



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE SAN LUIS POTOSÍ

FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS, INGENIERÍA Y MEDICINA

PROGRAMAS MULTIDISCIPLINARIOS DE POSGRADO EN CIENCIAS
AMBIENTALES

TESIS QUE PARA OBTENER EL GRADO DE LA

MAESTRÍA EN CIENCIAS AMBIENTALES

**EVALUACIÓN FISIOLÓGICA DE ESPECIES VEGETALES QUE CRECEN EN SITIOS
IMPACTADOS POR RESIDUOS GENERADORES DE DRENAJE ÁCIDO DE ROCA**

PRESENTA:

I.A. PAOLA RODRIGUEZ TORRES

DIRECTOR DE TESIS:

DR. ROBERTO BRIONES GALLARDO

CO-DIRECTORA DE TESIS:

DRA. MA. DEL CARMEN GÓNZALEZ CHÁVEZ

ASESORES:

DRA. LAURA YÁÑEZ ESPINOSA

DR. JUAN ANTONIO REYES AGÜERO

AGOSTO, 2013

CRÉDITOS INSTITUCIONALES

PROYECTO REALIZADO EN EL:

LABORATORIO DE REMEDIACIÓN AMBIENTAL DEL INSTITUTO DE METALURGIA DE LA UASLP DE LA FACULTAD DE INGENIERÍA DE LA UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE SAN LUIS POTOSÍ

CON FINANCIAMIENTO DEL:

Proyecto de investigación PROMEP/UASLP/10CA19 “Caracterización del impacto ambiental asociado a un depósito no controlado de residuos generadores de drenaje ácido de roca”, del Cuerpo Académico de Tecnología Ambiental de la Facultad de Ingeniería dentro del marco de la Convocatoria de Apoyo al Fortalecimiento de los Cuerpos Académicos Consolidados y en Vías de Consolidación 2010.

AGRADEZCO A CONACyT EL OTORGAMIENTO DE LA BECA-TESIS

Becaria No. 230681

A la compañía **New Gold Inc. Minera San Xavier, S. A. de C. V.** Mina Cerro de San Pedro, especialmente al **Dr. Guillermo Velasco** por la facilidad otorgada para la toma de muestras y a la **M.I.M. Rosa Alba Gosch Acosta** por la realización de los análisis químicos por ICP.

**LA MAESTRÍA EN CIENCIAS AMBIENTALES RECIBE APOYO ATRAVÉS
DEL PROGRAMA NACIONAL DE POSGRADOS DE CALIDAD (PNPC)**

DEDICATORIA

A mis padres **Pablo** y **María Teresa** por ser un ejemplo de vida, por todo el amor que recibo a diario. Muchísimas gracias por seguir caminado conmigo durante todo este tiempo.

A mis hermanas **Caro** y **Ana**, porque ustedes me han enseñado a ser perseverante y constante en la búsqueda y realización de una meta.

A todos los que conforman la familia **Torres Zárate** por su apoyo y cariño.

A **Emmanuel** y **Ximena** por motivarme a ser una mejor persona cada día

AGRADECIMIENTOS

Al **Programa Multidisciplinario de Posgrado en Ciencias Ambientales** por darme la oportunidad de cumplir una meta profesional.

Al **Instituto de Investigación de Zonas Desérticas**, especialmente al **Taxónomo José García Pérez**, por la identificación de la flora en el Distrito Minero Cerro de San Pedro,

Al **Dr. Roberto Briones Gallardo**, por las enseñanzas, dedicación, paciencia e interés.

A la **Dra. Ma. del Carmen González Chávez**, por las aportaciones surgidas en cada revisión, que ayudaron a enriquecer esta investigación.

A la **Dra. Laura Yáñez Espinosa** por las facilidades otorgadas en el procesamiento de las muestras vegetales cortadas y observadas al microscopio óptico y por las innumerables dudas resueltas.

Al **Dr. Juan Antonio Reyes Agüero** agradezco sus asesorías y apoyo para la realización de esta tesis.

Al **Dr. Israel Razo Soto** por las sugerencias y contribuciones que me ayudaron a mejorar el presente estudio.

A la **M.I.M. Harumi Ramos Azpeitia** por su apoyo en la capacitación e implementación del protocolo en la determinación del contenido total de metales en el suelo rizosférico.

A la **M.C Amaranta Arellano Rivas** por su apoyo en la implementación del protocolo de histología.

A mis **compañeros y amigos** del **PMPCA** y del **Instituto de Metalurgia** por su amistad y apoyo durante todo este tiempo.

RESUMEN

En el presente estudio se evaluó el efecto de EPT fitoaccesibles sobre la fisiología de *Asphodellus fistulosus* L. y *Nama* sp. que crecen en sitios impactados por residuos generadores de drenaje ácido de roca (DAR), especies vegetales asociadas o no a hongos micorrízico arbusculares (HMA). Las muestras de suelo rizosférico y la biomasa de las plantas se recolectaron en el Distrito Minero Cerro de San Pedro, Cerro de San Pedro, San Luis Potosí, México.

La metodología en este estudio se concentró en el análisis químico del suelo rizosférico de ambas especies vegetales (pH, concentración total y fitoaccesible de EPT); el análisis ecofisiológico e histológico de ambas especies vegetales recolectadas (concentración total de EPT bioacumulados en la biomasa, cuantificación de pigmentos fotosintéticos e histología).

Los resultados mostraron que las concentraciones totales de As y Pb superan los valores establecidos en la NOM-147-SEMARNAT/SSAA1-2004, sin embargo, se pudo constatar que la movilidad del As en el suelo rizosférico de ambas especies vegetales es relativamente baja, debido principalmente a la presencia de oxi-hidróxidos de hierro, en lo que corresponde a los demás EPT analizados se observó que la concentración fitoaccesible tiende a disminuir aguas abajo con respecto al cauce del arroyo San Pedro.

La determinación del contenido de metales bioacumulados en la biomasa de ambas especies vegetales, sugiere la posibilidad de considerarlas como especies hiperacumuladoras, ya que se constató que *A. fistulosus* tiene la capacidad de bioacumular Cd 347.6 veces superior al valor establecido como "normal" para la PER; mientras que *Nama* sp. puede bioacumular As, Cd y Zn 190.3; 113.4 y 10.87 veces más de lo establecido para una PER. La cuantificación de los pigmentos fotosintéticos en las hojas de ambas especies vegetales; demostró que la bioacumulación de As, Cd,

Pb y Zn en las hojas de *Nama* sp. (P₅) disminuyó la concentración de clorofila. Los resultados anteriores permiten sugerir diversos mecanismos de tolerancia para las plantas expuestas a EPT.

En este estudio, las variaciones observadas en las hojas, tallos y raíces de *A. fistulosus* y *Nama* sp., se atribuyeron principalmente a la concentración fitoaccesible del Cd y Zn así como a la concentración de bioacumulada en la biomasa de ambas especies vegetales.

Asimismo fue posible identificar en *Asphodellus fistulosus* (un punto de muestreo) y *Nama* sp. (tres puntos de muestreo) la asociación entre hongos micorrízicos arbusculares (HMA); sin embargo los resultados de esta tesis solo deben de considerarse como exploratorios ya que no fue un estudio específico para evaluar el efecto de la presencia de la colonización micorrízica, su no solo establecer su presencia en estos sistemas impactados por DAR.

ÍNDICE

RESUMEN.....	i
ÍNDICE.....	iii
ÍNDICE DE FIGURAS	vii
ÍNDICE DE TABLAS	ix
LISTA DE ABREVIATURAS	xi
INTRODUCCIÓN.....	1
1. ANTECEDENTES.....	3
1.1 PROBLEMÁTICA AMBIENTAL.....	3
1.1.1 Drenaje ácido de roca.....	4
1.1.2 Elementos potencialmente tóxicos (EPT).....	5
1.1.3 Procesos involucrados en la disponibilidad de los EPT	6
1.1.4 Generalidades de algunos elementos de interés en el presente estudio: arsénico, cadmio, hierro, plomo y zinc.....	8
1.2 ANATOMÍA Y FISIOLÓGÍA VEGETAL	15
1.2.1 Raíz.....	15
1.2.2 Tallo.....	18
1.2.3 Hoja	21
1.2.4 Fotosíntesis	23
1.3 EFECTOS TÓXICOS DE LOS EPT EN LAS PLANTAS	32
1.4 ALTERNATIVAS DE FITORREMEDIACION.....	35
1.4.1 Mecanismos de tolerancia y desintoxicación de EPT en las plantas	36
2. JUSTIFICACIÓN.....	45
3. HIPÓTESIS.....	49
4. OBJETIVOS	49
4.1 OBJETIVO GENERAL	49
4.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	49
5. MATERIALES Y MÉTODOS	51
5.1 UBICACIÓN Y DESCRIPCIÓN DEL SITIO DE ESTUDIO	51
5.2 MATERIALES DE ESTUDIO	52

5.2.1	Suelo rizosférico.....	52
5.2.2	Material vegetal.....	53
5.3	ANÁLISIS QUÍMICO.....	56
5.3.1	pH del suelo.....	56
5.3.2	Determinación del contenido total de metales en el suelo rizosférico.....	56
5.3.3	Movilidad de EPT en presencia de una solución sintética de ácidos orgánicos de bajo peso molecular.....	56
5.4	ANÁLISIS ECOFISIOLÓGICO E HISTOLÓGICO.....	57
5.4.1	Determinación del contenido de metales totales bioacumulados en el tejido vegetal.....	57
5.4.2	Cuantificación de pigmentos fotosintéticos.....	58
5.4.3	Histología.....	59
5.5	COLONIZACIÓN MICORRÍZICA.....	61
5.5.1	Procesamiento de raíces: tinción, clareo y frecuencia de colonización.....	61
5.5.2	Extracción y cuantificación de esporas.....	61
5.6	ANÁLISIS ESTADÍSTICO.....	61
6.	RESULTADOS.....	63
6.1	UBICACIÓN Y DESCRIPCIÓN DEL SITIO DE ESTUDIO.....	63
6.2	ANÁLISIS QUÍMICO.....	66
6.2.1	pH del suelo.....	66
6.2.2	Determinación del contenido total de metales en el suelo rizosférico.....	68
6.2.3	Movilidad de EPT en presencia de una solución de ácidos orgánicos de bajo peso molecular.....	70
6.3	ANÁLISIS ECOFISIOLÓGICO E HISTOLÓGICO.....	75
6.3.1	Determinación del contenido total de metales bioacumulados en el tejido vegetal.....	75
6.3.2	Cuantificación de pigmentos fotosintéticos.....	81
6.3.3	Histología.....	88
6.4	COLONIZACIÓN MICORRÍZICA.....	105
6.4.1	Procesamiento de raíces: tinción, clareo y frecuencia de colonización.....	105
6.4.2	Extracción y cuantificación de esporas.....	105

6.5	CORRELACIÓN.....	108
6.5.1	Análisis químico	108
6.5.2	Análisis ecofisiológico e histológico	118
6.6	REGRESIÓN	127
7.	DISCUSIÓN	131
7.1	ANÁLISIS QUÍMICO.....	131
7.2	ANÁLISIS ECOFISIOLÓGICO E HISTOLÓGICO	135
7.3	COLONIZACIÓN MICORRÍZICA	140
8.	CONCLUSIONES Y PERSPECTIVAS	143
8.1	PERSPECTIVAS.....	145
	REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	147
	ANEXOS.....	163
	Anexo I. Porcentaje de fitoaccesibilidad de EPT en el suelo rizosférico respecto al contenido total.	165
	Anexo II. Análisis de varianza (ANOVA) para un diseño aleatorio; procedimiento del modelo lineal general (GLM) del software estadístico SAS.	166
	Anexo III. Correlación entre las variables del análisis químico (pH, contenido total y movilidad de EPT en el suelo rizosférico) y las variables del análisis ecofisiológico e histológico (cuantificación de pigmentos fotosintéticos, contenido total de EPT bioacumulados en el tejido vegetal e histología) de las especies vegetales bajo estudio, procedimiento CORR del software estadístico SAS.	179
	Anexo IV. Variaciones anatómicas en <i>Asphodelus fistulosus</i> y <i>Nama</i> sp.	213

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Procesos que controlan la disponibilidad de los EPT en el suelo y su transferencia a las plantas	8
Figura 2. Estructura externa de la raíz principal de maíz en sección longitudinal; además de las zonas de desarrollo y su relación con la absorción y transporte de agua al tallo.....	16
Figura 3. Estructura secundaria de raíz.....	18
Figura 4. Estructura externa de un tallo.....	19
Figura 5. Estructura interna de un tallo.....	21
Figura 6. Estructura externa de una hoja.....	22
Figura 7. Estructura interna de una hoja.....	23
Figura 8. Complejo de captación de luz, LHCII. Unidad funcional (LHC)	25
Figura 9. Fases de asimilación de CO ₂ en los organismos fotosintéticos.....	26
Figura 10. Diagrama esquemático del cloroplasto.....	28
Figura 11. Complejos proteínicos insertados en la membrana tilacoidal	30
Figura 12. Estructura clorofilas a y b	31
Figura 13. Estructura de la ribulosa 1,5-bifosfato carboxilasa (rubisco)	34
Figura 14. Diferenciación y formación de un elemento traqueal del xilema (vaso leñoso) 35	
Figura 15. Sitio de estudio dentro del Distrito Minero Cerro de San Pedro	52
Figura 16. Planta de <i>Asphodelus fistulosus</i> L.	54
Figura 17. Planta de <i>Nama</i> sp.	55
Figura 18. Especies vegetales que crecen en el área de estudio impactada por DAR	64
Figura 19. Evidencias de DAR.....	65
Figura 20. pH en el suelo rizosférico de <i>A. fistulosus</i> para los puntos de muestreo P ₁ , P ₂ , P ₃ y P ₄	66
Figura 21. pH en el suelo rizosférico de <i>Nama</i> sp. para los puntos de muestreo P ₅ , P ₆ , P ₇ , P ₈ y P ₉	67
Figura 22. Concentración de pigmentos fotosintéticos en <i>A. fistulosus</i> para los puntos de muestreo P ₁ , P ₂ , P ₃ y P ₄	83
Figura 23. Relación clorofila a / clorofila b en <i>A. fistulosus</i> para los puntos de muestreo P ₁ , P ₂ , P ₃ y P ₄	83
Figura 24. Concentración de pigmentos fotosintéticos en <i>Nama</i> sp. para los puntos de muestreo P ₅ , P ₆ , P ₇ , P ₈ y P ₉	84
Figura 25. Relación clorofila a/clorofila b en <i>Nama</i> sp. para los puntos de muestreo P ₅ , P ₆ , P ₇ , P ₈ y P ₉	85
Figura 26. Estructura clorofila a; Me ²⁺ sustitución del Mg ²⁺ en la molécula de clorofila	87
Figura 27. Variaciones anatómicas en los cortes longitudinales de hojas en <i>A. fistulosus</i> para los puntos de muestreo P ₂ y P ₄	89
Figura 28. Variaciones anatómicas en los cortes transversales de tallos en <i>A. fistulosus</i> para los puntos de muestreo P ₂ y P ₄	91

Figura 29. Variaciones anatómicas en las raíces de <i>A. fistulosus</i> para los puntos de muestreo P ₂ y P ₄	92
Figura 30. Variaciones anatómicas en <i>A. fistulosus</i> para los puntos de muestreo P ₂ y P ₄	93
Figura 31. Variaciones anatómicas en las hojas de <i>Nama</i> sp. para los puntos de muestreo P ₅ y P ₈	95
Figura 32. Variaciones anatómicas en los tallos de <i>Nama</i> sp. para los puntos de muestreo P ₅ y P ₈	97
Figura 33. Variaciones anatómicas en las raíces de <i>Nama</i> sp. para los puntos de muestreo P ₅ y P ₈	99
Figura 34. Variaciones anatómicas en los cortes transversales de hojas en <i>Nama</i> sp. para los puntos de muestreo P ₅ y P ₉	100
Figura 35. Variaciones anatómicas en los tallos de <i>Nama</i> sp. para los puntos de muestreo P ₅ y P ₉	102
Figura 36. Variaciones morfológicas en los cortes transversales de raíces en <i>Nama</i> sp. para los puntos de muestreo P ₅ y P ₉	103
Figura 37. Variaciones anatómicas en <i>Nama</i> sp. para los puntos de muestreo P ₅ y P ₈	104
Figura 38. Colonización micorrízica en raíces de <i>A. fistulosus</i> . creciendo en residuos generadores de DAR	106
Figura 39. Colonización micorrízica en raíces de <i>Nama</i> sp. creciendo en residuos generadores DAR	107
Figura 40. Correlación entre la concentración total de metales en suelo rizosférico y la concentración total de metales bioacumulados en tallo.....	111
Figura 41. Correlación entre la concentración total de Zn en el suelo rizosférico y la concentración total de As bioacumulado en raíz	112
Figura 42. Correlación entre la concentración fitoaccesible de metales movilizados por una solución LMWOA y el contenido total de metales bioacumulados en el tejido vegetal	115
Figura 43. Correlación entre la concentración fitoaccesible de metales movilizados por una solución LMWOA y la concentración total de metales bioacumulados en raíz	118
Figura 44. Correlación entre las variables del análisis histológico (cortes trasversales en las hojas) y la concentración fitoaccesible de metales movilizados por una solución LMWOA.....	119
Figura 45. Correlación entre las variables del análisis histológico (cortes transversales) y el contenido total de metales en suelo rizosférico	123
Figura 46. Correlación entre las variables del análisis histológico (cortes longitudinales) y el contenido total de metales en suelo rizosférico.	127

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Concentraciones típicas en plantas de elementos esenciales y EPT, que crecen en suelos mineralizados, no mineralizados y plantas clasificadas como hiperacumuladoras	37
Tabla 2. Solución sintética de ácidos orgánicos de bajo peso molecular (LMWOA).....	57
Tabla 3. Parámetros de digestión en microondas	58
Tabla 4. Ubicación geográfica de los puntos de muestreo en dirección aguas arriba y abajo con respecto a los residuos del cauce del arroyo San Pedro	65
Tabla 5. Concentración total de metales en suelo rizosférico de <i>A. fistulosus</i> para los puntos de muestreo P ₂ y P ₄	68
Tabla 6. Concentración total de metales en suelo rizosférico de <i>Nama</i> sp. para los puntos de muestreo P ₅ , P ₆ , P ₇ , P ₈ y P ₉	69
Tabla 7. Concentración fitoaccesible de metales en suelo rizosférico de <i>A. fistulosus</i> movilizados por una solución de ácidos orgánicos para los puntos de muestreo P ₂ y P ₄	71
Tabla 8. Concentración fitoaccesible de metales en suelo rizosférico de <i>Nama</i> sp. movilizados por una solución de ácidos orgánicos para los puntos de muestreo P ₅ , P ₆ , P ₇ , P ₈ y P ₉	73
Tabla 9. Concentración de metales bioacumulados en la biomasa de <i>A. fistulosus</i> para los puntos de muestreo P ₂ y P ₄	76
Tabla 10. Concentración de metales bioacumulados en la biomasa de <i>Nama</i> sp. para los puntos de muestreo P ₅ , P ₆ , P ₇ , P ₈ y P ₉	80
Tabla 11. Coeficientes de correlación de Pearson entre el contenido total de metales en suelo rizosférico y la concentración total de metales bioacumulados en tallo	108
Tabla 12. Coeficientes de correlación de Pearson entre el contenido total de metales en suelo rizosférico y la concentración total de metales bioacumulados en raíz.....	108
Tabla 13. Ecuaciones y coeficientes de determinación (R ²) entre la concentración total de metales en suelo rizosférico y el contenido total de metales bioacumulados en tallo	109
Tabla 14. Ecuación y coeficiente de determinación (R ²) entre la concentración total de metales en suelo rizosférico y la concentración total bioacumulados en raíz.....	112
Tabla 15. Coeficientes de correlación de Pearson entre el contenido total de metales movilizados por una solución de ácidos orgánicos de bajo peso molecular y la concentración total de metales bioacumulados en hoja	113

Tabla 16. Coeficientes de correlación de Pearson entre el contenido total de metales movilizados por una solución de ácidos orgánicos de bajo peso molecular y el contenido total de metales bioacumulados en tallo	114
Tabla 17. Coeficientes de correlación de Pearson entre el contenido total de metales movilizados por una solución de ácidos orgánicos de bajo peso molecular y la concentración total de metales bioacumulados en raíz.....	114
Tabla 18. Ecuaciones y coeficientes de determinación (R^2) entre la concentración fitoaccesible de metales movilizados por una solución LMWOA y la concentración total de metales bioacumulados en el tejido vegetal.....	115
Tabla 19. Ecuaciones y coeficientes de determinación (R^2) entre la concentración fitoaccesible de metales movilizados por una solución LMWOA y la concentración total de metales bioacumulados en la raíz.....	116
Tabla 20. Ecuaciones y coeficientes de determinación (R^2) entre las variables del análisis histológico (hojas) y la concentración fitoaccesible de metales movilizados por una solución LMWOA.....	118
Tabla 21. Coeficientes de correlación de Pearson entre las variables del análisis histológico y la concentración total de metales movilizados por una solución de ácidos orgánicos de bajo peso molecular	120
Tabla 22. Ecuaciones y coeficientes de determinación (R^2) entre las variables del análisis histológico (cortes transversales) y el contenido total de metales en suelo rizosférico.....	124
Tabla 23. Coeficientes de correlación de Pearson entre las variables del análisis histológico y la concentración total de metales en suelo rizosférico.....	125
Tabla 24. Coeficientes de correlación de Pearson entre la longitud de los vasos en la raíz y la concentración total de metales en suelo rizosférico.....	125
Tabla 25. Ecuaciones y coeficientes de determinación (R^2) entre las variables del análisis histológico (cortes longitudinales) y el contenido total de metales en suelo rizosférico	126
Tabla 26. Coeficientes de regresión entre las variables del análisis ecofisiológico y las variables del análisis químico	129
Tabla 27. Lista de abreviaturas empleadas en el análisis de regresión múltiple.....	130

LISTA DE ABREVIATURAS

Ácido desoxirribonucleico	ADN
Ácido Ribonucleico	ARN
Adenosina difosfato	ADP
Adenosin trifosfato	ATP
Drenaje ácido de roca	DAR
Elementos potencialmente tóxicos	EPT
Flavina adenina dinucleótido en su forma reducida	FADH ₂
Ferredoxina	Fd
Ferredoxina-NADPH ⁺ reductasa	FNR
Fitoquelatinas	FQ
Fósforo inorgánico	P _i
Fotosistema I	PSI
Fotosistema II	PSII
Hongos micorrizíco arbusculares	HMA
Light Harvesting Complexes	LHC
Metalotioneínas	MT
Nicotinamida adenina dinucleótido	NADH
Nicotinamida adenida dinucleótido fosfato en su forma reducida	NADPH ⁺
Plastocianina	Pc
Plastoquinol	(PQH ₂)
Plastoquinona	(PQ)
Planta estándar de referencia	PER
Radiación fotosintéticamente activa	PAR
Solución de ácidos orgánicos de bajo peso molecular	LMWOA

INTRODUCCIÓN

La minería en México se ha realizado preferentemente en los estados del norte, con un clima predominantemente semiárido y árido. Es una de las actividades económicas de mayor tradición y su explotación a mayor volumen se remonta desde la segunda década del siglo XVI con el aprovechamiento de yacimientos de minas de oro y plata, convirtiéndose en el motor de crecimiento económico y de modernización durante la época de la Colonia. Sin embargo, las Guerras de Independencia (siglo XIX) y Revolución (siglo XX) afectaron la actividad minera; sin embargo para finales del siglo XIX México logró colocarse como el primer productor mundial de plata; además de ser de los principales productores de cobre y zinc. Por más de tres siglos ha abastecido industrias de la construcción, metalúrgica, siderúrgica, química y electrónica (Carrillo-González, 2005a; Volke *et al.*, 2005; Hernández-Acosta *et al.*, 2009).

