, 1670. <https://doi.org/10.3389/fpls.2019.01670>

Wong, M.H. (2003). Ecological restoration of mine degraded soils, with emphasis on metal contaminated soils. *Chemosphere*, 50(6), 775–780, ISSN 0045-6535.
[https://doi.org/10.1016/S0045-6535\(02\)00232-1](https://doi.org/10.1016/S0045-6535(02)00232-1)

Yadav, V., Arif, N., Kováč, J., Singh, V. P., Tripathi, D. K., Chauhan, D. K., & Vaculík, M. (2021). Structural modifications of plant organs and tissues by metals and metalloids in the environment: A review. *Plant physiology and biochemistry: PPB*, 159, 100–112.
<https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2020.11.047>

Yang X., Feng Y., He Z., Stoffella P. J. (2005). Molecular mechanisms of heavy metal hyperaccumulation and phytoremediation. *Journal of Trace Elements in Medicine and Biology*, 18(4), 339–353.
<https://doi.org/10.1016/j.jtemb.2005.02.007>

Young J. W. H., Tan S. N., Ng Y. F., Low K. K. K., Peh S. F., Chua J. C., Lim A. A. B. (2010). Arsenic hyperaccumulation by *Pteris vittata* and *Pityrogramma calomelanos*: a comparative study of uptake efficiency in arsenic-treated soils and waters. *Water Science & Technology*, 61(12), 3041–3049.
<https://doi.org/10.2166/wst.2010.223>

Yu, H., Li, S., Wang, A., Kuang, Y., Wang, F. & Xing, F. (2020). Accumulation of Heavy Metals and As in the Fern *Blechnum orientale* L. from Guangdong Province, Southern China. *Water, Air & Soil Pollution*, 231(342).
<https://doi.org/10.1007/s11270-020-04645-4>