Después de que los minerales se extraen, se concentran empleando métodos físicos para lograr separar la fracción económicamente redituable y los residuos son depositados a cielo abierto en presas de jales, expuestos a procesos de intemperismo. La composición de los residuos incluyen materiales de excavación y sobrenadantes de la separación del mineral; estos últimos son los más preocupantes pues contienen altas cantidades de metales y metaloides generalmente conocidos como elementos potencialmente tóxicos (EPT) como: As, Pb, Cd, Hg, Se, Sb, Cu y Zn. La dispersión de estos elementos suele contaminar el suelo, aire y agua (Carrillo-González, 2005b; Razo, 2006; Hernández-Acosta *et al.*, 2009).

Debido a la ausencia de controles ambientales y la falta de implementación de la emergente legislación ambiental en México, se desconoce aún con exactitud el número de depósitos de residuos mineros y la superficie de suelos contaminados existentes. Durante 1995, se comenzó con la identificación a nivel nacional de sitios contaminados con residuos peligrosos, tomando en

consideración: el tipo y concentración de contaminantes y el nivel de afectación potencial a la salud y al ambiente. En 1997, la lista preliminar de sitios contaminados mostraba 59, localizados en 16 estados; en 1999 se habían inventariado 17 entidades e identificado 105 sitios. La acción fue emprendida por la Procuraduría Federal de Protección al Ambiente (PROFEPA) en colaboración de sus Delegaciones estatales. En la mayoría de los sitios se identificó la presencia de As, Pb y Cd y escorias de fundición y en conjunto superaron las 80,000 t (Carrillo-González, 2005a; Volke *et al.*, 2005).

Para lograr la recuperación de suelos contaminados pueden emplearse métodos de ingeniería como la excavación, lavado de suelo y tratamientos térmicos y eléctricos; además de los tratamientos químicos, que consideran la adición de fosfatos o algunas sustancias adsorbentes (zeolitas, aluminosilicatos), encalado y agentes quelantes; sin embargo el uso de este tipo de alternativas se ve limitado por el costo económico y el riesgo. El empleo de tecnologías biológicas con plantas y microorganismos, ha sido utilizado para el tratamiento de contaminantes como hidrocarburos, plaguicidas, sustancias reactivas; sin embargo su uso en la remediación de sitios contaminados con EPT se encuentra poco estudiada y desarrollada. Estas tecnologías, además de reducir el riesgo de exposición se llevan a cabo por procesos naturales causando la menor perturbación al sitio (González-Chávez, 2005). Sin embargo, su implementación y el tiempo para que comiencen a mostrar sus beneficios requiere plazos a mediano y largo plazo.

1. ANTECEDENTES

1.1 PROBLEMÁTICA AMBIENTAL

La minería ha contribuido en el estado de San Luis Potosí como generadora de productos de exportación, destacando minerales metálicos como Au, Ag, Cu, Zn, Mn, Sn, Fe, Hg y Sb; y minerales no metálicos como fluorita, fosforita, yeso, azufre, arcillas aluminicas, ónix, mármol, sal, calizas y canteras. Actualmente en el estado se han designado 14 regiones mineras, agrupadas de acuerdo al tipo de mineralización, distritos y zonas mineralizadas.

El Distrito Minero Cerro de San Pedro se encuentra dentro de La Región San Luis Potosí, conformada por la Zona Mineralizada Villa de Reyes y la Zona Mineralizada Villa de Arriaga (SGM, 2011).

En el Distrito Minero Cerro de San Pedro la mayoría de los depósitos son cuerpos de reemplazamiento y algunos rellenos de cavidades que forman mantos y chimeneas con óxidos y sulfuros. Éstos están formados por zonas de brechas y vetas irregulares de poca extensión longitudinal y vertical, el contenido de óxidos registra altas cantidades de Au y en menor proporción de Ag. Otro tipo de yacimientos corresponde a la mineralización diseminada de calizas, está formada principalmente por vetillas de calcita y hematita como óxidos en calizas fuertemente recristalizadas y fracturadas en algunas partes con argilización, hematización e intensa carbonatación. Pueden también observarse mineralización en el intrusivo, formado por vetillas de calcitas con óxidos de fierro y en algunas zonas sulfuros que constan principalmente de pirita, tetrahederita, arsenopirita, calcopirita y acantita (COREMI, 1992).

1.1.1 Drenaje ácido de roca

La exposición de minerales sulfurosos a condiciones de intemperismo o meteorización (con agua, aire, suelo y procesos microbianos) provocan drenaje ácido de roca (DAR), que se caracteriza por generar agua contaminada con altos índices de acidez y efluentes con elevadas concentraciones de metales pesados (Pb, Fe, Cd, Al, Cu, Zn). La alta acidez suele formarse cuando los minerales que contienen azufre, principalmente la pirita (FeS_2), entra en contacto con la atmósfera, a través de labores mineras (galerías y cruceros), produciendo su oxidación y dando como resultado la formación de ácido sulfúrico y hierro en solución (Razo, 2006; De la Cruz, 2006; ECOAMERICA, 2007). El potencial de una mina para generar DAR, está en función de varios factores que incluyen las reacciones de oxidación, con otros minerales y el estado físico de los residuos de las minas (migración de los contaminantes). Los problemas ambientales del DAR se reflejan en flora, fauna y recursos hídricos, los cuales pueden llegar a ser dañinos para el hombre por su consumo accidental por humanos o por su deposición en zonas agrícolas e industriales (ECOAMERICA, 2007).

La generación de DAR en sitios contaminados con climas áridos se considera un problema ambiental que tardará cientos de años en manifestarse, debido a la baja precipitación pluvial y al elevado índice de evaporización. Se ha observado que el clima, influye de manera directa sobre la migración de los contaminantes, pudiéndose considerar la erosión eólica como la principal causa de dispersión, debido a la escasa cobertura vegetal. Recientemente, las evaluaciones ambientales se han enfocado a sitios donde la generación de DAR, puede considerarse la principal causa de contaminación, sin embargo en áreas con climas áridos y semiáridos no se ha evaluado lo suficiente (Razo, 2002).

1.1.2 Elementos potencialmente tóxicos (EPT)

El término elementos potencialmente tóxicos (EPT) se utiliza tanto para los elementos que son necesarios en pequeñas cantidades (micronutrientes) (Co, Cr, Cu, Mo, Mn, Ni, Se y Zn) para los organismos pero que a ciertas concentraciones pueden llegar a ser tóxicos, como para algunos de ellos que aún en concentraciones mínimas son altamente tóxicos (As, Ba, Bi, Cd, Hg, Pb, Sb) y que inclusive no se consideran esenciales. Los EPT pueden provenir de fuentes naturales como actividad volcánica, procesos de formación de suelos, meteoros, erosión de rocas, terremotos, tsunamis de actividades económicas humanas como la industria metalúrgica y de la fundición, combustión de residuos fósiles, industria química, aguas residuales y lodos producto de su depuración, residuos de la industria eléctrica, residuos de mina de metales y actividades económicas a través de algunos plaguicidas y fertilizantes (González-Chávez, 2004; Navarro *et al.*, 2007; Carrillo-González, 2009).

A diferencia de otros contaminantes los EPT, se caracterizan por ser difíciles de retirar del ambiente ya que no se degradan química o biológicamente y que básicamente permanecen en la interfase suelo-agua-atmósfera de donde pueden pasar a la cadena trófica. Aunque algunos EPT son una parte importante con el ecosistema edáfico, su acumulación puede ser dañina para las personas, animales, plantas y otros microorganismos, causando desde perturbaciones fisiológicas, hasta la muerte (Rodríguez-Elizalde, 2006).

Los EPT en los suelos siguen algunas o todas las pautas de movilidad, que en su conjunto pueden resumirse en las siguientes vías (Navarro *et al.*, 2007):

- Movilización a las aguas superficiales
- Transferencia a la atmósfera por volatilización
- Absorción por las plantas e incorporación a las cadenas tróficas

- Retención en el suelo por diferentes procesos: disolución o fijación, adsorción, complejación y quelación

Al entrar en contacto con el ambiente los EPT, sufren reacciones que ocurren entre las fases sólidas, acuosas y gaseosas, manifestando cambios en la forma química en que se presentan. El suelo es el medio donde este tipo de contaminantes sufre cambios en su especiación, debido a la presencia de sustancias orgánicas y minerales. Esta interacción es de suma importancia para modificar las propiedades fisicoquímicas y procesos bioquímicos. La especiación es afectada por factores tales como pH, potencial óxido-reducción, temperatura, humedad, propiedades superficiales de los sólidos abundancia y especiación de sustancias complejantes, aniones y cationes, materia orgánica (presencia o ausencia) y actividad biológica (Razo, 2006).

1.1.3 Procesos involucrados en la disponibilidad de los EPT

Los EPT al pasar de compuestos estables a moléculas inestables como sales solubles y entrar en contacto con el suelo, pueden sufrir ciertas variaciones que tendrán efecto sobre la cantidad que pueda ser absorbida por los organismos de la rizósfera y las plantas. Este tipo de reacciones pueden influir en los mecanismos de traslocación y movimiento de los elementos tóxicos en las estructuras aéreas de las plantas o desde su retención en la raíz.

Los procesos involucrados pueden agruparse en dos categorías en función de la disponibilidad para los organismos y su movilidad en los suelos (Figura 1).

1. Procesos que disminuyen la disponibilidad de los EPT para los organismos y su movilidad en los suelos:
 - Precipitación. Se refiere a la formación de compuestos de menor solubilidad como óxidos, hidróxidos, sulfatos, sulfuros y carbonatos.

- Absorción específica. La formación de enlaces covalentes, propicia la retención de cationes metálicos, debido al intercambio de cationes y aniones en superficies coloidales, grupos funcionales y óxidos que contienen ligandos.
- Co-precipitación. Precipitados embebidos en las estructuras de minerales arcillosos, hidróxidos, óxidos y calcita a partir de la asociación de un compuesto químico.
- Oclusión. Los hidróxidos de calcio y óxidos de manganeso precipitan y retienen los EPT en su estructura.

La disponibilidad de los EPT se afecta principalmente por el cambio en las condiciones específicas del suelo tales como pH y baja capacidad de retención, lo que permite que éstos sean arrastrados por el agua (Carrillo-González, 2005b; Rodríguez-Elizalde, 2006).

2. Procesos que incrementan la disponibilidad y movilidad en la solución del suelo:

- Intercambio de aniones. Algunos EPT se encuentran en forma catiónica y pueden ser retenidos por la superficies de los coloides con carga negativa, manteniéndose la neutralidad de las cargas. Este proceso es importante en la retención de EPT en suelos con reacción ácida.
- Oxidación y reducción. El cambio químico que sufren los EPT al entrar en contacto con el suelo, debido al cambio en el flujo de electrones determina la participación en diferentes procesos y la cantidad que absorben los organismos en la rizósfera y las plantas.

Estos procesos, favorecen la mineralización de materiales orgánicos que pudieron haber sido retenidos de manera temporal por procesos químicos o bioquímicos (Carrillo-González, 2005b; Rodríguez-Elizalde, 2006).

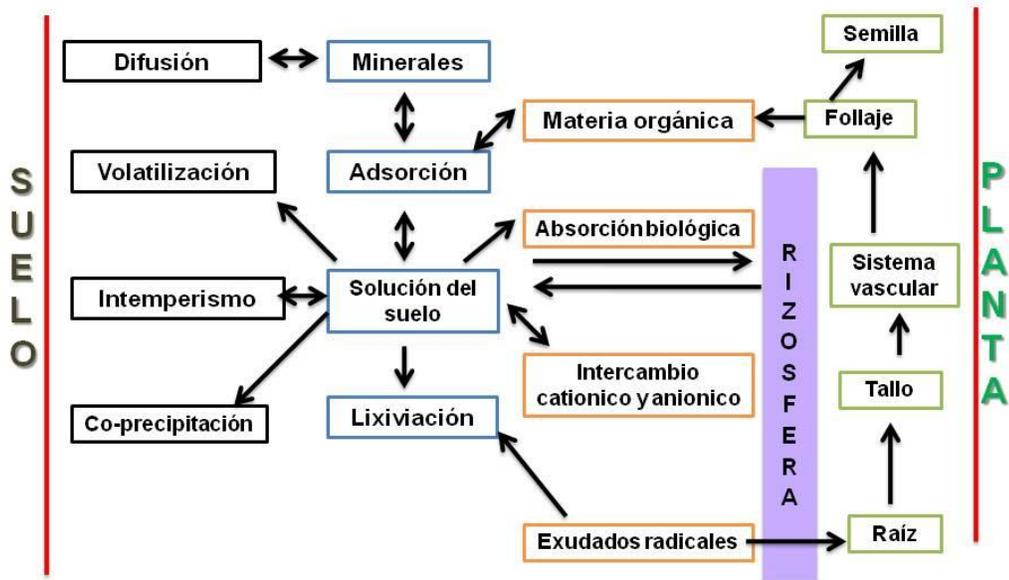


Figura 1. Procesos que controlan la disponibilidad de los EPT en el suelo y su transferencia a las plantas (Modificado de Carrillo-González, 2005b)

1.1.4 Generalidades de algunos elementos de interés en el presente estudio: arsénico, cadmio, hierro, plomo y zinc

El As se encuentra en la corteza terrestre en minerales como la arsenopirita, realgar, oropimente o arsenolita; se encuentra en solución acuosa comúnmente en estados oxidados como arsenito (As(III)) y arseniato (AsO_4^{3-}); y puede liberarse de fases primarias durante el procesamiento de minerales que contienen Cu, Pb, Zn, Ag y Au. El As se emplea en la industria eléctrica como semiconductor y en la química como catalizador, también como conservador de madera, como insecticida, herbicida y otros venenos. Este elemento puede liberarse al ambiente a través de actividades naturales y antropogénicas tales como residuos generados de actividades minero-metalúrgicas, cenizas de combustión y algunos productos agroquímicos. Lo anterior ha provocado

elevadas concentraciones de As en el ambiente, que añadido a su toxicidad ha despertado el interés en el desarrollo de tecnologías de fitoextracción en suelos contaminados (Volke *et al.*, 2005; Silva *et al.*, 2007; Gunes *et al.*, 2009). El As puede ser absorbido por las plantas a través del mismo sistema radical de captación del fósforo, debido principalmente a que ambos elementos exhiben propiedades químicas similares en el suelo y la competencia por los mismos sitios de sorción en las partículas del suelo, resultando en una reducción de su absorción en el suelo y un aumento en las concentraciones en la solución (Sadeque *et al.*, 2006; Silva *et al.*, 2007; Gunes *et al.*, 2009). Las plantas pueden absorber el As, como arseniato (AsO_4)³⁻, el cual causa inhibición del crecimiento, desórdenes fisiológicos y eventualmente la muerte. Sin embargo, las respuestas bioquímicas en las plantas provocadas por la acumulación de As no se han estudiado suficientemente; a pesar de ello se ha demostrado que el arseniato citoplasmático pudiera interferir en algunos procesos metabólicos que involucran al fosfato, como la fosforilación oxidativa y la fotofosforilación. La primera tiene lugar en las mitocondrias y produce la reducción de O_2 a H_2O , por los electrones cedidos por nicotinamida adenina dinucleótido (NADH) y flavina adenina dinucleótido en su forma reducida (FADH_2); y la segunda, es aquella mediante la cual los organismos fotoergónicos o fotosintéticos captan la energía de la luz solar, oxidando H_2O a O_2 con nicotinamida adenina dinucleótido fosfato en su forma reducida (NADPH^+); reaccionando con algunos grupos sulfhidrilo (-SH) de enzimas y proteínas proporcionándole el potencial de ser tóxico para las plantas (Nelson y Cox, 2006; Gunes *et al.*, 2009).

Con respecto al Cd, este es un elemento no esencial y poco abundante en la corteza terrestre, se encuentra de forma natural como sulfuro de cadmio (CdS) o carbonato de cadmio (CdCO_3) o asociado a minerales que contienen Zn, Cu, Pb, carbón y petróleo crudo. Se utiliza principalmente como capa protectora de otros metales, en la fabricación de baterías de Ni-Cd y como estabilizador de policloruro de vinilo (PVC). Puede incorporarse al ambiente por fuentes

antropogénicas como la minería, la metalurgia, por la combustión de carbón y del petróleo crudo, por la mala disposición de residuos sólidos peligrosos, la quema indebida de plásticos. El cadmio suele depositarse y adherirse a la materia orgánica del suelo y transferirse a la cadena trófica (Volke *et al.*, 2005; Rodríguez-Serrano, *et al.*, 2008). Puede ser peligroso para muchas especies de plantas y animales que lo absorben eficazmente, concentrándolo en sus tejidos (Navarro *et al.*, 2007). Químicamente existe una analogía entre el Cd y el Zn, lo que le permite que pueda ser fácilmente absorbido por las plantas a través de la unión a la pared celular en las raíces, pasando al xilema a través del apoplasto y/o simplasto. Aun y cuando es limitado su transporte suele acumularse en hojas y brotes (Balsberg, 1989; Rodríguez-Serrano *et al.*, 2006). Ambos elementos Cd y Zn en solución son cationes divalentes y pueden presentarse de forma libre en solución, pudiendo sustituir sitios de magnesio (Mg^{2+}) y/o calcio (Ca^{2+}). La mayoría de las plantas presentan alta sensibilidad a bajas concentraciones de cadmio, manifestándose principalmente en inhibir el crecimiento de la raíz; sin embargo las elevadas concentraciones resultan en la reducción de pelos radicales, desintegración de la rizodermis y capas externas de las células corticales, inhibición o reducción del crecimiento de la parte aérea, daño de la membrana, inducción de estrés oxidativo, inducción de senescencia prematura de las hojas, alteración en la absorción y distribución de macro y micronutrientes, reducción en la absorción de agua, reducción en la absorción y transporte de nitratos de la raíz a los tallos, asimismo inhibe la actividad de la enzima nitrato reductasa en tallos; también provoca daños en el metabolismo de la planta manifestándose principalmente en el proceso fotosintético, interfiriendo en la biosíntesis de clorofila, daños en los cloroplastos, reducción en las tasas de respiración y fotosíntesis, apertura estomática, clorosis causada por una deficiencia en hierro, debido principalmente a la competencia entre Cd y Fe por los sitios de absorción que se encuentran en la membrana plasmática; fosfatos o reducción en el transporte de Mn, estimulación del metabolismo secundario, lignificación y finalmente muerte celular (Balsberg; 1998; Di Cagno *et*

al., 1999; Di Cagno *et al.*, 2001; Pietrini *et al.*, 2003; Almeida, *et al.*, 2007; Rodríguez-Serrano *et al.*, 2008; Luković *et al.*, 2012). La alta toxicidad del cadmio se debe principalmente a la afinidad de este elemento por los grupos sulfidrilo y grupos fosfato de varios compuestos que intervienen en el metabolismo de la planta (Balsberg, 1989). Las diferentes especies de plantas muestran capacidad variable para acumular cadmio, comparándola con la concentración que se encuentra en los sustratos donde crecen. Algunos ejemplos conocidos son *Thlaspi caerulescens*, puede acumular hasta el 1% de su peso seco, pero esta tolerancia es limitada a un número de especies y géneros (Pietrini *et al.*, 2003; Almeida *et al.*, 2007).

Con respecto al hierro (Fe) se puede mencionar que, después del silicio y el aluminio, es el elemento más abundante en la corteza terrestre; proviene del proceso de meteorización de varios tipos de rocas ígneas, sedimentarias y metamórficas; los minerales más importantes son los óxidos como la hematita (Fe_2O_3) y magnetita (Fe_3O_4); representando a los carbonatos la siderita (FeCO_3) y sulfuros como la pirita (S_2Fe); también se puede encontrar como hidróxidos, fosfatos y silicatos; cada uno de los compuestos que se encuentran en el suelo presenta una reacción diferente que van desde formas más estables por efecto de la cristalización, difícilmente solubles, hasta los óxidos férricos amorfos, capaces de alcanzar características coloidales como resultado de la disolución del Fe^{2+} o Fe^{3+} (Navarro y Navarro, 2003). El hierro, puede ser absorbido por la planta mediante su sistema radical como Fe^{2+} o como quelatos de hierro. Debido principalmente a su elevada solubilidad, el Fe^{3+} es de menor importancia debido a la baja solubilidad de compuestos férricos en los suelos. Aún y cuando el hierro es un elemento esencial en muchos procesos vitales para la planta, formando parte de diversos sistemas enzimáticos, y de transferencias de electrones, y como componente metálico específico de las enzimas o bien como un cofactor metálico necesario para la actividad específica de dichas enzimas; un exceso de este elemento en los tejidos vegetales puede inducir trastornos metabólicos, debido principalmente a su participación en la reacciones de Fenton,

produciendo niveles tóxicos de radicales hidroxilo ($\bullet\text{OH}$) y otras especies reactivas del oxígeno (H_2O_2 ; O_2^-). Estos compuestos tienden a reaccionar con los ácidos poliinsaturados, proteínas y ácidos nucleicos, provocando la destrucción de numerosas estructuras endocelulares (Navarro y Navarro, 2003, De Dorlodot *et al.*, 2005; Azcón-Bieto y Talón, 2008). Asimismo, puede observarse disminución en el tamaño de tallos y raíces, y con ello el retraso del crecimiento, cambios morfológicos en las raíces adventicias y modificación de la coloración de tallos y hojas viejas (Rodríguez-Elizalde, 2006). Algunas estrategias que pueden adoptar las plantas superiores para combatir los altos niveles de hierro soluble en el medio ambiente, consiste en la liberación de oxígeno en la rizósfera provocando la oxidación del Fe^{2+} a Fe^{3+} y la precipitación de los óxidos férricos a sus hidróxidos en la superficie de la raíz; así como la liberación de ferretina; proteína involucrada en el control de la homeostasis de hierro celular; la síntesis de eliminadores de radicales libres o la activación de enzimas antioxidantes (De Dorlodot *et al.*, 2005).

En lo que se refiere al plomo, este se presenta mineralógicamente como galena (PbS), anglesita (PbSO_4) y cerusita (PbCO_3); su uso más común está en la fabricación de acumuladores, pinturas, cerámicas, forros para cables, elementos de construcción, vidrios especiales, pigmentos, soldaduras y municiones (Volke *et al.*, 2005). Es un contaminante ambiental altamente tóxico derivado de actividades antropogénicas como residuos de minería, residuos de fundición, de refinación de metales, uso en algunas gasolinas y otros derivados del petróleo, así como en diferentes industrias que lo emplean como materia prima (Huang y Cunningham, 1996; Díaz-Aguilar *et al.*, 2001; Sharma y Shanker, 2005; Rodríguez *et al.*, 2006). Se considera que el Pb es un elemento no esencial para las plantas, sin embargo, puede entrar a ellas a través del sistema radicular y acumularse en diversos órganos y tejidos; comparado con Cd, la fitotoxicidad del Pb es relativamente baja, debido principalmente a su limitada disponibilidad y elevada retención en el suelo

(Balsberg, 1989; Seregin *et al.*, 2004). La absorción de Pb por las plantas está regulada por el tamaño de partículas del suelo, el pH, la capacidad edáfica de intercambio catiónico, por los exudados de la raíz, presencia de micorrizas y otros factores fisicoquímicos. Frecuentemente el Pb, al igual que otros elementos tales como el Cd, Zn y Hg, tiende acumularse en las raíces por su unión a los sitios de intercambio iónico, así como a los enlaces covalentes que puede formar con las superficies y paredes de las raíces o bien por su precipitación extracelular en forma de hidróxidos y/o carbonatos (Wierzbicka, 1987; Díaz-Aguilar *et al.*, 2001; Sharma y Shanker, 2005; Almeida *et al.*, 2007). Una vez absorbido el Pb, aun en pequeñas cantidades, puede producir una serie de efectos adversos sobre los procesos fisiológicos de las plantas, manifestándose principalmente en la inhibición de la actividad enzimática, perturbaciones en la nutrición mineral, desequilibrio en el balance hídrico, cambio del estado hormonal y alteración de la permeabilidad de la membrana (Balsberg, 1989; Díaz-Aguilar *et al.*, 2001; Seregin *et al.*, 2004; Almeida *et al.*, 2007). Sus efectos dependen de la concentración, pH y especie de la planta. Las altas concentraciones de Pb pueden afectar la germinación de semillas, el crecimiento en longitud de raíces y brotes; su retención en las raíces impide su traslocación a la parte aérea, por lo que su sistema radicular ennegrece, se retrasa el crecimiento de plántulas y cambios en los patrones de ramificación, clorosis, manchas y lesiones necróticas y senescencia prematura de las hojas (Balsberg, 1989; Seregin *et al.*, 2004; Sharma y Shanker *et al.*, 2005; Almeida *et al.*, 2007). Durante el proceso fotosintético puede intervenir en reacciones que involucren la transferencia de protones e inhibe la actividad de las enzimas durante el ciclo de Calvin; reduce la conductancia estomática así como el tamaño de estomas e incrementa la absorción de ciertos macronutrientes incluidos el Ca, Mg y P (Balsberg, 1989; Sharma y Shanker, 2005; Almeida *et al.*, 2007).

Con respecto al zinc (Zn), se puede mencionar que es uno de los elementos más comunes en la litosfera con una concentración que va desde las 40 hasta los 80 mg kg⁻¹. No se encuentra en

forma elemental en la naturaleza, si no que proviene de minerales tales como la willemita (SiO_4Zn_2); esfalerita (ZnS) asociada a la galena (PbS); óxidos de zinc (ZnO) y smitsonita (ZnCO_3). Se emplea en la industria como cubierta anticorrosiva para hierro y acero, además de emplearse en la fabricación de compartimentos de baterías secas y fabricación de latón y bronce. Otra aplicación es como zincita (ZnO), ampliamente usado en pinturas, cosméticos, tintas, en la industria farmacéutica y electrónica (Navarro y Navarro, 2003; Volke *et al.*, 2005). En cantidades traza, se considera al Zn como un elemento esencial para las plantas y los organismos y puede ser absorbido por la planta a través del sistema radical o foliar como Zn^{2+} o como quelato, pero es tóxico cuando está presente en niveles excesivos, debido principalmente a la contaminación de suelos por actividades como la minería y de fundición, combustión de combustibles fósiles, residuos de industrias del hierro y acero, efluentes industriales y domésticos; así como en suelos agrícolas tratados con lodos depurados, o con restos de productos agroquímicos y en desechos de zonas urbanas (Di Baccio *et al.*, 2010; Maruthi *et al.*, 2007; Broadley *et al.*, 2007; Navarro y Navarro, 2003). Comparado con otros metales como el Cu, el Zn es menos tóxico. Está involucrado en diversos procesos metabólicos activando enzimas o incorporándose en el sistema de transporte de electrones de algunas metaloenzimas, asimismo participa en el metabolismo de los lípidos, en la síntesis de proteínas y ácidos nucleicos formando complejos con el ácido desoxirribonucleico (ADN) y el ácido ribonucleico (ARN) (Balsberg, 1989). Las concentraciones típicas de Zn en especies vegetales se encuentran entre 15 a 20 mg kg^{-1} peso seco en hojas (Broadley *et al.*, 2007). Como referencia, las concentraciones bioacumuladas de Zn en especies que han sido clasificadas como hiperacumuladoras se reportan en el umbral de entre 20 y 400 mg kg^{-1} peso seco (Ent *et al.*, 2012). Sin embargo, al igual que el Cd cuando se encuentra presente en niveles excesivos (entre 100 - 300 mg kg^{-1}), puede causar reducción y modificaciones en el crecimiento vegetal; clorosis inducida por una deficiencia de Fe; esta última como efecto antagónico a la acumulación de zinc; al ser un agente catalítico en las reacciones oxidativas,

paraliza la reducción del Fe y limita su transporte hacia el interior de la planta. Otros síntomas de toxicidad del Zn incluyen, la degradación del cloroplasto; interferencia en la absorción de fósforo, magnesio y manganeso; deficiencia en la asimilación de carbono, debido principalmente a los cambios cuantitativos y estructurales de los estomas; contenido relativo de agua; ruptura, colapso y en algunas ocasiones muerte celular (Navarro y Navarro, 2003; Broadley *et al.*, 2007; Maruthi *et al.*, 2007; Di Baccio *et al.*, 2010).

1.2 ANATOMÍA Y FISIOLÓGÍA VEGETAL

1.2.1 Raíz

La raíz es un órgano conformado por varias regiones que contribuyen a la absorción y transporte de agua y nutrientes disueltos, así como al transporte y asimilación de compuestos que la misma planta sintetiza para su crecimiento a través de los pelos radicales. Otras funciones no menos importantes son el anclaje, por medio de resistencia a la tensión y doblez y también el almacén de alimentos (González *et al.*, 2010; Schreiber y Franke, 2011; Stoláriková *et al.*, 2012).

Por lo general una raíz tiene forma cilíndrica, tiende a adelgazarse gradualmente desde su base hacia el ápice. En el extremo apical de la raíz, donde crece en longitud, es donde se lleva a cabo la absorción de agua y donde se forman los tejidos primarios. Las partes externas de una raíz son (Figura 2):

- Células de la cofia, caliptra o piloriza
- Ápice de crecimiento
- Zona de alargamiento
- Zona pilífera o de absorción
- Zona de tejidos maduros o zona desnuda

- Cuello o nudo vital (González *et al.*, 2010).

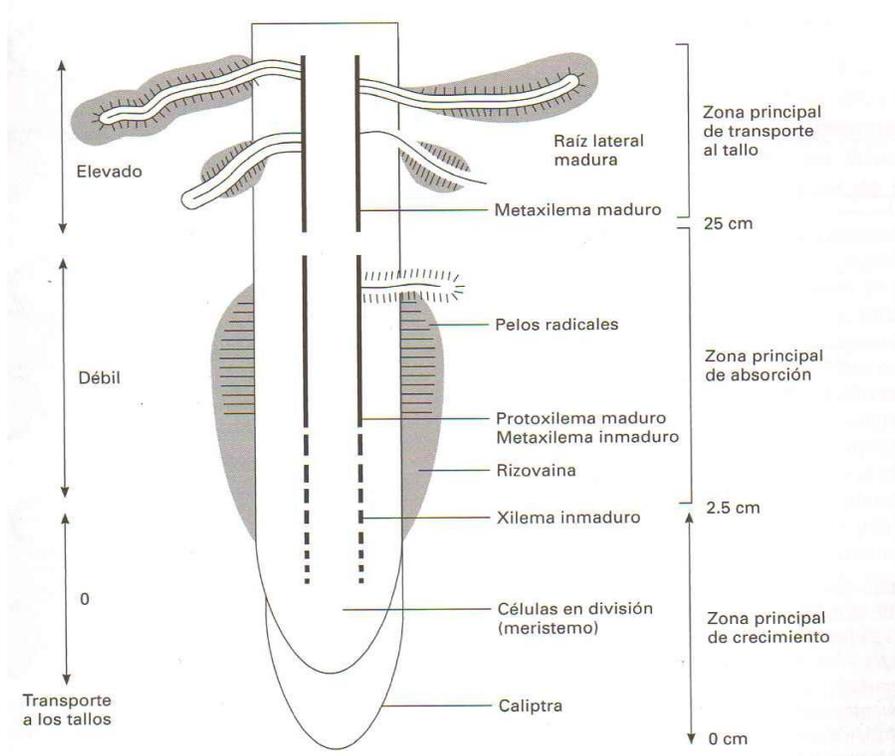


Figura 2. Estructura externa de la raíz principal de maíz en sección longitudinal; además de las zonas de desarrollo y su relación con la absorción y transporte de agua al tallo (Azcón-Bieto y Talón, 2008)

Para el estudio de la estructura interna de la raíz, se puede dividir su desarrollo en crecimiento primario y crecimiento secundario. Durante el crecimiento primario, la raíz crece en longitud debido principalmente a la actividad del meristemo apical, que con la protección de las células de la cofia forma una estructura primaria denominada epidermis o rizodermis, uniseriada, que carece de estomas y en la zona de maduración presenta pelos radicales. Los tejidos que se forman durante el crecimiento primario son: epidermis, corteza (exodermis, parénquima de la corteza primaria), endodermis y el cilindro central (periciclo y tejido vascular). Un rasgo que distingue el crecimiento primario en las raíces es la formación de la endodermis, se caracteriza por ser la capa de células más interna de la corteza, se forma por una sola capa de células compactas con paredes anticlinales parcialmente impregnadas con suberina denominada banda de Caspary. Su función

principal es controlar los solutos que se incorporan o liberan hacia el xilema. En el centro de la raíz se forman haces vasculares radiales, es decir xilema y floema primarios separados por una o más capas de células parenquemáticas; tejidos especializados en el transporte y conducción de agua, nutrientes esenciales y moléculas de pequeño tamaño. La función principal del xilema es conducir abundantes cantidades de agua y algunos compuestos desde la raíz a las hojas. En cambio, el floema conduce principalmente sustancias producidas en los lugares de síntesis desde las hojas y hacia puntos de almacenamientos. La maduración de ambos tejidos es de la periferia hacia el centro (en sentido centripeto), cualquiera de ambos tejidos, que se localicen en la periferia del cilindro central se denominan protoxilema y protofloema, y en el centro metaxilema y metafloema (Azcón-Bieto y Talón, 2008; González *et al.*, 2010; Molist *et al.*, 2011). El crecimiento secundario se presenta en la raíz principal y lateral de las plantas con crecimiento en grosor, (dicotiledóneas leñosas o perenes y gimnospermas). Se inicia con la formación de tejidos vasculares secundarios en sentidos opuestos, originando floema secundario hacia el exterior y xilema secundario hacia el interior, de tal manera que se produce una mayor cantidad de xilema en las entrantes del cilindro que en las salientes, de modo que el xilema y floema secundarios adoptan la forma de cilindros colocados por dentro y por fuera del cambium. De este modo la raíz secundaria adopta una estructura similar a la de un tallo (Figura 3) (González *et al.*, 2010; Molist *et al.*, 2011).

Dado que el sistema radical está en contacto directo con el suelo, es capaz de excluir y/o hacer frente a sustancias potencialmente dañinas. Por lo tanto, las raíces se caracterizan por tener una selectividad pronunciada; dicha selectividad establece transportadores de membrana que permiten que los iones que pasan por varias capas de la interfaz suelo-raíz formada por la rizodermis (raíz-epidermis) y las barreras apoplásticas se acumulen en el simplasto dificultando la trayectoria de compuestos no deseados hacia el cilindro central de la raíz (Schreiber y Franke, 2011; Stoláriková *et al.*, 2012).

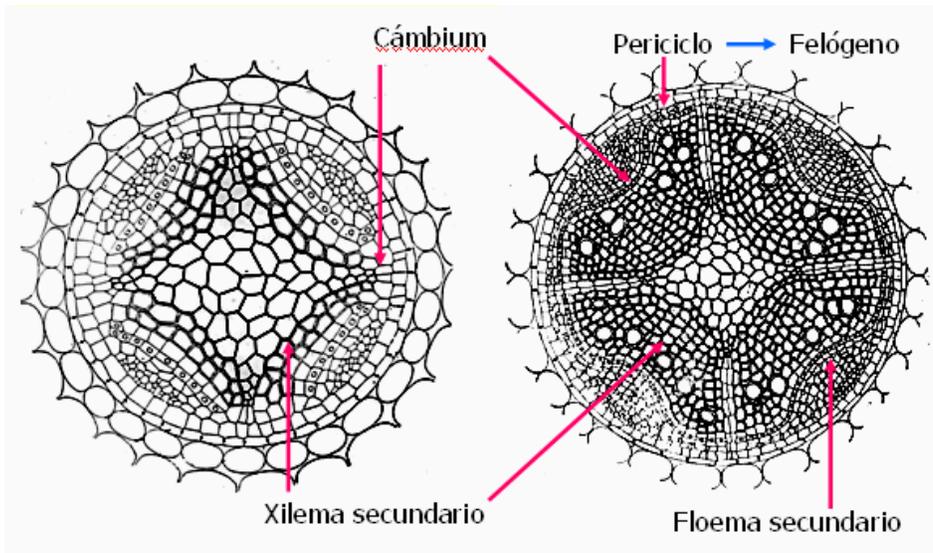


Figura 3. Estructura secundaria de raíz (Esau, 1977)

1.2.2 Tallo

Se considera el órgano aéreo de la planta capaz de soportar al resto de los órganos laterales, como son las hojas y las flores o inflorescencias, asimismo los órganos derivados de ellas como son los frutos y semillas. Dado que en las plantas terrestres las ramas, hojas, flores y frutos generalmente no se encuentran en contacto con el agua y sales minerales del suelo, la función principal de este órgano consiste en el transporte y conducción de éstos hasta los órganos aéreos, almacén de agua y compuestos orgánicos. Los tallos en algunas ocasiones participan en la reproducción vegetativa y todos los tallos verdes contribuyen en la fotosíntesis a través de la producción de compuestos orgánicos (González *et al.*, 2010; Molist *et al.*, 2011).

Externamente un tallo, es un conjunto de nudos, entrenudos y yemas axilares. Los nudos son los sitios con las yemas para desarrollar hojas, ramas, flores y yemas axilares, estas últimas protegidas por pequeñas hojas rudimentarias o primodios foliares. Durante el crecimiento del tallo las yemas, en el ápice vegetativo, se llevan a cabo una gran actividad meristemática; debido principalmente a la constante división celular. Por lo tanto, las funciones que desempeña el ápice

vegetativo son el crecimiento en superficie y escaso en longitud de la planta (Figura 4) (González *et al.*, 2010).

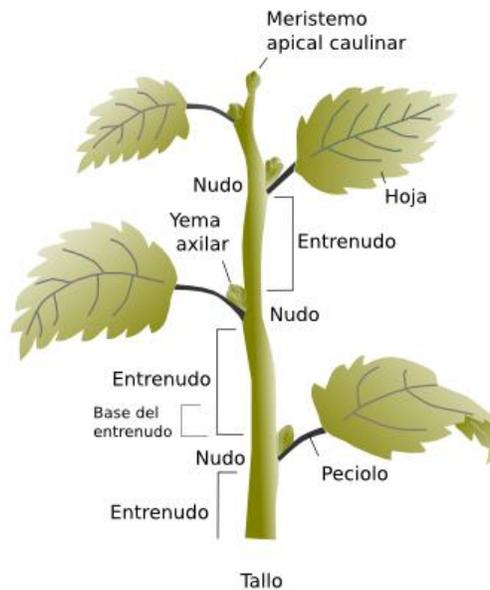


Figura 4. Estructura externa de un tallo (Molist *et al.*, 2011)

Al igual que en la raíz, en el tallo para su estudio se divide en crecimiento primario y crecimiento secundario. El crecimiento primario se caracteriza principalmente por que el tallo crece en longitud formando órganos laterales como las hojas, flores y frutos, en este tipo de crecimiento intervienen tanto los meristemos apicales como intercalares (Molist *et al.*, 2011). En un tallo que se encuentra en crecimiento primario se observan los siguientes tejidos: epidermis, corteza (parénquima, colénquima, esclerénquima, estructuras secretoras), cilindro central (médula, áreas interfasciculares, tejido vascular primario). Estos tejidos se localizan aproximadamente debajo de unos 10 mm del ápice del tallo. En plantas monocotiledóneas pueden persistir durante todo el ciclo de vida de la planta en dicotiledóneas herbáceas quedan vestigios sólo en algunas partes cercanas al ápice de las ramas, puesto que son sustituidos por la formación de algunos tejidos secundarios (González *et al.*, 2010). El crecimiento en grosor es denominado crecimiento secundario y resulta de

la actividad del cámbium vascular, puede observarse en la mayoría de las dicotiledóneas perennes y en muy pocas monocotiledóneas. En la anatomía o estructura interna del tallo se considera: el crecimiento secundario o en diámetro, los elementos y la anatomía del xilema secundario o leño, las diferencias entre leño de angiospermas y gimnospermas, la anatomía del floema secundario y el crecimiento secundario en monocotiledóneas. Para pasar del crecimiento primario al secundario debe formarse el cámbium vascular a partir del procámbium (meristemo primario), las células que lo conforman se dividen y diferencian, las células derivadas inmediatas originarán el xilema secundario y las células derivadas inmediatas externas se transformarán en el floema secundario, de modo que los tejidos vasculares se alejarán uno de otro y sobresaldrán los cilindros del tejido vascular secundario formando pequeños grupos. Los elementos más antiguos originados por el cámbium vascular son los más alejados mientras que los recién formados están en contacto con el cámbium. En los tallos leñosos de las plantas dicotiledóneas, el término leñoso hace referencia al xilema secundario. Los elementos que constituyen al xilema secundario son: elementos traqueales (traqueidas, miembros de vaso), fibras (libriformes, fibrotraqueidas, septadas) y parénquima. Se considera el tejido que conforma la mayor parte de la madera de los troncos y muestra anillos de crecimiento anuales. Los elementos que componen al floema secundario son elementos de los tubos cribosos, células acompañantes, fibras, parénquima; las coníferas o gimnospermas poseen células cribosas y albuminosas, parénquima y fibras (Figura 5). Cada año la cantidad de floema es mucho menor que la del xilema. (González *et al.*, 2010; Molist *et al.*, 2011).

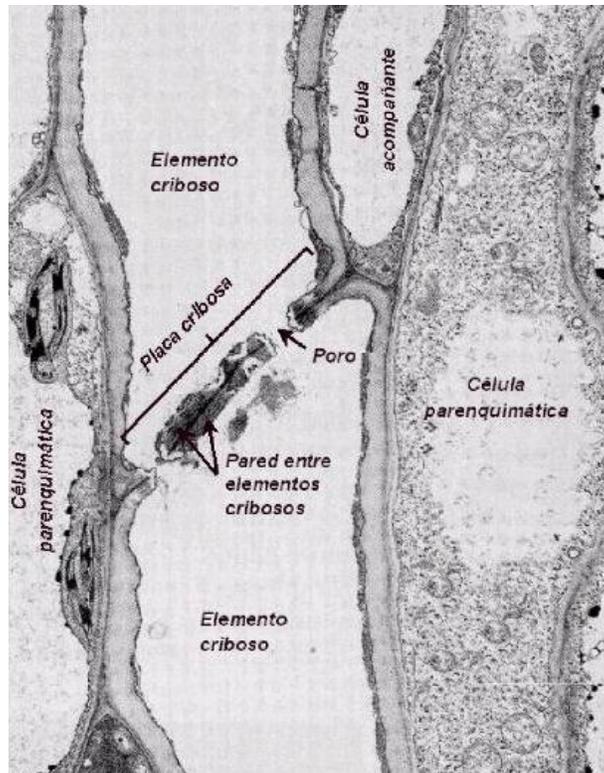


Figura 5. Estructura interna de un tallo (Modificado de web¹, 2003)

1.2.3 Hoja

Es el órgano vegetativo que realiza funciones para la planta, como la fotosíntesis, controla la transpiración, obtiene el oxígeno necesario para la respiración, puede además considerarse un órgano de almacén, de protección y multiplicación vegetativa (González *et al.*, 2010; Molist *et al.*, 2011).

Una hoja típica se conforma por tres partes: base, pecíolo y lámina foliar o limbo. La base de la hoja corresponde a la extensión basal de la hoja que está en contacto con el nudo del tallo. El pecíolo es un eje más o menos largo que une el limbo al nudo del tallo. En su interior lleva los haces vasculares procedentes del tallo, coadyuva con la orientación apropiada que la lámina foliar necesita para aprovechar la luz, sin embargo existen hojas denominadas sésiles, es decir, que carecen de

pecíolo por lo que se unen directamente al tallo. La parte expuesta de la hoja recibe el nombre de limbo, entre sus funciones se encuentra realizar la fotosíntesis y regular la transpiración (Figura 6). Se distinguen dos caras: la superior denominada cara adaxial o haz y la inferior llamada cara abaxial o envés, su delgadez le facilita la absorción de dióxido de carbono necesario para llevar a cabo la fotosíntesis (González *et al.*, 2010; Molist *et al.*, 2011).

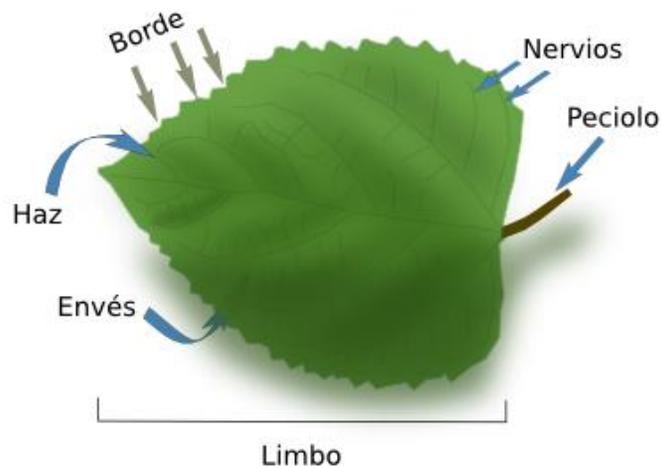


Figura 6. Estructura externa de una hoja (Molist *et al.*, 2011)

En lo que se refiere a su estructura interna, una hoja posee tres sistemas de tejidos: epidermis, tejido fundamental (mesófilo) y tejido vascular. La anatomía o estructura interna varía y depende del grupo taxonómico al que pertenezca la planta. La función principal de la epidermis es retardar la transpiración, se encuentra recubriendo tanto el haz como el envés de la hoja; se caracteriza principalmente por tener células epidérmicas, estomas y tricomas, en algunas monocotiledóneas células buliformes; además células de sílice y suber en gramíneas. Debajo de la epidermis se encuentra el tejido de la lámina foliar denominado mesófilo o parénquima clorofílico. Se caracteriza por tener células alargadas y dispuestas de manera paralela a la superficie epidérmica a lo que comúnmente se denomina parénquima en empalizada, característico de las hojas de las dicotiledóneas que crecen en zonas templadas. El envés de las hojas se caracteriza por tener un

parénquima lagunar o esponjoso, con células más redondeadas y con espacios intercelulares, sus células presentan menor número de cloroplastos y por lo tanto son menos eficientes para el proceso fotosintético, sin embargo mantiene su función para intercambiar gases con el medio, puesto que los espacios intercelulares son lo suficientemente grandes. En lo que se refiere al tejido vascular, los haces vasculares o comúnmente conocidos como nervadura constituyen una red de diferentes tamaños. Además de transportar a la planta sustancias elaboradas en el mesófilo producto de la fotosíntesis y de transportar desde el tallo hasta la hoja el agua y las sales minerales necesarias, actúan como soporte a la hoja (Figura 7) (González *et al.*, 2010; Molist *et al.*, 2011).

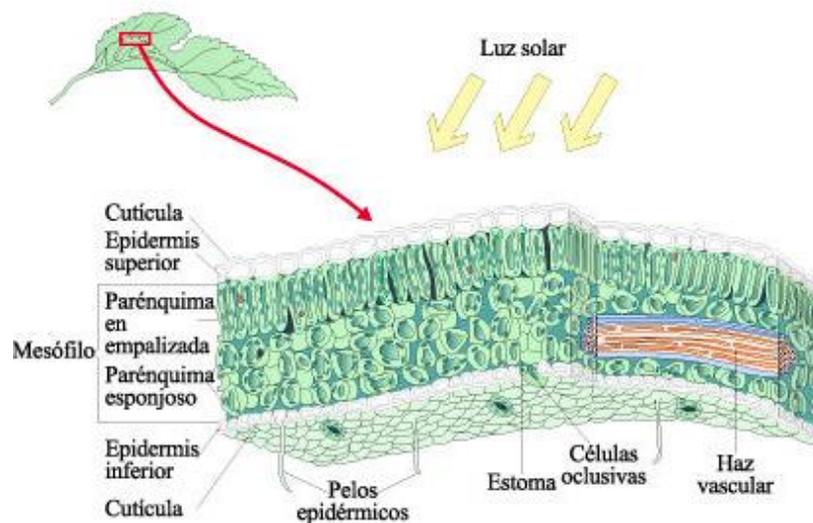


Figura 7. Estructura interna de una hoja (Schnek y Flores, 2008)

1.2.4 Fotosíntesis

A través de un proceso fisiológico único y complejo denominado fotosíntesis, los organismos como los vegetales pueden absorber y utilizar la energía luminosa para producir biomasa vegetal a los ecosistemas terrestres (cultivos agrícolas, bosques, sabanas y matorrales) y acuáticos (Azcón-Bieto y Talón, 2008). La fotosíntesis puede realizarse en cualquier parte de la planta con clorofila,

siendo las hojas el órgano con mayor número de cloroplastos y el más efectivo para llevar a cabo esta función. La fotosíntesis puede definirse como el proceso de la elaboración de carbohidratos utilizando como fuente de energía y materia prima luz, agua; y dióxido de carbono (González *et al.*, 2010).

En este proceso se pueden distinguir dos fases: absorción y conversión de energía “Reacción lumínica” y asimilación biológica de los elementos de la materia orgánica “Reacción oscura”.

La absorción y conversión de energía “Reacción lumínica”, inicia con la absorción de luz por complejos pigmento-proteína denominados antenas o cosechadores de luz (LHC, por sus siglas, Light Harvesting Complexes) (Figura 8), para seguir con la canalización de la energía hacia los centros de reacción que se encuentran en los fotosistemas, donde la energía es transformada en una corriente de electrones y protones. Se producen dos biomoléculas estables nicotinamida adenina dinucleótido fosfato (NADPH⁺ en su forma reducida) y adenosin trifosfato (ATP); el ATP y NADPH⁺ formados se aprovechan para la asimilación del carbono (Site *et al.*, 2004; Azcón-Bieto y Talón, 2008).

En la asimilación biológica de los elementos de la materia orgánica, “Reacción oscura”, se produce una serie de reacciones de asimilación de carbono, hidrógeno, oxígeno nitrógeno y azufre. Posterior a la generación de ATP y NADH en la reacción lumínica, estos productos se emplean en la asimilación de carbono y reducción del CO₂, para formar triosas fosfato (C3) y otros compuestos más complejos como la glucosa, sacarosa y el almidón (Nelson y Cox, 2006; Azcón-Bieto y Talón, 2008).

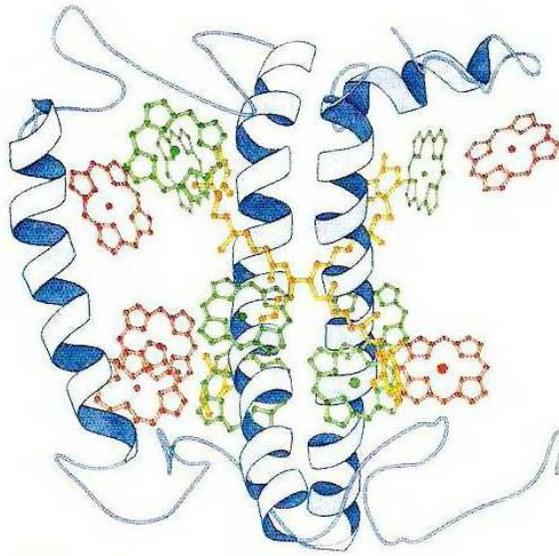


Figura 8. Complejo de captación de luz, LHCII. Unidad funcional (LHC) trímero con 36 moléculas de clorofila y 6 moléculas de luteína, hay tres segmentos α -helicoidales, siete moléculas de clorofila a (verde) cinco moléculas de clorofila b (rojo) y dos moléculas del pigmento luteína (amarillo) (Nelson y Cox, 2006)

El ciclo C_3 , ciclo de reducción fotosintética del carbono o de Calvin-Benson, se lleva a cabo en los cloroplastos de todas las plantas verdes mediante un sistema enzimático diseñado para catalizar la conversión del CO_2 en compuestos orgánicos reducidos o sencillos. Este producto es el precursor de biomoléculas aún más complejas como los glúcidos, polisacáridos y metabolitos secundarios. Su nombre se debe a que se producen dos moléculas de tres carbonos, como el 3-fosfoglicerato ($C_3H_7O_7P$) durante el proceso (Figura 9) (Nelson y Cox, 2006; Andrade *et al.*, 2007).

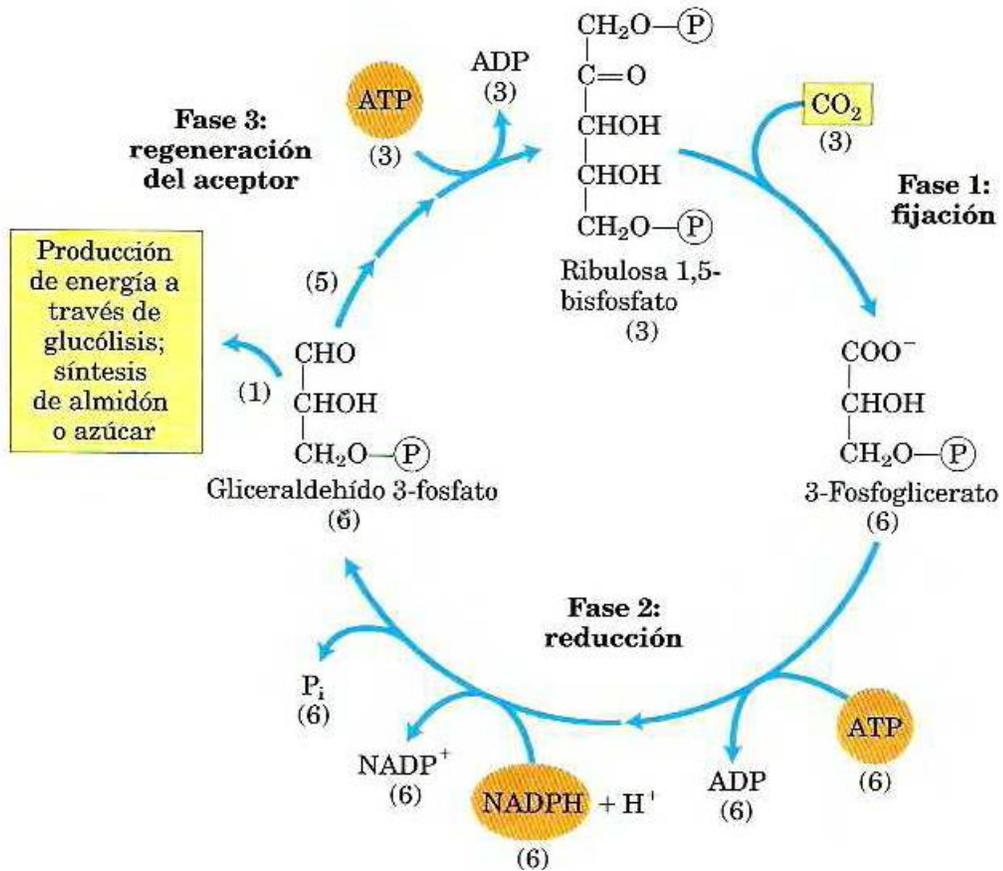


Figura 9. Fases de asimilación de CO_2 en los organismos fotosintéticos. Los números entre paréntesis establecen la relación estequiométrica de los intermediarios clave (Nelson y Cox, 2006).

La intensidad de la fotosíntesis la afectan factores internos en los que destacan la cantidad de clorofila y enzimas que intervienen durante ambas reacciones y algunos factores externos como la temperatura, concentración de CO_2 , tipo o intensidad de la luz y el suministro de agua (González *et al.*, 2010).

1.2.4.1 Aparato fotosintético

Los cloroplastos se encuentran, en las plantas superiores principalmente en las hojas. Las hojas se constituyen por células que en su interior poseen el sistema necesario para la fotosíntesis; a nivel celular este sistema se localiza en unos organelos llamados cloroplastos. Generalmente

existen varios cloroplastos por célula, su número está en función del tipo de célula, así como del estado de desarrollo; frecuentemente son de forma discoidal. Los cloroplastos pueden contener tanto clorofila **a** como clorofila **b** (Nelson y Cox, 2006; Azcón-Bieto y Talón, 2008; González *et al.*, 2010).

En las biomembranas fotosintéticas, los cloroplastos se encuentran limitados en su contacto con el citosol celular, por una doble membrana lipoproteica y contienen una matriz proteica llamada estroma, en la que se encuentran los grana que son estructuras constituidas por una serie de vesículas aplastadas denominadas tilacoides, los cuales se encuentran superpuestos entre sí. Los grana se conectan a través de membranas conocidas como lamelas o láminas intergranales (Figura 10). Existen dos tipos: las lamelas grana se disponen en apilamientos de láminas a modo de disco y las lamelas estromáticas, que se caracterizan por ser más extensas e interconectan con las lamelas grana. Las lamelas grana y estromática dejan un espacio acuoso en su interior denominado lumen, que a su vez se encuentra separado del espacio acuoso interno del cloroplasto llamado estroma, en el que pueden encontrarse granos de almidón, partículas de ARN, partículas fibrilares de ADN y enzimas fijadoras de CO₂ (Azcón-Bieto y Talón, 2008; González *et al.*, 2010).

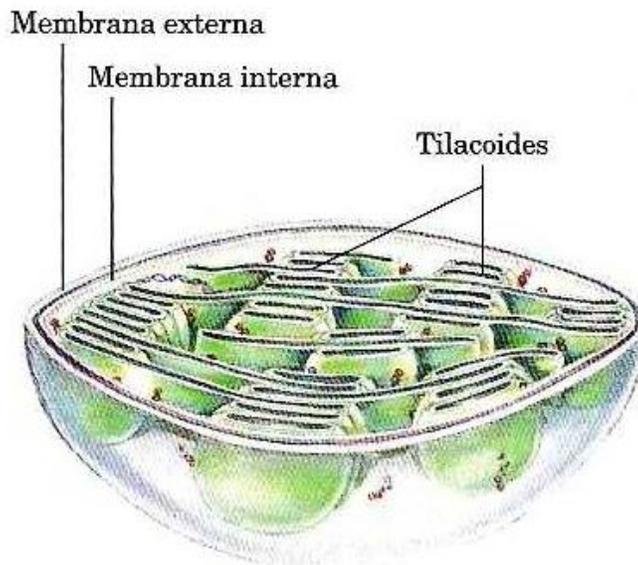


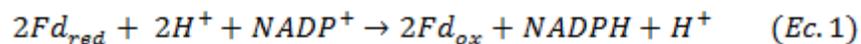
Figura 10. Diagrama esquemático del cloroplasto (Nelson y Cox, 2006)

Durante la primera fase de la fotosíntesis se llevan a cabo una serie de reacciones redox que consisten principalmente en una transferencia de electrones (Figura 11). Por consiguiente se genera un gradiente de concentración de protones, para lograr esta conversión. Los tilacoides poseen complejos proteínicos o macrocomplejos, término que reciben dada su complejidad estructural y funcional, así como por su gran tamaño molecular. Éstos son capaces de llevar a cabo el manejo de electrones y protones por medio de los cofactores con actividad redox y ácido base que se encuentran presentes en cada biomolécula (Azcón-Bieto y Talón, 2008).

El Fotosistema II (PSII), es un complejo que cataliza enzimáticamente la oxidación del agua y la reducción de la plastoquinona. Se encuentra en todos los organismos autótrofos, puede contener cantidades aproximadamente iguales de clorofila a y clorofila b. En él se llevan a cabo dos procesos: el primero consiste en la separación de carga, que resulta de la transformación del flujo fotónico en electrónico, es en esta parte del proceso de la fotosíntesis donde se inicia el transporte electrónico y el segundo consiste en hidrolizar el agua, que libera los electrones y protones necesarios para la liberación de oxígeno. En ambos se aprovecha la luz solar como fuente de

energía, así como la de una atmósfera rica en oxígeno molecular (Nelson y Cox, 2006; Azcón-Bieto y Talón, 2008).

En lo que se refiere al fotosistema I (PSI), su función enzimática consiste principalmente en la transferencia electrónica de los electrones tomados de la proteína plastocianina que se encuentra en el lumen y cediéndolos a la ferredoxina, proteína que se encuentra en el estroma. De acuerdo con la Ec. 1 la plastocianina se caracteriza por ser un agente reductor, que cede un electrón por medio de una cadena de transportadores que finalmente origina NADPH⁺. la filoquinona acepta un electrón y lo cede a una proteína ferrosulfurada “ferredoxina” (Fd), que se caracteriza por ser un transportador electrónico; que transfiere al NADPH⁺ oxidoreductasa sus electrones desde la ferredoxina reducida (Fd_{red}). Los electrones pueden ser transportados por la plastocianina de un fotosistema a otro. Las cianobacterias y las plantas oxidan H₂O con el fin de reemplazar los electrones que se trasladan del PSII al PSI y finalmente al NADP⁺, con lo que se produce el O₂ como subproducto que se desprende a la atmósfera. Cada fotosistema posee antenas periféricas o extrínsecas denominadas LHC I y II, su función es captar, absorber y transmitir eficientemente la luz hacia el centro de reacción (Nelson y Cox, 2006; Azcón-Bieto y Talón, 2008).



La función principal del citocromo b₆f, es conectar los dos fotosistemas. En el PSII se produce plastoquinol (PQH₂) el cual será oxidado en el PSI, reduciéndolo hasta plastocianina (Pc). Para llevar el H₂O hasta la oxidación del NADP⁺ se ven implicadas tres moléculas, la plastoquinona (PQ) se mezcla y se difunde en la fase lipídica de la membrana del tilacoide, ejerce una acción reguladora en el funcionamiento de la cadena de oxidoreducción fotosintética; la plastocianina (Pc) funciona como transportador electrónico tomando un electrón del citocromo f que se reduce y se

oxida en el PSI, la ferredoxina (Fd) tiene la función principal de interconectar el fotosistema I con la enzima final que reduce el NADP^+ a la ferredoxina- NADP^+ reductasa (FNR) (Azcón-Bieto y Talón, 2008).

El ATP sintasa se produce tras el flujo redox fotosintético y es catalizada por el complejo ATP sintasa que utiliza el gradiente de protones que los otros complejos originaron para sintetizar ATP en el lado estromático a partir de ADP y P_i (Azcón-Bieto y Talón, 2008).

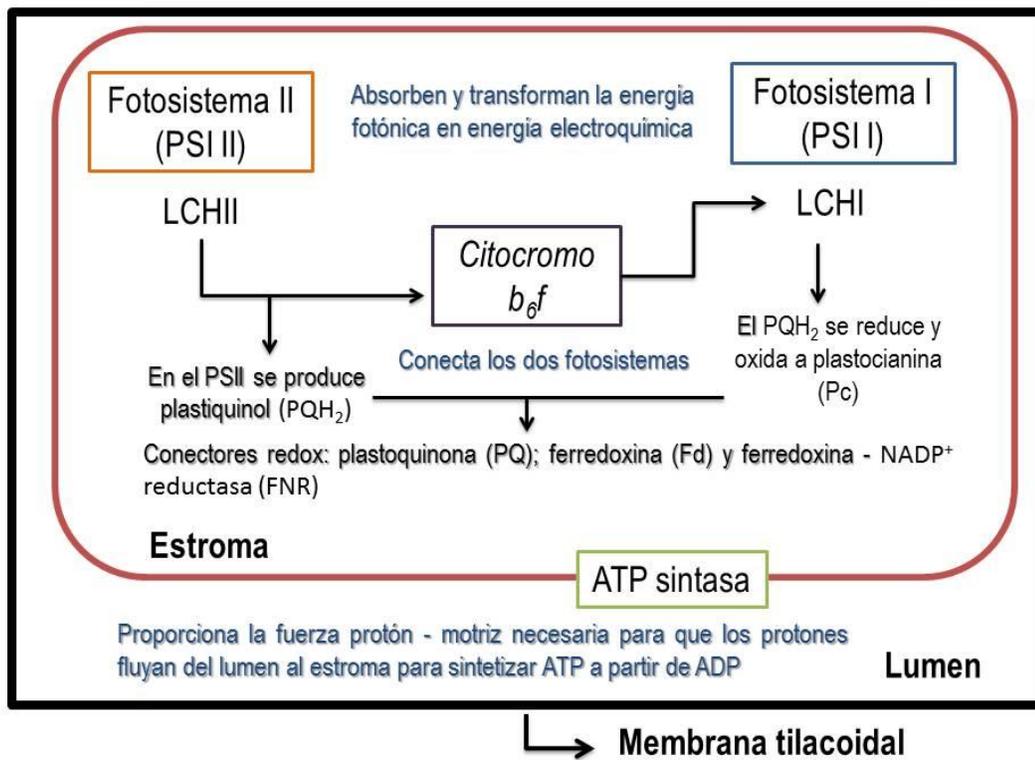


Figura 11. Complejos proteínicos insertados en la membrana tilacoidal (Construido con la información de Nelson y Cox, 2006; Azcón-Bieto y Talón, 2008)

1.2.4.2 Pigmentos fotosintéticos

El proceso fotosintético comienza con la absorción de luz mediante dos tipos de pigmentos clorofílicos y carotenoides, que son moléculas cromóforas sensibles a la radiación luminosa (Site *et al.*, 2004; Azcón-Bieto y Talón, 2008).

La clorofila, interviene directamente en el proceso de absorción y conversión de la energía luminosa, además de formar parte de los centros de reacción y ser parte de los complejos colectores de luz; existen diferentes tipos de clorofila, todas se caracterizan por poseer un anillo tetrapirrólico cíclico, tipo porfirina, con un catión metálico de magnesio ligado en el centro del anillo (Mg^{2+}) (Figura 12). Considerando esta estructura molecular, las clorofilas tienen la capacidad de absorber la radiación luminosa en la zona del azul (400 – 480 nm) y del amarillo a rojo (550 – 700 nm). En los vegetales pueden encontrarse dos tipos: clorofila a y clorofila b, en las plantas superiores y algunos grupos de algas la relación clorofila a : clorofila b, es de aproximadamente 3 : 1 (Site *et al.*, 2004; Azcón-Bieto y Talón, 2008).

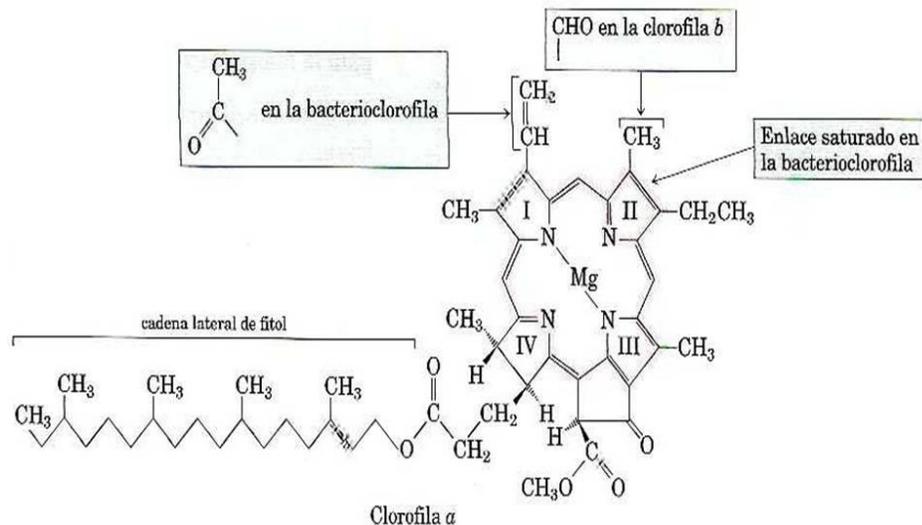


Figura 12. Estructura clorofilas a y b (Nelson y Cox, 2006)

Los carotenoides son pigmentos fotosintéticos accesorios. La absorción de luz se realiza en la zona del azul al verde-azul; su principal función es proteger el aparato fotosintético disipando y extinguiendo la energía. También cumplen con formar parte de las antenas alternativas, absorbiendo

un poco de luz en esta zona del espectro. En los cloroplastos pueden observarse de color amarillo o anaranjado. Se han clasificado en dos grupos: carotenos hidrocarburos puros o bien hidrocarburos sin oxígeno, los principales con; α -caroteno, β -caroteno y las xantofilas, y los que poseen un grupo oxigenado como la luteína, violaxantina, anteraxantina, zeaxantina y neoxantina (Site *et al.*, 2004; Azcón-Bieto y Talón, 2008).

1.3 EFECTOS TÓXICOS DE LOS EPT EN LAS PLANTAS

Metales como el Mn, Fe, Zn o Cu se consideran esenciales para el desarrollo de las plantas, debido a que forman parte de componentes estructurales y catalíticos de proteínas y enzimas. Sin embargo, la actividad industrial y agrícola produce y libera a la atmósfera y suelo, grandes cantidades de metales como el As, Cd, Hg, Ni o Pb (Azcón-Bieto y Talón, 2008).

La mayoría de los EPT se encuentran parcialmente disponibles para las plantas, su absorción radica en el factor de biodisponibilidad. Aunque la solubilidad y disponibilidad para las plantas puede verse afectado por diversos factores como pH, estado de oxidación, contenido de oxígeno, textura del suelo, presencia o ausencia de materia inorgánica y de algunos compuestos orgánicos y la capacidad de intercambio catiónico (Luković *et al.*, 2012; Babula *et al.*, 2008).

La capacidad de los EPT para unirse con moléculas orgánicas es la principal causa de su toxicidad. Su efecto tóxico en los sistemas biológicos depende de las reacciones con los ligandos que se encuentran en abundancia dentro de la célula, formando parte de moléculas aisladas. La gran afinidad de los EPT por los grupos sulfidriilo, radicales amino, fosfatos, carboxilos e hidroxilos, pueden ser perjudiciales para las células. Debido al conjunto de reacciones químicas los EPT pueden pasar del suelo y permanecer en contacto con las raíces de plantas. El problema radica en la semejanza química entre los contaminantes y los elementos traza esenciales que llegan a ser absorbidos causando alteraciones fisiológicas y estructurales, ocasionando eventualmente la muerte

de los organismos (Carrillo-González, 2005b; Navarro *et al.*, 2007). Sin embargo, la toxicidad ocasionada por EPT y algunos metaloides, como el Tl, As, Cr, Sb, Se y Bi están aún bajo investigación (Babula *et al.*, 2008).

Los efectos tóxicos de los EPT, que han sido documentados bajo ciertas condiciones de crecimiento pueden resumirse en:

- Efectos directos e indirectos en la permeabilidad de la membrana plasmática. Manifestándose en la alteración de flujo de iones, liberación de potasio y de algunos solutos en la célula (Hall, 2002).
- Incremento de radicales libres, debido a la aparición de especies reactivas con el oxígeno, producidas por auto-oxidación y otras reacciones específicas, provocando daño celular, principalmente en los lípidos de la membrana (Meharg, 2005; Arora *et al.*, 2002; Gunes *et al.*, 2009).
- Obstrucción de grupos funcionales en las biomoléculas causada por la interacción de los EPT con ácidos nucleicos y grupos activos (ATP, ADP), tioles y fosfatos (Kabata-Pendias, 2011).
- La presencia de cationes divalentes como el Co^{2+} , Ni^{2+} y el Zn^{2+} llegan a desplazar al Mg^{2+} en la ribulosa 1-5-bifosfato-carboxilasa-oxigenasa (Figura 13). (Rodríguez-Elizalde, 2006)
- El Cd^{2+} desplaza al Ca^{2+} (Clemens, 1999), inhibiendo la función de proteínas como la calmodulina; afectando principalmente la integridad y funcionalidad de las membranas y así como la actividad de algunas hormonas (Clemens, 2006; Azcón-Bieto y Talón, 2008).

- La afinidad de los EPT por grupos sulfhidrilo causa inhibición en algunas reacciones biológicas, causadas por los cambios en la estructura de enzimas (Balsberg, 1989).

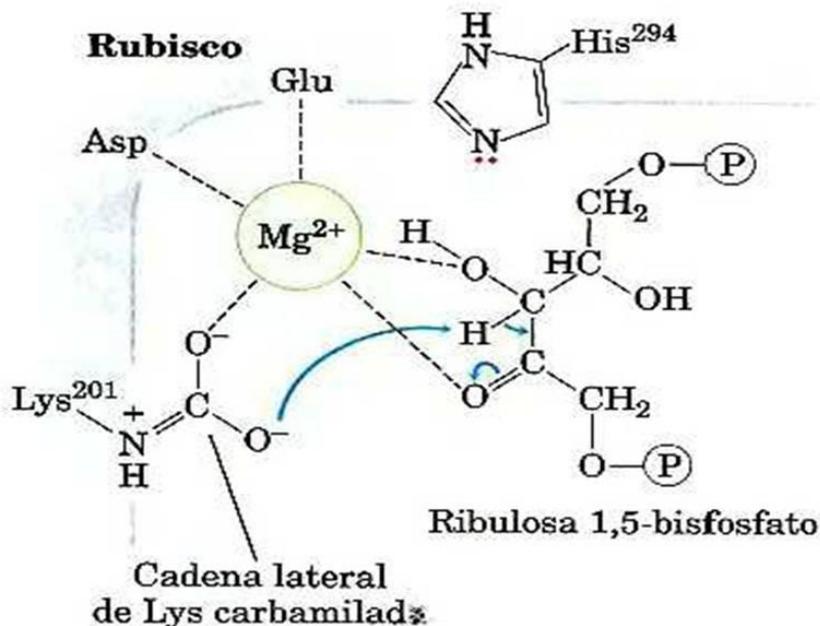


Figura 13. Estructura de la ribulosa 1,5-bisfosfato carboxilasa (rubisco) (Modificado de Nelson y Cox 2006)

- La diferenciación de los elementos traqueales del xilema (traqueas o vasos leñosos) se divide en cuatro etapas: elongación celular (A), deposición de la pared secundaria (B), lignificación de la pared secundaria (C) y autólisis de las células de la pared (D) (Figura 14). Se considera diferenciación prematura o xilogenesis prematura cuando se depositan prematuramente las paredes secundarias de los vasos (lignificación) y la disolución de la pared primaria (tonoplasto) se lleva a cabo al mismo tiempo que la lisis del núcleo (protoplasto) (Fukuda, 2006). La aceleración en el desarrollo de barreras apoplásticas o proceso de lignificación, reduce la plasticidad de las paredes, reflejándose en un menor crecimiento de la planta y las

células. En estudios recientes se ha podido demostrar que la lignificación inducida por metales como Cd, Ni, Pb y Zn; provoca un estrechamiento de los vasos del xilema, entendiéndose como un mecanismo que dificulta la traslocación de dichos metales, además del acceso de agua y nutrientes desde las raíces hasta las hojas (Sharma y Shanker, 2005; Böhm *et al.*, 2006; Maksimović *et al.*, 2007; Di Baccio *et al.*, 2010; Luković *et al.*, 2012; Stoláriková *et al.*, 2012).

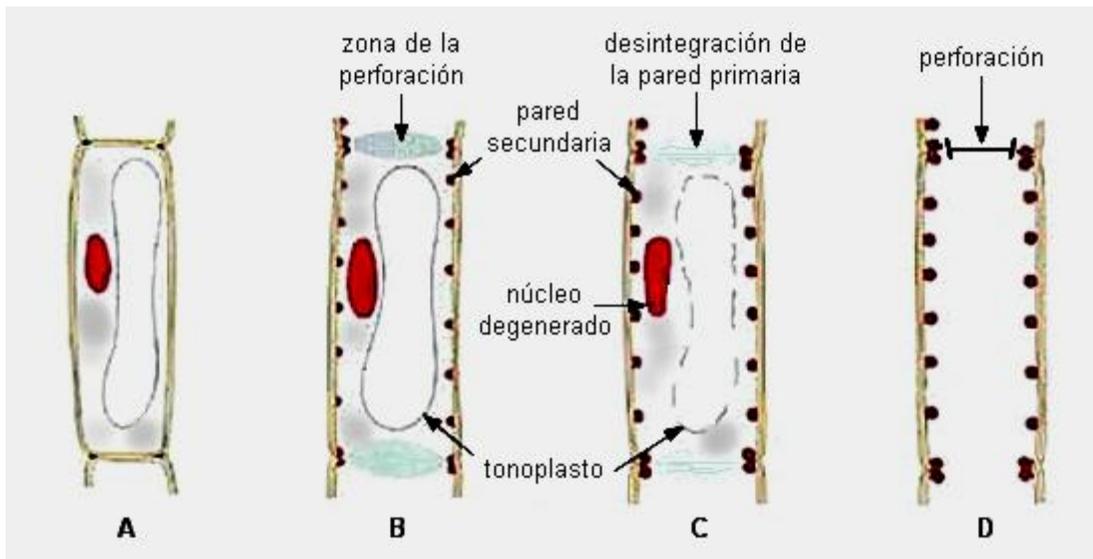


Figura 14. Diferenciación y formación de un elemento traqueal del xilema (vaso leñoso) (Raven *et al.*, 1991)

1.4 ALTERNATIVAS DE FITORREMEDIACION

En la recuperación de suelos contaminados con EPT se emplean métodos de ingeniería como la excavación, rellenos sanitarios, lavado de suelo y tratamientos térmicos y electroquímicos. Las alternativas químicas consideran la aplicación de fosfatos, sustancias adsorbentes, encalado y agentes quelantes, sin embargo este tipo de alternativas tiene algunas limitaciones económicas y de riesgo. El uso de microorganismos y plantas para la descontaminación de EPT, ha llamado la atención debido a su bajo costo y alta eficiencia. El uso de tecnologías biológicas se ha documentado para el tratamiento de varios contaminantes como hidrocarburos, plaguicidas,

sustancias radiactivas y otro tipo de contaminantes; su aplicación en la remediación de sitios contaminados con EPT es reciente. Este tipo de tecnologías pueden aplicarse a la remediación, si los EPT se encuentran en la superficie y no son lixiviables o cuando la remoción no es una situación de emergencia (González-Chávez, 2004; Sriprang y Murooka, 2007).

1.4.1 Mecanismos de tolerancia y desintoxicación de EPT en las plantas

Las plantas pueden adoptar estrategias específicas que les permiten sobrevivir en un ambiente contaminado con EPT, empleando para ellos procesos fisiológicos para tolerar la toxicidad de los metales, para ello se generan cambios anatómicos, estructurales y bioquímicos. La acumulación de EPT en las plantas considera la especie vegetal, así como la movilidad, disponibilidad y concentración del metal en el sustrato; una vez ingresado a través de las células de la raíz, su compartimentalización y separación dentro de ella, la eficiencia del xilema para transportar EPT y finalmente su distribución y almacenamiento en las células foliares (Llugany *et al.*, 2007; Sriprang y Murooka, 2007; Azcón-Bieto y Talón, 2008).

Por esta razón algunas plantas son llamadas “hiperacumuladoras”. El término hiperacumulación, comúnmente describe la acumulación de Ni mayor a 1000 mg kg⁻¹ en el tejido de las hojas secas del árbol *Sebertia acuminata*; para determinar la condición de plantas hiperacumuladoras es necesario considerar sólo los órganos que se encuentran por encima del suelo (hojas) u orgánulos específicos como la epidermis. La deficiencia y en algunos casos la toxicidad de elementos esenciales (Zn, Cu) y EPT (As, Cd, Pb) difieren en gran medida por la falta de especificidad en la ecofisiología de las plantas (suministro y procesos de absorción) (Ent *et al.*, 2012).

En la Tabla 1 se presentan como referencia las concentraciones típicas de elementos esenciales y EPT en plantas clasificadas como hiperacumuladoras (Brooks, 1998; Kabata-Pendias,

2011; Ent *et al.* 2012). Brooks (1998) inclusive diferencia las concentraciones en plantas entre aquellas especies vegetales que crecen en suelos mineralizados; no mineralizados, así aquellas que se han clasificado como hiperacumuladoras.

Tabla 1. Concentraciones típicas en plantas de elementos esenciales y EPT, que crecen en suelos mineralizados, no mineralizados y plantas clasificadas como hiperacumuladoras

		PER ¹ Ent <i>et al.</i> (2012)	Crecimiento en Suelos no mineralizados (mg kg ⁻¹) (Brooks, 1998)	Crecimiento en Suelos mineralizados (mg kg ⁻¹) (Brooks, 1998)	Concentración en plantas hiperacumuladoras (mg kg ⁻¹)		
					Brooks (1998)	Ent <i>et al.</i> , (2012)	Kabata- Pendias (2011)
Elementos esenciales	Co	0.2	1	3	5,000	300	60 – 270 ²
	Cu	10	10	20	5,000	300	20 – 590 ⁴
	Fe					ca. 160 – 330 ⁵	Mayores a 1,000
	Mn	200	400	1000	10,000	10,000	400-1,000
	Ni	1.5	3	20	5,000	10,000	0.13 – 1.7 ₁
	Se	0.02	0.1	1	1,000	100	25 – 100 ³
	Zn	50	70	100	10,000	3,000	24- 45 ²
EPT	As	0.1	0.0005 – 0.080 ⁵	456 – 6640 ^{1,5}			280 ^{1,6} - 6640
	Cd	0.05	0.1	100			1.1 – 8.2 _{7,8}
	Cr	1.5				300	148 – 154 _{4,9} 500 - 3400 ¹
	Pb	1		63 – 232 ⁵		1,000	33 -165 ⁴ ₂
	Tl	0.02				100	
PER: Planta estándar de referencia definida por Markert y Dunn. ¹ Pastos; ² Hojas de <i>Lactuca sativa</i> ; ³ El valor superior es esporádico. ⁴ En hojas de <i>Beta vulgaris</i> ⁵ Kabata-Pendias (2011); ⁶ Forraje; ⁷ <i>Agropyron repens</i> ; ⁸ El valor mínimo se refiere a cultivos en suelos mineros históricos y el valor más alto reportado en cultivos de suelos próximos a una fundición de acero (Gailey y Lloyd, 1985); ⁹ Hojas de <i>Daucus carota</i> .							

Algunos procesos y características que favorecen la tolerancia y desintoxicación de EPT en las plantas son:

Su captación y disponibilidad; están ambos en función de la solubilidad del elemento en el suelo; por ejemplo Zn y Cd frecuentemente se encuentran en forma intercambiable y fácilmente disponibles, el Pb suele presentarse como un precipitado en el suelo, en una forma menos disponible. Las raíces de la planta incrementan la biodisponibilidad de los metales, expulsando protones para acidificar el suelo y así poder movilizar los elementos. Se ha observado en algunas plantas dicotiledóneas, deficientes en Fe; este proceso de reducción del pH que provoca la acidificación del suelo, y así afecta la disponibilidad de Fe por las raíces, un proceso alterno es la formación de complejos metal-quelato, que previene la precipitación y sorción de los metales, manteniendo así su disponibilidad para la captación de la planta (Sriprang y Murooka, 2007).

Las características fisicoquímicas de la pared celular y los exudados de la raíz pueden influir en el flujo de metales al interior de las plantas. Las raíces se caracterizan por poseer cargas negativas que interaccionan con las cargas positivas de los metales presentes en el suelo, creando un equilibrio que facilita la entrada hacia el interior de la célula, por vía apoplástica y simplástica. Se ha demostrado que una parte del flujo de metales, como en el caso del Pb, puede quedar retenido en la pared celular por la presencia de lignina y celulosa (Navarro *et al.*, 2007). Los exudados de la raíz son compuestos orgánicos que se liberan a través de la raíz de una planta y que pueden jugar un papel importante en la quelación de metales en el agua intersticial circundante (Hall, 2002, Navarro *et al.*, 2007). Se clasifican en dos categorías: de bajo peso molecular, que se liberan en dirección del gradiente de concentración; entre se encuentran azúcares, fenoles, aminoácidos y algunos gases como el etileno y ácidos orgánicos solubles (C2-C5) (Navarro *et al.*, 2007) y los de alto peso molecular, estos son liberados empleando mecanismo de transporte activo o por lisis

celular, se caracterizan por ser producto de la autólisis de las células epidérmicas y corticales, secreciones que llevan consigo un proceso en el que intervienen procesos metabólicos de liberación de mucílagos (Hall, 2002, Navarro *et al.*, 2007). Se ha observado que este tipo de compuestos suele facilitar la disponibilidad de metales. Para el caso de los mucílagos se ha observado que pueden además favorecer la complejación de metales como el Cd, Cu y Pb (Navarro *et al.*, 2007).

La membrana plasmática, es una estructura delgada y flexible, constituida principalmente por una doble capa de moléculas lipídicas, inmersas en varias proteínas de membrana. En ella se llevan a cabo diferentes procesos que permiten la entrada de iones metálicos a través de canales constituidos principalmente por proteínas, los cuales funcionan como canales iónicos selectivos (asociados a transporte activo o pasivo). Es por esta razón que sus funciones pueden ser afectadas por la presencia de altas concentraciones de metales. Por ejemplo, se ha demostrado que el Cu aumenta el flujo de K^+ en las raíces de *Agrostis capillaris*, favoreciendo la entrada de agua e incrementando el volumen celular. De manera similar se ha concluido que la causa principal de la toxicidad de Cu en raíces de *Silene vulgaris*, *Mimulus guttatus* y *Triticum L.* puede deberse a la fuga de iones, oxidación y entrecruzamiento de proteínas (conteniendo grupos tiol), inhibición de proteínas de membrana claves como H^+ -ATPasa o cambios en la composición y fluidez de los lípidos de la membrana. Cabe destacar que además del Cu, el Cd puede tener efecto directo sobre la permeabilidad selectiva de la membrana, reducir la actividad de la ATPasa en las raíces de trigo y girasol (Hall, 2002, Navarro *et al.*, 2007; Azcón-Bieto y Talón, 2008; González *et al.*, 2010).

En el interior de las células, la presencia de metalotioneínas (MT), que son polipéptidos con alto contenido de cisteína, son capaces de formar complejos con cationes por la presencia del grupo sulfidril que posee como radical. El papel biológico de las MT radica en la captura de iones metálicos como el Cd^{2+} previniendo su interacción con otros compuestos y en la regulación

homeostática de iones metálicos esenciales como el Zn. Suelen encontrarse en plantas, algas, hongos y bacterias (Rodríguez-Elizalde, 2006; Sriprang y Murooka, 2007; Navarro *et al.*, 2007).

Otro tipo de moléculas relacionadas a la complejación intracelular, está relacionada con las Fitoquelatinas (FQ), las cuales son polipéptidos formados por cadenas de aminoácidos tales como: glutámico (Glu), cisteína (Cys) y glicina (Gly). La principal función de las FQ es quelar los EPT en el citosol, capturar complejos FQ-Cd²⁺ en las vacuolas y transportarlos a través del tonoplasto. Se ha demostrado que la acumulación de Cd en *Brassica juncea* induce la biosíntesis de FQ, protegiendo la fotosíntesis, pero no la tasa de transpiración. Asimismo, se ha demostrado un aumento en la transcripción de los genes necesarios para la síntesis de glutatión y la respuesta específica para los metales detoxificados por FQ en *Arabidopsis* tratadas con Cd y Cu. Aunque pareciera que las FQ son importantes en la detoxificación de Cd y arseniato, sin embargo su participación en la detoxificación de iones como el Zn, Ni y Se parece ser menos importante. Aún y cuando se ha demostrado contundentemente el papel de las FQ en la detoxificación de Cd, éstos péptidos pudieran además intervenir en funciones importantes de la célula entre las que destacan: homeostasis de EPT, metabolismo del azufre o como antioxidantes. En las plantas superiores la desintoxicación de Cd concluye con la acumulación de complejos FQ-Cd en la vacuola, mediado por la acción de transportadores situados en el tonoplasto (Clemens, 2001; Hall, 2002; Sriprang y Murooka, 2007; Navarro *et al.*, 2007).

Además, de los factores anteriormente descritos, la compartimentalización vacuolar juega un papel importante en la acumulación de EPT en el interior de las plantas. Generalmente se considera a la vacuola como un espacio en el protoplasto, ocupados generalmente con agua y compuestos en solución (jugo vacuolar). Una de las funciones principales es el almacenamiento de compuestos tóxicos en las células vegetales. La compartimentalización de los EPT en la vacuola es un mecanismo de desintoxicación y tolerancia al exceso de iones metálicos. Existen pruebas que

demuestran el secuestro vacuolar de iones metálicos en las plantas (Clemens, 2001; Sriprang y Murooka, 2007; González *et al.*, 2010). La acumulación de Cd se lleva a cabo a través de la síntesis de FQ formando complejos FQ-Cd de alto y bajo peso molecular, evitando la circulación libre de iones de Cd en el citosol obligándolos a quedarse en un área limitada. Hay evidencia de que la vacuola puede ser importante en la acumulación de otros EPT, involucrando diferentes sistemas de transporte desde el tonoplasto, como el Zn. Davies *et al.* (1991) evaluaron el desarrollo de vacuolas en las células meristemáticas de la raíz en dos cultivares de *Festuca rubra* cultivar Merlin y Hawk (tolerante al Zn) y S.59 (cultivar no tolerante). Los resultados mostraron un aumento considerable en el porcentaje de las células del meristemo apical. La mayor parte de este incremento se debió principalmente al aumento en el diámetro de la vacuola (0.2 – 0.5 μm); Brune *et al.* (1994) con el fin de comprender los mecanismos de transporte, administraron a plántulas de cebada Zn^{65} en condiciones hidropónicas. Estos autores observaron a los 10 días de edad que las plantas control mostraron una longitud de hoja de 17.8 ± 1.5 cm y una longitud de la raíz 10.0 ± 1.2 cm; mientras que las plantas a las que se les administró $1.6 \mu\text{mol m}^{-3} \text{Zn}^{65}$, mostraron una severa inhibición de la elongación de la raíz (3.5 ± 0.8 cm) y una ligera disminución en la producción de biomasa en la raíz (37.5 mg peso fresco). Con el fin de hacer un análisis más detallado en la hoja, se incubaron algunas de ellas durante 6 horas, para después ser separadas en protoplastos de mesófilo, epidermis y pared celular; observaron que el zinc se absorbió rápidamente en los protoplastos del mesófilo, demostrando así que las hojas pueden manejar niveles posiblemente tóxicos de Zn por medio de la compartimentalización vacuolar y homeostática. Además de los estudios ya mencionados, en hojas de cebada cultivadas en un medio hidropónico se ha demostrado que Cd, Zn y el Mo se encontraron en la vacuola y Ni en el citosol, esto se ha relacionado con posible daño en las hojas. En el estudio realizado por Brune *et al.* (1995) no se examinó la compartimentalización en las raíces (Clemens, 2001; Sriprang y Murooka, 2007; Navarro *et al.*, 2007).

Además, de los atributos y mecanismos internos de las especies vegetales, la presencia de micorrizas puede favorecer la translocación de metales al interior de las plantas. Las micorrizas son asociaciones simbióticas entre hongos y raíces de plantas vasculares. Se reconocen dos tipos de micorrizas, endotróficas o endomicorrizas, en las cuales las hifas de los hongos se establecen dentro de las células vivas de las raíces de la planta y las micorrizas ectotróficas o ectomicorrizas, en las cuales la mayor parte del micelio aparece alrededor de los tejidos superficiales de las raíces (Herrera y Ulloa, 2004). La presencia de micorrizas brinda a la planta mayor tolerancia a los EPT, impidiendo que puedan pasar a la parte aérea de la planta. El mecanismo de tolerancia de este tipo de simbiosis la constituye la pared celular del hongo, cargada negativamente, razón por la cual se restringe el movimiento del metal a las raíces de las plantas. Este tipo de mecanismo varía en función de la especie del hongo, planta y del metal. Debido a la intensa traslocación y absorción de EPT, las micorrizas participan de manera activa en cualquiera de los siguientes procesos: (a) absorción/adsorción de EPT (b) reducción del ingreso de EPT por vía apoplástica y (c) quelación por acción de exudados del hongo; razón por la cual se ha considerado la utilización de micorrizas como una alternativa más en los procesos de fitorremediación (Navarro *et al.*, 2007).

Los hongos micorrízicos arbusculares (HMA) son la asociación simbiótica más común entre los microorganismo que habitan en la rizósfera de las plantas. Existe evidencia de que la presencia de HMA puede ejercer efectos benéficos en las plantas hospedantes (Sadeque *et al.*, 2006). Esta asociación simbiótica puede encontrarse en, al menos, el 80% de las plantas terrestres, formando arbusculos, vesículas (sólo en algunas especies) e hifas dentro de las células corticales de las plantas que llegan a colonizar. La importancia de esta asociación simbiótica radica en el desarrollo de las plantas considerando que la raíz es el órgano clave entre la planta y el suelo; en consecuencia, la micorriza actúa como órgano de absorción y translocación de agua y nutrientes, particularmente en la absorción del fósforo. Además de aumentar la tolerancia a condiciones de

estrés abiótico, fijación de N_2 (Guerra, 2008; Barrer, 2009). El crecimiento de HMA puede ser intra e intercelular en la corteza de la raíz y dar lugar a dos tipos de estructuras: arbusculos son hifas divididas dicotómicamente, invaginadas por la membrana plasmática de las células corticales, que se caracterizan por tener periodos de vida cortos y vesículas que funcionan como almacenamiento, formadas en la parte terminal de las hifas (Barrer, 2009). Se ha demostrado que esta asociación simbiótica confiere a las plantas micorrizadas un efecto benéfico en la recuperación, estabilización o extracción de EPT en los suelos contaminados a través del uso de plantas (González-Chávez y Rodríguez-Elizalde, 2005; Guerra, 2008).

En años recientes se ha comprobado que el micelio extra radical de los hongos y la glomalina, disminuyen la toxicidad de los EPT en las plantas hospederas. Existe evidencia de que la presencia de glomalina en la superficie de las hifas y aquella liberada al suelo, posee la capacidad de secuestrar cantidades significativas de Cd, Pb, Zn y Cu, indicando que el micelio extra radical y la glomalina pueden ser empleados como agentes quelantes secuestradores de EPT, en el establecimiento de plantas en sitios contaminados (González-Chávez, 2009).

2. JUSTIFICACIÓN

La minería en el estado de San Luis Potosí ha contribuido desde su fundación en la producción de arcillas, arsénico, azufre, bentonita, caliza, caolín, cobre, estaño, estroncio, fluorita, fosforita, manganeso, oro, plata, plomo, potasio, sal, sílice, topacio, yeso, zeolitas y zinc.

Entre 1930 y 1948 se registró una de las etapas de mayor producción en el Distrito Minero Cerro de San Pedro, por la compañía American Smelting and Refining Company (ASARCO), registrándose extracciones mensuales de 10,000 t de mineral compuesto por Au, Ag, Pb y Zn. Cuando ASARCO cerró sus instalaciones en 1950, los residuos constituidos principalmente por sulfuros metálicos se depositaron en la orilla del cauce del arroyo San Pedro.

La información disponible sobre estos residuos, hace énfasis en el impacto sobre el suelo, vegetación, aire y agua superficial que corre en dicho arroyo en temporadas de lluvia, generado a través de procesos físicos (erosión hídrica y/o eólica) y químicos (movilidad del As y Cd).

Razo *et al.*, (2007) tras haber realizado una caracterización ambiental lograron confirmar que los residuos en Cerro de San Pedro, podrían ser peligrosos al ambiente debido a su elevado potencial para generar drenaje ácido de roca (DAR) y elevadas concentraciones de As y Cd solubles en agua meteórica simulada (ASTM 3987).

Actualmente la mayoría de las evaluaciones de impacto ambiental relacionadas con la industria minera ha prestado mayor interés a sitios donde la generación de DAR es uno de los principales efectos de la contaminación. Sin embargo, la información relacionada con el impacto de la minería en zonas de clima árido y semiárido es aún escasa; como consecuencia, la solución a este tipo de problemas es insuficiente. Lo anterior, aunado a la nula o escasa normativa que estable los límites en la limpieza, han limitado las posibilidades de remediación.

Cabe destacar que la aplicación de tecnologías biológicas de remediación, han sido poco estudiadas y desarrolladas. En estudios recientes se ha demostrado que la fitorremediación es una tecnología innovadora, de bajo costo, que puede llevarse *in situ* y *ex situ*, empleando vegetales y microorganismos de la rizósfera, logrando así la limpieza del sitio (González-Chávez,2004). Con el fin de restaurar sitios degradados y colonizar ambientes adversos, se han desarrollado dos estrategias: la utilización de plantas nativas y el uso de plantas alóctonas seleccionadas previamente por su capacidad para adaptarse a los nuevos entornos, resultado de ello se manifiesta en el desarrollo de mecanismos de tolerancia y desintoxicación de EPT (Kabata-Pendias, 2011; Ferrera-Cerrato *et al.*, 2009). Se demostrado que empleando *Agrostis capillaris* y *Festuca rubra* como plantas tolerantes, beringita como agente secuestrante y abonos compuestos, el resultado fue el desarrollo de una amplia cobertura vegetal en un sitio que tuvo actividad piro metalúrgica en Bélgica (González-Chávez, 2004). Además, en las plantas se ha mostrado interés por la habilidad que algunos microorganismos tienen para desarrollarse en ambientes contaminados, logrando modificar el estado y forma química así como la distribución de metales y metaloides en el suelo, favoreciendo el crecimiento de las plantas (González-Chávez, 2009; González-Chávez, 2004); asimismo se ha demostrado que el uso de HMA puede contribuir a la acumulación de Zn y Cd en el micelio externo de HMA, reflejándose en una menor traslocación hacia las zonas de crecimiento (Rodríguez-Elizalde, 2006). *Holcus lanatus* puede establecerse como planta tolerante y crecer en sitios contaminados, cuando sus raíces se encuentran colonizadas por HMA. Además de las especies ya mencionadas *Festuca arundinaceae* y *Deschampsia flexuosa* también se han encontrado en sitios contaminados, asociadas de manera natural a la colonización por HMA (González-Chávez, 2004). Se ha observado que al igual que las plantas que crecen en condiciones naturales; algunos pastos que crecen en suelos contaminados por As se encuentran colonizados de manera natural por HMA, como *Leymus cinereus* y *Microalena stipoides*. Además del As, también se han registrado al menos

33 especies vegetales que crecen en suelos contaminados con Pb, Cd, Zn y Cu en Sombrerete, Noria de Angeles, Fresnillo y Guadalupe, cuatro regiones localizadas en el estado de Zacatecas; en tanto que en Temascaltepec Estado de México, se lograron registrar 23 especies, que crecen en suelos contaminados por metales y metaloides y que tienden a ser colonizadas de manera natural por HMA (González-Chávez, 2009).

Por todo lo anteriormente expuesto se hace necesario generar información que contribuya a la comprensión de los mecanismos de tolerancia y/o resistencia a metales y metaloides, así como a la búsqueda de especies vegetales de rápido crecimiento, asociadas o no a hongos micorrízicos arbusculares, que desarrollen abundante biomasa y tengan la capacidad de crecer en sustratos impactados por DAR.

3. HIPÓTESIS

La exposición a elementos potencialmente tóxicos (EPT) puede afectar las respuestas fotosintéticas asociadas al metabolismo, así como inducir variaciones anatómicas en *Asphodellus fistulosus* L. y *Nama* sp. que crecen en sitios impactados por residuos generadores de drenaje ácido de roca (DAR).

4. OBJETIVOS

4.1 OBJETIVO GENERAL

Evaluar el efecto de EPT bioaccesibles sobre la fisiología de *Asphodellus fistulosus* L. y *Nama* sp. que crecen en sitios impactados por residuos generadores de DAR, especies vegetales asociadas o no a HMA.

4.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Identificar especies vegetales que crecen en residuos generadores de DAR
- Comparar la respuesta fisiológica entre dos especies vegetales (*Asphodellus fistulosus* L. y *Nama* sp.) mediante la cuantificación de los pigmentos fotosintéticos y concentraciones bioacumuladas de EPT.

- Identificar y analizar las variaciones anatómicas de dos especies vegetales (*Asphodellus fistulosus* L. y *Nama* sp.) expuestas a EPT y correlacionar éstas mediante el análisis histológico, ecofisiológico y fisicoquímico de las concentraciones de EPT en suelos.
- Identificar posibles asociaciones de HMA con las especies vegetales seleccionadas en este estudio (*Asphodellus fistulosus* L. y *Nama* sp)

5. MATERIALES Y MÉTODOS

El presente estudio se realizó en el Laboratorio de Remediación Ambiental, del Instituto de Metalurgia de la Universidad Autónoma de San Luis Potosí (UASLP) y formó parte del Proyecto de Investigación PROMEP/UASLP/10/CA19 “Caracterización del impacto ambiental asociado a un depósito no controlado de residuos generadores de drenaje ácido de roca” del Cuerpo Académico de Tecnología Ambiental de la Facultad de Ingeniería.

5.1 UBICACIÓN Y DESCRIPCIÓN DEL SITIO DE ESTUDIO

El distrito minero denominado Cerro de San Pedro se localiza en la porción centro-sur del estado de San Luis Potosí, a 19.5 km de la ciudad de San Luis Potosí (Figura 15). Abarca la parte Sur de la antigua Mina de San Pedro, el Cerro de los Pocitos, el Cerro de la Bufa, el Cerro Gordo y una porción de la rancharía de El Portezuelo, su altitud media es de 2000 metros sobre el nivel del mar (Balbotin, 1972; COREMI, 1992).

De acuerdo con la clasificación de Köppen, modificado por García (1988), el clima correspondiente en esta región es seco templado (64.6%) y semiseco templado (35.4%). Con un rango de temperatura que va desde los 14 hasta los 18 °C; la precipitación pluvial que se registra es de 300 a 500 mm (INEGI, 2009). La población vegetal es matorral xerófilo, en especial matorral desértico micrófilo; la fauna se caracteriza por especies como coyote, gato montés, liebre, conejo y una extensa variedad de aves y reptiles (Martínez, 2012; INEGI, 2009). La mayor parte del suelo es de tipo litosol eútrico poco desarrollados, pedregosos, además de contener una gran cantidad de material calcáreo, que en algunas ocasiones puede inmovilizar los elementos esenciales con pendientes que van desde el 8 hasta el 20%, pueden encontrarse en la mayoría de tipos climáticos

(secos, templados, húmedos), pero son característicos de las regiones montañosas y altamente erosionadas (FAO-ISRIC-ITC, 2001). En la zona suroeste hay una porción constituida por suelos del tipo durisol (20.9%), caracterizados por la escasa retención de agua y bajo contenido en materia orgánica; en pequeñas porciones (menor al 3%) (Martínez, 2012, INEGI, 2009) puede además encontrarse suelo vertisol, característico de los climas semiáridos, contienen grandes cantidades de arcillas, lo que los hace fértiles y suelos phaeozem oscuros y ricos en materia orgánica (FAO-ISRIC-ITC, 2001),



Figura 15. Sitio de estudio dentro del Distrito Minero Cerro de San Pedro

5.2 MATERIALES DE ESTUDIO

5.2.1 Suelo rizosférico

En el cauce del arroyo San Pedro hay especies vegetales que crecen en sustratos impactados por los escurrimientos tipo DAR. Se realizó un muestreo recolectando en diferentes

puntos del cauce del arroyo intermitente, a distancias variables y en dirección al cauce de aguas arriba y aguas abajo, tomando como referencia la zona de deposición de los residuos mineros históricos identificados en el lugar.

Se recolectaron muestras de sedimento circundante a la raíz de cada organismo vegetal a una profundidad no mayor de 15 cm; y el cual es referido en esta tesis como “suelo rizosférico”. Las muestras se secaron al aire y se tamizaron en mallas para tamaños de partículas menores a 250 μm , entre 250 y 600 μm , y entre 600 y 2000 μm ; se colocaron en recipientes de plástico y se almacenaron a temperatura ambiente.

5.2.2 Material vegetal

Para determinar si las especies que se encuentran a lo largo del cauce del arroyo San Pedro presentan modificaciones morfológicas y fisiológicas por exposición a EPT; así como para inferir si podrían participar en los procesos de fitoextracción o fitoestabilización de los EPT presentes en el sustrato, se realizó un muestreo de los organismos vegetales que se encontraban creciendo sobre y alrededor de los residuos, y en el lecho del arroyo San Pedro. En este sentido, se seleccionaron como objeto de estudio las dos especies de plantas perennes que crecen sobre los residuos y sobre el cauce del arroyo impactado por DAR. Las plantas seleccionadas fueron *Asphodellus fistulosus* L. y *Nama* sp. cada muestra recolectada fue dividida, para su estudio, en sus órganos: raíz, tallo y hojas.

5.2.2.1 *Asphodellus fistulosus* L.

Es una hierba perenne, con raíces fibrosas, delgadas y de color amarillento a anaranjado; el escapo o tallo aéreo suele ser subcilíndrico de 8 a 25 cm de largo, la sección de tallo es cilíndrica, hueca con la apariencia y consistencia de una hoja, (DELTA, 2013); las hojas suelen disponerse en un roseta basal, la forma puede variar de linear-lanceoladas a lineares, verde-azulosas, por la

presencia de pruina que a veces las recubre, ligeramente glaucas, fistulosas, acuminadas, longitudinalmente estriadas y algo escabrosas, con una longitud de 25 cm y un diámetro de 2 a 3 mm; presenta flores anchamente campanuladas, blancas, con una cápsula subglobosa de color paja, de 3.5 a 5.5 mm de longitud; semillas café a grisáceas, con o sin líneas de color café oscuro, aproximadamente de 3 mm de longitud, de 2 a 2.5 mm de ancho (Figura 16). La época de floración suele ser desde (diciembre) enero a junio (julio), rebrotando en agosto (Lorda, 2010; Calderón y Rzedowski, 2005).

Se ha encontrado en México con una abundancia y distribución más o menos continua en el Norte y centro del país. Es una planta de origen mediterráneo y es considerada en México una especie invasora. Está naturalizada en las zonas áridas y semiáridas de México. Se ha registrado en los estados de Coahuila, Durango, Guanajuato, Hidalgo, Estado de México, Nuevo León, Querétaro, San Luis Potosí, Tamaulipas, Veracruz. La penetración de la especie parece ser relativamente reciente; las poblaciones con mayor abundancia se encuentran en el oeste de la autopista México-Querétaro; al este de Puebla con el límite con Veracruz; además se tiene registro de haberse encontrado en Sombrerete, Zacatecas; y en Villa de la Paz, San Luis Potosí, que se han caracterizado por ser sitios contaminados con EPT (Díaz-Garduño *et al.*, 2005; CONABIO a).



Figura 16. Planta de *Asphodellus fistulosus* L. Espécimen recolectado aguas arriba con respecto a los residuos del cauce del arroyo de San Pedro (P₂). Ubicación geográfica: 22°12'48.4" N y 100°48'23.4" W

5.2.2.2 *Nama sp.*

Se caracteriza por ser un género anual-persistente (que permanece durante mucho tiempo) con base leñosa; tallo vertical, erecto, ascendente, en ocasiones postrado, de ramificación más o menos profusa, con una altura máxima de 50 cm; hojas lineares a espatuladas, alternas, sésiles o cortamente pecioladas; flores solitarias o en pares; corola infundibuliforme a campanulada, de color lila o blanquecina, con nervaduras de color morado; semillas alveolada-reticuladas, amarillentas a color marrón oscuro (Figura 17).



Figura 17. Planta de *Nama sp.* Espécimen recolectado aguas abajo con respecto a los residuos del cauce del arroyo de San Pedro (P₅). Ubicación geográfica: 22°12'47.5" N y al 100°48'26.9" W

El género se encuentra desde el suroeste de Estados Unidos a México, en México en la región centro y oriente y en la Sierra Madre Oriental. De algunas especies, las hojas secas pueden utilizarse para la preparación de un tónico amargo y para diversos fines medicinales (Metcalf y Chalk, 1957; Shereve y Wiggins, 1964; Stewart y Corning, 1970; Calderón y Rzedowski, 2005; Pérez-Cáliz y Carranza, 2005; Henrickson y Jonhston, en revisión).

La *Nama* recolectada en el sitio de estudio fue imposible asociarla taxonómicamente con alguna de las reportadas en la bibliografía consultada con las cuales se ha podido comparar. Sin embargo, *Nama sp.* fue posible asociar similitudes con respecto a algunos atributos, como: época de

floración; posición, aspecto y crecimiento del tallo; presencia y/o ausencia de tricomas en la hoja; tipo de flor e inflorescencia; forma del lóbulo del cáliz; forma, coloración y superficie (presencia de tricomas glandulosos, nervaciones de color) de la corola; anteras; orientación y postura del ovario.

5.3 ANÁLISIS QUÍMICO

5.3.1 pH del suelo

Para determinar el pH del suelo, se siguió el protocolo establecido para suelos (Sparks, 2005), para lo cual se pesó 1 g de suelo, tamizado a 60 mallas, se adicionó 1 mL de agua desionizada y se agitó durante 10 minutos, se reposó 10 minutos y se registró la lectura de pH con un mini electrodo (Mca. Thermo Scientific, Mod. ORION 8115 BN); conectado a un potenciómetro (Mca. Thermo Orion, Mod. 410 A⁺). La determinación se realizó por duplicado para cada punto de muestreo.

5.3.2 Determinación del contenido total de metales en el suelo rizosférico

Para una muestra de 0.5 g de suelo rizosférico se digirió con 9 mL de HNO₃ y 6 mL de HCl, en un horno por microondas (Mca. CEM, Mod. MARSX 3100), con una rampa de presión de 0 – 300 psi por 10 minutos y una rampa de temperatura hasta 150 °C, seguido por un enfriamiento de 5 minutos. Las muestras obtenidas se filtraron con filtros de papel Watman No. 5. Las soluciones se analizaron por ICP (Inductively Coupled Plasma). La determinación se realizó por duplicado para cada punto de muestreo.

5.3.3 Movilidad de EPT en presencia de una solución sintética de ácidos orgánicos de bajo peso molecular

A 1 g de suelo rizosférico se añadió 20 mL de la solución de ácidos orgánicos de bajo peso molecular (LMWOA) que simula la composición de ácidos carboxílicos caracterizados de los

exudados de raíces de trigo obtenidos en cultivos hidropónicos a pH de 4.5 (Tabla 2). Las muestras se agitaron durante 5 horas en un equipo rotatorio, posteriormente las muestras fueron centrifugadas a 3000 rpm durante 20 minutos, para después ser filtradas a 0.20 μm y el filtrado se acidificó con HNO_3 concentrado previo a su análisis por ICP. La determinación se realizó por duplicado para cada punto de muestreo. El porcentaje de movilidad se calculó considerando la concentración total de EPT con respecto a la concentración total fitoaccesible obtenida a partir de la extracción con la solución LMWOA (Anexo I).

Tabla 2. Solución sintética de ácidos orgánicos de bajo peso molecular (LMWOA)

Análisis de ácidos orgánicos cuantificados por cromatografía de gases de los exudados de los cultivos hidropónicos de trigo bajo estrés de cadmio (Cieśliński y Van-Ress, 1998).							
Ácido orgánico	Succínico	Oxálico	Fumárico	Málico	Tartárico	Cítrico	Acético
Concentración (mM)	1.94	0.043	0.012	0.04	0.026	0.006	2.9

5.4 ANÁLISIS ECOFISIOLÓGICO E HISTOLÓGICO

5.4.1 Determinación del contenido de metales totales bioacumulados en el tejido vegetal

Previo a la digestión total de materia orgánica, los órganos vegetales (raíz, tallo y hojas) de *A. fistulosus* y *Nama* sp. fueron lavados con una solución de HNO_3 1M, $(\text{NaSPO}_3)_6$ 1M (hexametáfosfato de sodio) y EDTA 0.05M bajo ultrasonido (Mca. (Cole-Parmer, Mod. 8891) y secadas en la estufa a 50 °C durante 48 horas; transcurrido este lapso de tiempo los tejidos fueron macerados y almacenados en recipientes de plástico a temperatura ambiente hasta su análisis.

Una muestra de 0.5 g se digirió con 15 mL de HNO_3 , en un sistema de reacción por microondas (Mca. CEM, Mod. MARSX 3100). Con una presión de 0 – 200 psi en 150 min. y una rampa de temperatura hasta 110 °C, con un enfriamiento de 5 minutos (Tabla 3). Las muestras

obtenidas se filtraron con filtro de papel Watman No. 5 y el filtrado se analizó por ICP. La determinación se realizó por duplicado para cada órgano vegetal, en cada organismo vegetal recolectado.

Tabla 3. Parámetros de digestión en microondas (Ortega, 2012)

Etapas	1	2	3	4	5
Potencia	25%	100%	100%	100%	100%
Presión (psi)	20	40	85	150	200
Tiempo de ejecución (min)	20	20	20	20	20
Mantenimiento de la fase de presión (min)	10	10	10	10	10

5.4.2 Cuantificación de pigmentos fotosintéticos

Para la cuantificación de pigmentos fotosintéticos se pesó 1 g de hojas frescas de *A. fistulosus* o *Nama* sp., se añadió acetona al 80% y una pizca de bicarbonato de calcio. Las hojas se maceraron en un mortero frío, se decantó y aforó a 25 mL. Posteriormente cada muestra se centrifugó a 3000 rpm durante 10 minutos. Las lecturas se realizaron con un espectrofotómetro de UV-visible (Mca. Beckman, Mod. DU 650); a las siguientes longitudes de onda (λ) 645, 652 y 663 nm (Rodríguez-Elizalde, 2006). La determinación se realizó por triplicado para cada organismo vegetal recolectado. Para obtener la cantidad de clorofila a, b y total; los datos se ajustaron a las ecuaciones 2, 3 y 4 respectivamente.

$$Ca \text{ (mg L}^{-1}\text{)} = 12.7A_{663} - 2.7A_{645} \quad (\text{Ec. 2})$$

$$Cb \text{ (mg L}^{-1}\text{)} = 22.9A_{663} - 4.7A_{645} \quad (\text{Ec. 3})$$

$$Ca + Cb \text{ (mg L}^{-1}\text{)} = 27.8A_{652} \quad (\text{Ec. 4})$$

Donde A es el valor de absorción determinado a las diferentes longitudes de onda, Ca y Cb representan las concentraciones de Clorofila a y b respectivamente.

5.4.3 Histología

Los métodos y técnicas empleadas en el proceso histológico permitieron estudiar las características morfológicas de los tejidos de *A. fistulosus* y *Nama* sp. Las etapas del mismo se describen a continuación:

- Fijación del tejido por inmersión

Las muestras de raíz, tallo y hoja de *A. fistulosus* y *Nama* sp. fueron fijadas en una mezcla FAA (formaldehído, ácido acético y alcohol, 2:1:3, v/v) y posteriormente en GAA (glicerina, alcohol y agua desionizada, 1:1:1, v/v).

- Deshidratación del tejido

El tejido vegetal se desecó en una secuencia etanólica por espacio de dos horas, excepto cuando se empleó etanol absoluto, para este caso las muestras permanecieron 24 horas. La relación etanol/agua desionizada, v/v, fue como sigue:

1. Etanol 30%
2. Etanol 50%
3. Etanol 70%
4. Etanol absoluto

- Pre-infiltración

Para la pre-infiltración las muestras se sometieron a una secuencia resina epoxi Technovit 7100 (glicolmetacrilato) – etanol por espacio de dos horas. La relación glicolmetacrilato - etanol, v/v, fue como sigue:

1. 30 – 70%
2. 50 – 50%
3. 70 – 30%
4. 100%

- Infiltración

Cada muestra se cubrió completamente con Technovit 7100 (glicolmetacrilato) 100% durante 24 horas.

- Polimerización

Para polimerizar las muestras se preparó una solución Technovit 7100 y endurecedor (relación 15 mL de Technovit 7100:1 mL de endurecedor) posteriormente las muestras fueron colocadas en cápsulas transparentes, agregando hasta cubrir las muestras con la solución Technovit 7100 y endurecedor por espacio de 24 horas a vacío.

- Orientación y corte de la muestra

Las cápsulas fueron adheridas a pequeños cubos de madera, de tal forma que las muestras de raíz, tallo y hoja quedarán orientadas perpendicularmente hacia la navaja de tungsteno del micrótopo (Mca. LEICA, Mod. RM 2125RT); las muestras fueron cortadas con un espesor de 3 μ m, los cortes resultantes se colocaron en portaobjetos. Los cortes se tiñeron con el colorante Azul de Toluidina.

- Observación y análisis de los cortes

La observación de los cortes se realizó empleando un microscopio óptico (Mca. LEICA, Mod. EC3) a 40 x. Para el análisis de los cortes se utilizó el programa Image J versión 1.4.0 para medir la longitud de los vasos, diámetros (tangencial y radial), área interior de los vasos en raíces y tallos; en la hoja se midió el área de los haces vasculares y longitud de vasos; la determinación se realizó midiendo cinco estructuras morfológicas en cada tejido de *Asphodellus fistulosus* y *Nama* sp.

5.5 COLONIZACIÓN MICORRÍZICA

5.5.1 Procesamiento de raíces: tinción, clareo y frecuencia de colonización

Las muestras de las raíces radicales de *A. fistulosus* y *Nama* sp. se lavaron y cortaron en segmentos de 1 cm aproximadamente. Las raíces fueron aclaradas con KOH al 10% y HCl al 5% y teñidas con anilina azul al 0.05% (Hernández-Cuevas, 2008). Posteriormente, los segmentos radicales se montaron en portaobjetos y se examinaron en un microscopio óptico (Mca. LEICA, Mod. EC3) a 40 x. Se cuantificó la frecuencia de estructuras micorrízicas. Los valores obtenidos, se ajustaron a la siguiente fórmula para obtener el porcentaje de colonización.

$$\text{Porcentaje de colonización} = \frac{\text{Número de campos colonizados}}{\text{Número total de campos observados}} * 100 \quad \text{Ec. 5}$$

5.2.2 Extracción y cuantificación de esporas

Se pesaron 10 g de suelo rizosférico, se adicionaron 20 mL de agua desionizada y se centrifugaron a 2000 rpm durante 15 minutos. Transcurrido el tiempo, se retiró el sobrenadante, el sedimento se resuspendió con 15 mL de sacarosa al 50% y se centrifugó a 2000 rpm durante 1 minuto. Se pasó el sobrenadante por un tamiz de 25 μm enjuagando con agua desionizada (Hernández-Cuevas, 2008). Las muestras obtenidas se vaciaron a una caja petri y fueron observadas con un microscopio estereoscópico (Mca. LEICA, Mod. EZ4D). Para la contabilización sólo se consideraron las esporas intactas.

5.6 ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Se utilizó el procedimiento del modelo lineal general (GLM) del software estadístico SAS (SAS Institute, 1999) para el análisis de varianza (ANOVA), para un diseño aleatorio (Ec. 6). Las diferencias entre puntos de muestreo se determinaron mediante la prueba de medias de Tukey ($P < 0.05$).

$$Y_{ij} = \mu + \tau_i + \xi_{ij} \quad (\text{Ec. 6})$$

Dónde: Y_{ij} = Variable respuesta en tratamiento i , repetición j ; μ = media general; τ_i = error aleatorio, i ; ξ_{ij} = error aleatorio, $\xi_{ij} \approx N(0, \sigma^2)$

El procedimiento CORR se utilizó para el análisis de correlación de Pearson, entre las variables respuesta correspondientes al análisis ecofisiológico e histológico (cuantificación de pigmentos fotosintéticos, determinación del contenido de metales bioacumulados, variaciones morfológicas de las especies vegetales bajo estudio) y las correspondientes al análisis químico (pH, determinación del contenido total y movilidad de metales presentes en el suelo rizosférico).

Se utilizó el análisis de regresión múltiple, para entender la relación y el comportamiento de las variables del análisis ecofisiológico e histológico y las correspondientes al análisis químico. Para ello se empleó el procedimiento REG (Stepwise) del software estadístico SAS (SAS Institute, 1999). El modelo de regresión lineal múltiple con k variables independientes es un polinomio de primer orden (Ec.7):

$$Y = \beta_0 + \beta_1 X_1 + \beta_2 X_2 + \beta_k X_k + \varepsilon \quad (\text{Ec. 7})$$

Dónde: β son los parámetros del modelo; β_0 ordenada al origen y β_k mide el cambio esperado por un cambio unitario en la variable X_k

6. RESULTADOS

6.1 UBICACIÓN Y DESCRIPCIÓN DEL SITIO DE ESTUDIO

La selección y ubicación de los puntos de muestreo estuvo en función de la presencia de las especies vegetales seleccionadas. Previo a dicha selección se visitó el sitio de estudio con el fin de reconocer el lugar y las especies vegetales que se encontraban creciendo en residuos generadores de DAR. Se reconocieron al menos 30 especies vegetales diferentes de las cuales algunas como *Brickellia veronicifolia*, *Buddleia cordata* y *Reseda luteola*, han sido reportadas al menos una vez en sitios contaminados por EPT (Díaz-Garduño *et al.*, 2005; Hernández-Acosta *et al.*, 2009); *A. fistulosus* y *Nama* sp. se encontraron en mayor abundancia que las especies vegetales antes mencionadas (Figura 18).

Durante los muestreos en el Distrito Minero Cerro de San Pedro, fue evidente la presencia de DAR, debido principalmente a las condiciones de intemperismo de los residuos que se encuentran al pie del cauce del arroyo de San Pedro. Asimismo se observaron cambios de tonalidad que corresponden en menor grado a la deposición de jales recientes, con tonalidades que van del amarillo al rojizo, que corresponde a los depósitos más antiguos; además pudo observarse también la presencia de fases que podrían asociarse por la textura y el color a óxidos de hierro, así como la oxidación parcial de sulfuros de hierro y azufre elemental (Figura 19).

A lo largo del cauce del arroyo de San Pedro y a distancias variables en dirección aguas arriba y aguas abajo con respecto a los residuos, se ubicaron los puntos de muestreo para cada una de las especies vegetales que se seleccionaron. Durante el periodo de muestreo de este estudio, debido al movimiento de materiales (residuos y sedimentos) para la construcción de caminos y algunos eventos climáticos (lluvias torrenciales), no fue posible recuperar biomasa de especies vegetales inicialmente identificadas en los puntos de muestreo 1 y 3 (biomasa específicamente

relacionada a la presencia de *A. fistulosus*). Fuera de estos inconvenientes, ambas especies vegetales fueron recolectadas antes y/o durante la época de floración; que en el caso de *Nama* sp. florece la mayor parte del año, principalmente en la época de mayor humedad (Tabla 4).



Figura 18. Especies vegetales que crecen en el área de estudio impactada por DAR, (a) *Brickellia veronicifolia*, (b) *Buddleia cordata* y (c) *Reseda luteola* (CONABIO b)



Figura 19. Evidencias de DAR (a) oxidación de sulfuros de hierro; (b) encharcamiento tipo DAR

Tabla 4. Ubicación geográfica de los puntos de muestreo en dirección aguas arriba y abajo con respecto a los residuos del cauce del arroyo San Pedro

PUNTO DE MUESTREO		COORDENADAS GEOGRAFICAS	
		N	W
<i>Asphodellus</i>	P ₁	22°12'56.9"	100°47'49.4"
<i>fistulosus</i> L.	P ₂	22°12'48.4"	100°48'23.4"
	P ₃	22°12'48.6"	100°48'23.3"
	P ₄	22°12'48.4"	100°48'25.7"
	<i>Nama</i> sp.	P ₅	22°12'47.5"
	P ₆	22°12'43.2"	100°48'25.3"
	P ₇	22°12'38.2"	100°48'25.8"
	P ₈	22°12'32.2"	100°48'27.2"
	P ₉	22°12'27.9"	100°48'30.7"

6.2 ANÁLISIS QUÍMICO

6.2.1 pH del suelo

Asphodellus fistulosus L.

El valor de pH que se registró para el suelo rizosférico de *A. fistulosus* (Tabla A.3, ANEXO II) corresponde a los valores típicos de una región árida de origen sedimentario con suelo carbonatado, mostrando una alcalinidad moderada (Figura 20).

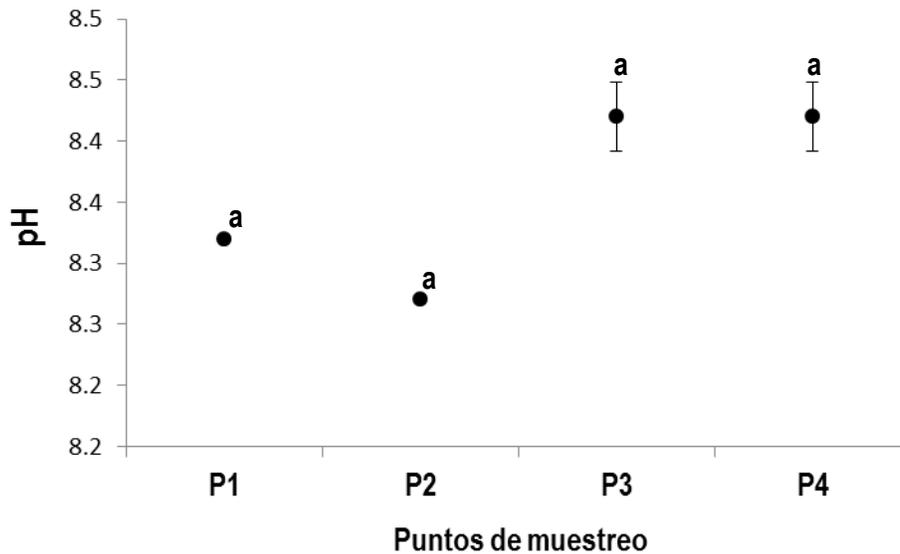


Figura 20. pH en el suelo rizosférico de *A. fistulosus* para los puntos de muestreo P₁, P₂, P₃ y P₄. Diferentes letras indican diferencias estadísticamente significativas entre puntos de muestreo ($P < 0.05$)

Nama sp.

Al igual que los suelos rizosférico de *A. fistulosus*, los asociados a *Nama* sp. (Tabla A.14, ANEXO II) registraron valores de pH típico de una región árida de origen sedimentario carbonatado, con alcalinidad moderada en los puntos de muestreo P₅, P₆, P₇ y P₈, en el punto P₉ el valor de pH desciende mostrando también una menor alcalinidad (Figura 21). El efecto de DAR constatado en el sitio podría verse reflejado en la disminución del pH observado en este punto de muestreo, debido al consumo de especies carbonatadas sensibles a la disolución por acidificación del medio. Lo anterior,

podría influir en las variaciones de la especiación de los EPT en los sedimentos, lo cual será discutido en la sección correspondiente a la fitoaccesibilidad que relaciona la cantidad móvil bajo condiciones de extracción con una solución sintética LWMOA (cf. Sección 6.2.3)

En general los valores de pH registrados tanto para *A. fistulosus* como para *Nama* sp. corresponden a valores típicos de suelos sedimentarios carbonatados de una región árida; dentro de un intervalo de pH que comprende desde de 7 (acidez débil) hasta 9 (alcalinidad moderada). El comportamiento del pH presenta una tendencia hacia la acidificación, aguas abajo, que podría estar relacionado con el escurrimiento de DAR y el consumo del potencial de neutralización de los sedimentos, así como un enriquecimiento de fases hidroxiladas de hierro, asociadas a su precipitación por hidrólisis.

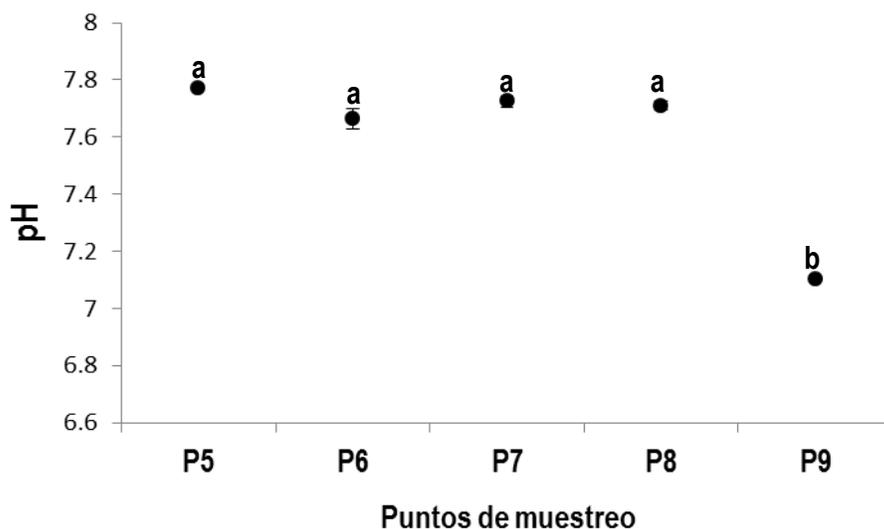


Figura 21. pH en el suelo rizosférico de *Nama* sp. para los puntos de muestreo P₅, P₆, P₇, P₈ y P₉. Diferentes letras indican diferencias estadísticamente significativas entre puntos de muestreo ($P < 0.05$)

6.2.2 Determinación del contenido total de metales en el suelo rizosférico

Asphodellus fistulosus L.

Las concentraciones de Cd, Fe, Pb y Zn son similares para los puntos de muestreo P₂ y P₄, siendo P₂ el punto de muestreo con las concentraciones más altas. El elemento con mayor abundancia en el suelo fue el Fe, sus concentraciones fluctuaron desde 15,812 hasta 20,231 mg kg⁻¹, esto se relaciona directamente a la presencia de sulfuros y óxidos de hierro (Tabla 5).

Tabla 5. Concentración total de metales en suelo rizosférico de *A. fistulosus* para los puntos de muestreo P₂ y P₄

	Concentración total de metales en el suelo rizosférico (mg kg ⁻¹)	
	P ₂	P ₄
As	850 ± 52.23 ^a	699 ± 43.13 ^a
Cd	70.05 ± 2.75 ^a	42.69 ± 0.09 ^b
Fe	20231 ± 380 ^a	15812.5 ± 81.31 ^b
Pb	7027.92 ± 247. 6 ^a	4323 ± 122.32 ^b
Zn	4856 ± 158.4 ^a	1457.75 ± 13.78 ^b

Diferentes letras indican diferencias estadísticamente significativas entre puntos de muestreo (P < 0.05)

Los resultados del análisis de varianza (ANOVA) mostraron que entre los puntos de muestreo P₂ y P₄, se observaron diferencias estadísticamente significativas en la concentración total de todos los elementos analizados (Tabla A.4, ANEXO II). En algunos casos como en el Zn se encontraron incrementos hasta de 3.3 veces en P₂ en comparación con P₄, en lo que respecta al Fe y el As solamente se encontró un incremento en la concentración de 1.2 a 1.3 veces respectivamente entre ambos puntos, y para el Pb y el Cd el incremento fue muy similar e igual a 1.6 veces. Siendo siempre mayor la concentración en P₂, que se encuentra sobre los residuos mineros y menor en P₄ debido a que se encuentra ubicado sobre el margen del arroyo San Pedro.

Nama sp.

El elemento con mayor abundancia también fue el Fe, sus concentraciones fluctuaron desde 5425 hasta 18,222 mg kg⁻¹; debido principalmente a la presencia de sulfuros y óxidos de hierro. Los resultados mostraron similitud en las concentraciones totales de As entre P₅ y P₆, las concentraciones de As fluctuaron desde 56 hasta 1,285 mg kg⁻¹; Cd y Zn también mostraron similitud para todos los puntos de muestreo; para Cd las concentraciones fluctuaron desde 30 hasta 65 mg kg⁻¹ y para Zn desde 246 hasta 1,555 mg kg⁻¹ (Tabla 6).

Tabla 6. Concentración total de metales en suelo rizosférico de *Nama sp.* para los puntos de muestreo P₅, P₆, P₇, P₈ y P₉

Concentración total de metales en suelo rizosférico (mg kg⁻¹)					
	P₅	P₆	P₇	P₈	P₉
As	1285.25 ± 66.11 ^a	1146 ± 50.91 ^a	914 ± 40.30 ^b	56.92 ± 0.03 ^d	566.75 ± 0.35 ^c
Cd	58.42 ± 2.08 ^a	59.52 ± 2.298 ^a	65.1 ± 14.7 ^a	2.95 ± 0.10 ^c	30.54 ± 0.25 ^b
Fe	18222.5 ± 2506 ^a	16382.5 ± 17 ^a	15292.5 ± 39 ^a	5425 ± 77. 8 ^b	15510 ± 523.25 ^a
Pb	6465 ± 254 ^b	9225 ± 275 ^a	322.87 ± 85 ^d	382.07 ± 0.74 ^d	2415 ± 22.62 ^c
Zn	1555.75 ± 56.21 ^a	1508.5 ± 1.41 ^a	1551.5 ± 26.16 ^a	246.6 ± 18.38 ^c	1369 ± 3.53 ^b

Diferentes letras indican diferencias estadísticamente significativas entre puntos de muestreo (P < 0.05)

Con respecto a las concentraciones totales del suelo rizosférico de *Nama sp.* se observaron diferencias estadísticamente significativas entre todos los puntos de muestreo (Tabla A.15, ANEXO II). En algunos casos como en el As Cd y Pb se encontraron incrementos de hasta 22.5, 22 y 20 veces más respectivamente. Siendo P₅, ubicado sobre los residuos mineros, el que registró la mayor concentración. En contraste en P₈ se registraron las menores concentraciones, siendo este un punto ubicado 470 metros aguas abajo sobre el cauce del arroyo intermitente, en una zona identificada en campo como zona de amortiguamientos de DAR.

De acuerdo con los valores establecidos en la NOM-147-SEMARNAT/SSA1-2004, las concentraciones totales de referencia para As, Cd y Pb son 22, 37 y 400 mg kg⁻¹ respectivamente,

para un suelo con fines de uso agrícola/residencial y comercial y para uso industrial 260, 450 y 800 mg kg⁻¹ respectivamente. Los resultados mostraron que las concentraciones de As y Pb para ambas especies vegetales se encuentran por arriba de los límites establecidos para suelos de uso agrícola y estos podrían, en función de su movilidad, imponer un gradiente positivo que favorecería su difusión libre hacia las plantas llegándose inclusive a acumular en los tejidos vegetales de las plantas.

6.2.3 Movilidad de EPT en presencia de una solución de ácidos orgánicos de bajo peso molecular

***Asphodellus fistulosus* L.**

Debido a los resultados anteriores, es importante analizar la movilidad a la que pueden estar sujetos los diferentes EPT en condiciones de soluciones de suelo inmediata a la rizósfera, considerando una solución modelo de ácidos orgánicos de bajo peso molecular y que en esta tesis es referida como la concentración fitoaccesible. En este sentido, el elemento con mayor abundancia fue el Zn. Sus concentraciones fluctuaron desde 1299 hasta 1357 mg kg⁻¹, siendo P₄ (93.15% fitoaccesible) (Tabla A.1, ANEXO I) el punto de muestreo donde más se concentra este elemento en comparación con P₂ (26.75% fitoaccesible) (Tabla A.1, ANEXO I). Las concentraciones de Pb oscilaron desde 45 hasta 275 mg kg⁻¹, concentrándose en P₂ (3.91% fitoaccesible) (Tabla A.1, ANEXO I) en comparación con P₄ (1.05% fitoaccesible) (Tabla A.1, ANEXO I). Para el Cd el porcentaje de fitoaccesibilidad de este elemento en suelo rizosférico fue mayor en P₄ (76.71%) (Tabla A.1, ANEXO I) en comparación con P₂ (53.2% fitoaccesible) (Tabla A.1, ANEXO I) y sus concentraciones fluctuaron entre los 35 mg kg⁻¹. Las concentraciones de As oscilaron desde 6.5 hasta 11.5 mg kg⁻¹, los porcentajes de fitoaccesibilidad para este elemento fueron 1.65% en P₄ (Tabla A.1, ANEXO I) y 0.76% en P₂ (Tabla A.1, ANEXO I), mientras que para Fe fue de 0.04% en P₂

(Tabla A.1, ANEXO I) y 0.03% en P₄ (Tabla A.1, ANEXO I) y sus concentraciones fluctuaron desde 5 hasta 9.5 mg kg⁻¹. La Tabla 7 muestra las concentraciones fitoaccesibles de As, Cd, Fe, Pb y Zn en suelo rizosférico, movilizados por una solución de ácidos orgánicos de bajo peso molecular.

Tabla 7. Concentración fitoaccesible de metales en suelo rizosférico de *A. fistulosus* movilizados por una solución de ácidos orgánicos para los puntos de muestreo P₂ y P₄

	Concentración fitoaccesible de metales en el suelo rizosférico (mg kg ⁻¹)	
	P ₂ (8.27)	P ₄ (8.42)
As	6.56 ± 1.50 ^b	11.5 ± 0.70 ^a
Cd	37.25 ± 0.17 ^a	32.75 ± 1.06 ^b
Fe	9.5 ± 4.06 ^a	5.06 ± 1.67 ^a
Pb	275.5 ± 34.82 ^a	45.25 ± 13.43 ^b
Zn	1299.4 ± 43.31 ^a	1357.5 ± 72.47 ^a

Diferentes letras indican diferencias estadísticamente significativas entre puntos de muestreo (P < 0.05). El valor entre paréntesis corresponde al valor de pH del suelo rizosférico como una referencia.

Los resultados obtenidos en la sección 6.2.2 y a los observados en la concentración fitoaccesible en el suelo rizosférico de *A. fistulosus*; se encontró que la concentración total y fitoaccesible de Pb siempre es mayor en P₂; en comparación con P₄ (Tablas A.4 y A.5, ANEXO II).

De acuerdo a lo observado por Ortega (2012); la fitoaccesibilidad de Pb disminuye aguas abajo con respecto al arroyo intermitente San Pedro; esto podría deberse a que el Pb suele presentarse en formas químicas insolubles en el suelo. Antosiewicz *et al.* (2008); estima que el 90% del Pb por las plantas queda fuertemente retenido en la raíz (cf. Sección 6.3.1), sin embargo aun cuando no relacionan los mecanismos que pueden estar presentes, mencionan que no se encuentran disponibles porque su estabilización está relacionada a procesos de precipitación química extraparietal. En consecuencia, el término de bioacumulación para el plomo podría confundirse con un proceso de retención física y de entrapamiento en la raíz que no tendría repercusiones en la disponibilidad del elemento al interior de las plantas.

Por otro lado, se sabe que la biodisponibilidad del As puede estar influenciada por la exudación de compuestos orgánicos y de otros elementos que se encuentren presentes en el suelo (Antosiewicz *et al.*, 2008). Los resultados mostraron que la baja movilidad del As en los puntos de muestreo P₂ y P₄; puede estar influenciada por la presencia de fases primarias estables de arsénico y una mayor estabilización de las fases de óxidos e hidróxidos de hierro que pueden retener el arsénico mediante adsorción específica o co-precipitación en fases cristalina de estos óxidos, lo anterior asociado a las características de los puntos del muestreo que corresponden a una pendiente abrupta en donde el tiempo de retención de agua es relativamente corto comparado con otros puntos dentro del sitio en el que la pendiente es suave o nula.

Aunque no se encontraron diferencias estadísticamente significativas entre P₂ y P₄ con respecto al Zn; la concentración total de dicho elemento es 3.3 veces mayor en P₂ que en P₄.

Nama sp.

Los resultados mostraron que el comportamiento de As es similar en P₅, P₆, P₇ y P₉, sus concentraciones fitoaccesibles fluctuaron desde 1.56 hasta 4.56 mg kg⁻¹ mientras que P₈ registró la concentración más alta para este elemento e igual a 28 mg kg⁻¹ que corresponde a un porcentaje de fitoaccesibilidad de 49.2% (Tabla A.2, ANEXO I). En lo que se refiere a las concentraciones de cadmio se observó similitud entre P₆, P₇ y P₈; sus concentraciones oscilaron desde 0.35 hasta 1.75 mg kg⁻¹; P₉ registró el porcentaje de fitoaccesibilidad más alto (69.3% fitoaccesible) (Tabla A.2, ANEXO I) que corresponde a una concentración fitoaccesible de 21.17 mg kg⁻¹. En el caso del hierro los porcentajes de fitoaccesibilidad fueron de 0.03 hasta 0.07% (Tabla A.2, ANEXO I), sus concentraciones fluctuaron desde 3.25 hasta 11.75 mg kg⁻¹. Asimismo las concentraciones de Pb y Zn presentaron un comportamiento similar en P₅, P₆ y P₇; siendo P₅ el punto de muestreo que registró las concentraciones más altas de Pb y Zn, 32.37 mg kg⁻¹ (0.5% fitoaccesible) (Tabla A.2,

ANEXO I) y 149 mg kg⁻¹ (9.6% fitoaccesible) (Tabla A.2, ANEXO I) respectivamente. Mientras que P₇ registró el porcentaje de fitoaccesibilidad más alto 7.2% que corresponde a una concentración de 75 mg kg⁻¹ (Tabla A.2 ANEXO I). El resumen de las concentraciones fitoaccesibles de metales en suelo rizosférico movilizados por una solución de ácidos orgánicos de bajo peso molecular se muestran en la Tabla 8.

Tabla 8. Concentración fitoaccesible de metales en suelo rizosférico de *Nama* sp. movilizados por una solución de ácidos orgánicos para los puntos de muestreo P₅, P₆, P₇, P₈ y P₉

	Concentración fitoaccesible de metales en suelo rizosférico (mg kg ⁻¹)				
	P ₅ (7.77)	P ₆ (7.66)	P ₇ (7.72)	P ₈ (7.71)	P ₉ (7.1)
As	4.43 ± 0.26 ^b	1.56 ± 0.97 ^c	1.81 ± 0.44 ^{cb}	28 ± 0.53 ^a	4.56 ± 0.61 ^b
Cd	1.75 ± 0.21 ^b	0.8 ± 0.28 ^c	0.6 ± 0.14 ^c	0.35 ± 0.07 ^c	21.18 ± 0.10 ^a
Fe	6.25 ± 0.17 ^a	11.75 ± 8.66 ^a	6.87 ± 2.12 ^a	3.25 ± 0.53 ^a	10.75 ± 1.76 ^a
Pb	32.37 ± 1.41 ^a	18.81 ± 0.97 ^b	23 ± 4.06 ^{ba}	7.5 ± 0 ^c	23.06 ± 3.09 ^{ba}
Zn	149 ± 4.24 ^a	59.8 ± 0.4242 ^{cb}	75 ± 5.65 ^b	1.2 ± 0.28 ^d	38.8 ± 13.57 ^c

Diferentes letras indican diferencias estadísticamente significativas entre puntos de muestreo (P < 0.05). El valor entre paréntesis corresponde al pH del suelo rizosférico como una referencia

Los resultados en la sección 6.2.2 y la concentración fitoaccesible en el suelo rizosférico de *Nama* sp., mostraron diferencias estadísticamente significativas entre los puntos de muestreo para As, Cd, Pb y Zn (Tablas A.15 y A.16, ANEXO II).

De acuerdo con Antosiewicz et al. (2008) y Cieśliński y Van-Ress (1998); el ácido cítrico, málico y oxálico mejoran la movilización del P; debido a la similitud geoquímica entre el As y el P en el suelo, estos pueden aumentar la movilización de As en la rizósfera. En lo que se refiere a la fitoaccesibilidad del As en los suelos rizosféricos de *Nama* sp., puede observarse que al igual que en *A. fistulosus*; el As podría encontrarse asociado a oxi-hidroxidos de hierro; más o menos estables asociados al grado de estabilidad o cristalinidad de estas fases, que en el caso del punto P₈, es el lugar en el que se encuentra más fitoaccesible (49,2%) (Tabla A.2, ANEXO I) y podría estar relacionado con la ubicación física del lugar que corresponde a una zona de amortiguamiento de

DAR en el centro del cauce del arroyo San Pedro, lo anterior correspondería preferentemente a sedimento recientes asociados preferentemente con el arrastre de neoformaciones de los precipitados de oxi-hidróxidos de hierro en la zona de mayor energía del arroyo. Siendo esta la características singular del punto de muestreo con respecto a los demás que se encuentran al pie de los residuos mineros, en los bordes de los residuos o en el borde contrario al depósito de los residuos.

Con respecto a la concentración fitoaccesible del Cd en los suelos rizosféricos de *Nama* sp., puede observarse; que la fitoaccesibilidad de dicho elemento tiende a disminuir aguas abajo con respecto al cauce del arroyo San Pedro; a excepción de P₉. De acuerdo con Ortega (2012), el incremento en la concentración fitoaccesible de Cd en P₉; puede deberse a que este se encuentra asociado a fases solubles en agua en agua meteórica y carbonatos, ya que Ortega (2012) asoció que el fraccionamiento mineralógico tiende a fracciones de mayor movilidad conforme se aleja de la fuente de residuos.

De acuerdo con Antosiewicz *et al.* (2012) y a lo observado en *A. fistulosus*; la bioacumulación del Pb en la raíz puede confundirse con un proceso de retención física que no está relacionada con algún mecanismo relacionado con la disponibilidad de este elemento al interior de las plantas. Con respecto a la concentración fitoaccesible del Pb en el suelo rizosférico de *Nama* sp., y a lo reportado por Ortega (2012) el Pb podría encontrarse asociado, al igual que el Cd, a fracciones solubles en agua meteórica y carbonatos; es decir que *Nama* sp. puede absorber Cd y Pb a través de la raíz y estos elementos podrían ser traslocarlos hacia la parte aérea de la planta debido a que se encuentran en el suelo rizosférico asociados a fases mineralógicas sensibles a la solubilización por la acidificación del medio circundante (cf. Sección 6.3.1).

El análisis de la movilidad de EPT en el suelo rizosférico, de *Asphodellus fistulosus* y *Nama* sp. permite entender la relación entre la concentración fitoaccesible y la concentración bioacumulada

en los tejidos vegetales; y asimismo discernir el efecto del Cd, Pb y Zn principalmente, sobre la fisiología y anatomía de ambas especies vegetales (cf. Sección 6.3.3).

6.3 ANÁLISIS ECOFISIOLÓGICO E HISTOLÓGICO

6.3.1 Determinación del contenido total de metales bioacumulados en el tejido vegetal

La concentración total de EPT bioacumulados en el tejido vegetal se consideró como una variable importante en la realización de este trabajo. Se utilizó para conocer el grado absorción y de acumulación de estos elementos, asimismo permitió comprender el efecto negativo que las concentraciones excesivas pueden tener en el tejido vegetal.

***Asphodellus fistulosus* L.**

El comportamiento en la concentración de As, Cd, Fe y Pb en hojas mostró similitud en los puntos de muestreo P₂ y P₄; en P₄ se observó un incremento de Zn en las hojas (301.37 mg kg⁻¹) en comparación con P₂ (Tabla 9).

Los resultados correspondientes a la concentración de metales bioacumulados en los tallos mostraron que As se concentró en P₂ (3.16 mg kg⁻¹) no así en P₄, la concentración de Cd y Pb fueron invariantes con respecto al punto de muestreo y se encontraron entre 3.3 y 3.7 mg kg⁻¹ y 26.1 y 29.8 respectivamente También se observaron diferencias estadísticamente significativas entre P₂ y P₄, con respecto a la concentración bioacumulada de Zn en los tallos de *A. fistulosus*. (Tabla 9).

Las concentraciones de Fe, Pb y Zn bioacumulados en las raíces de *A. fistulosus* mostraron diferencias estadísticamente significativas entre puntos de muestreo; siendo P₂ el punto de muestreo donde se concentraron estos elementos (1374, 76.4 y 78.1 mg kg⁻¹ respectivamente) (Tabla 9).

Tabla 9. Concentración de metales bioacumulados en la biomasa de *A. fistulosus* para los puntos de muestreo P₂ y P₄

Concentración de metales en hojas (mg kg⁻¹)		
	P₂	P₄
As	0.94 ± 0.20 ^a	1.26 ± 0.59 ^a
Cd	15.53 ± 0.45 ^a	17.38 ± 0.41 ^a
Fe	121.12 ± 6.76 ^a	79.1 ± 2.26 ^a
Pb	6.19 ± 0.007 ^a	8.41 ± 2.28 ^a
Zn	170.7 ± 0.95 ^b	301.37 ± 3.64 ^a

Concentración de metales en tallos (mg kg⁻¹)		
	P₂	P₄
As	3.16 ± 0.17 ^a	0.1 ± 0 ^b
Cd	3.28 ± 0.38 ^a	3.7 ± 0.11 ^a
Fe	64.15 ± 11.36 ^a	99.77 ± 10.21 ^a
Pb	26.15 ± 1.95 ^a	29.85 ± 3.36 ^a
Zn	189.5 ± 19.09 ^a	128.95 ± 0.07 ^b

Concentración de metales en raíces (mg kg⁻¹)		
	P₂	P₄
As	29.51 ± 10.30 ^a	11.74 ± .7035 ^a
Cd	1.80 ± 0.0260 ^a	1.96 ± 0.0565 ^a
Fe	1374.53 ± 101.07 ^a	618.75 ± 6.61 ^b
Pb	76.40 ± 0.2037 ^a	50.3 ± 5.2325 ^b
Zn	78.1 ± 2.5147 ^a	46.62 ± 0.9545 ^b

Diferentes letras indican diferencias estadísticamente significativas entre puntos de muestreo (P < 0.05)

Hasta el momento, en este documento, se han descrito algunos de los factores que limitan la disponibilidad y movilidad de los EPT tales como pH; concentración total y fitoaccesible de EPT en el suelo rizosférico de *A. fistulosus*. Considerando las concentraciones totales (20231 mg kg⁻¹) y fitoaccesibles (9.5 mg kg⁻¹) del Fe y del Pb (7027.92 y 275.5 mg kg⁻¹, respectivamente); se puede concluir que tanto el Fe como el Pb quedan retenidos en la raíz; debido principalmente a procesos de estabilización que podrían inducir precipitaciones de oxi-hidroxidos para el caso de hierro y precipitación y co-precipitación de fases secundarias de sulfatos de plomo, asociadas a los equilibrios de disolución de fases carbonatadas, transformaciones de fases mineralógicas menos solubles, y precipitaciones en la zona extraradicular de la rizosfera asociado al entrapamiento físico de precipitados coloidales de dichos elementos. En contraste con el Fe y el Pb, se encuentran el Cd y el Zn; las concentraciones fitoaccesible del Cd (32.75 mg kg⁻¹) y del Zn (1357.5 mg kg⁻¹), así

como los porcentajes de fitoaccesibilidad para cada uno (Cd 76.71% y Zn 93.12%). Estos elementos no son favorecidos con respecto a sus valores de K_{ps} para la precipitación y/o co-precipitación como hidróxidos o carbonatos de los mismos, y aun cuando podría presentarse su precipitación preferentemente como carbonatos, éstos tienden a formar complejos con grupos carboxílicos. Por lo anterior, su precipitación como carbonatos o hidróxidos estaría condicionada al equilibrio con otros grupos funcionales presentes en la solución intersticial, en los presentes en las paredes radicales y en los transportadores de las membranas, o inclusive su transporte intracelular podría ser favorecido a través de canales iónicos por difusión simple. En este sentido, la movilidad y la estabilidad de especies en solución de estos elementos es más probable que la observada en Fe y Pb, de tal forma que las concentraciones bioacumuladas en las hojas de *A. fistulosus* para Cd 17.38 mg kg⁻¹ y para Zn 301.37 mg kg⁻¹ podrían estar justificadas a través de los mecanismos anteriormente sugeridos. De acuerdo con los valores establecidos para una planta estándar de referencia (PER) (Tabla 1), *A. fistulosus* podría considerarse una especie vegetal hiperacumuladora de Cd; debido a su capacidad para acumular 347.6 veces más la concentración de Cd bioacumulada en hojas (0.05 mg kg⁻¹). Con respecto al Zn, acumula 6.02 veces más la concentración establecida en la PER (50 mg kg⁻¹)

Con respecto al As; los resultados permitieron concluir que independientemente de la producción de ácidos orgánicos en las rizósfera, asociada a la actividad biológica de *A. fistulosus*, éste tiende a quedarse retenido en las partículas del suelo. Este comportamiento del arsénico, es contrario a lo observado por otros investigadores para el caso de la movilidad del fósforo (Antosiewicz *et al.*, 2008) y con el que se ha establecido una analogía química. La diferencia en el comportamiento del arsénico podría estar relacionada a la retención de arsénico en fases de oxihidróxidos de hierro, descritos para puntos aledaños por Ortega (2012). Lo anterior, también puede explicar la baja movilidad observada en los suelos rizosféricos con las soluciones LMWOA, y en consecuencia la baja bioacumulación en las partes aéreas de *A. fistulosus*, con respecto a otros

elementos presentes en el sistema estudiado (Cd, Zn). A pesar de esta baja bioacumulación en las partes aéreas, los valores determinados se encuentran ca. entre 17 a 52 veces por arriba de las concentraciones establecidas como “normales” por Kabata-Pedias (2011). Si se considera la parte de la parte “bioacumulada” en la raíz puede alcanzar hasta 420 veces la concentración “normal”. Debido a la analogía que el As comparte con el P; las concentraciones de arsénico en la parte aérea, no permiten descartar la posible influencia de alteraciones en la respuesta fotosintética de *A. fistulosus*; que podrían verse reflejadas en las respuesta de los mecanismos de fosforilación y fotofosforilación (Tablas A.6, A.7 y A.8, ANEXO II).

Nama sp.

Las concentraciones bioacumuladas en las hojas de *Nama sp.* mostraron que la concentración de As fluctuó desde 3.79 hasta 19.03 mg kg⁻¹, Fe desde 342.32 hasta 1847 mg kg⁻¹, Pb desde 12.83 hasta 95.07 mg kg⁻¹, siendo P₅ el punto de muestreo donde se concentraron estos elementos; en lo que corresponde al Zn este elemento se comportó de manera similar en los puntos P₆ y P₇, sus concentraciones totales fluctuaron desde 39.92 hasta 543.5 mg kg⁻¹. Con respecto al Cd, los resultados mostraron diferencias estadísticamente significativas entre los puntos de muestreo, sus concentraciones oscilaron entre 0.75 y 11.56 mg kg⁻¹ siendo P₉ el punto de muestreo donde se concentró este elemento; de acuerdo a los resultados obtenidos en la sección 6.2.3, se observó que el Cd se encuentra fitoaccesible (69.4%) (Tabla A.2, ANEXO I); lo cual indicaría su posible traslocación hacia la parte aérea de las plantas que se encuentran creciendo en este punto (Tabla 10).

Los resultados de la concentración bioacumulada en los tallo mostró que el comportamiento del As fue similar entre P₅, P₆ y P₈, las concentraciones de As oscilaron desde 1.74 hasta 6.9 mg kg⁻¹, los resultados obtenidos en la sección 6.2.3 mostraron que el As en P₈ se encuentra fitoaccesible

(49.2%) (Tabla A.2 ANEXO I); con respecto al Cd las concentraciones fluctuaron desde 0.58 hasta 6.98 mg kg⁻¹; mientras que para Fe oscilaron entre 119.87 hasta 44,450 mg kg⁻¹, siendo P₇ el punto de muestreo que bioacumula más Fe en el tallo, una posible retención física de este elemento en el tallo, podría confundirse con su bioacumulación en este tejido; el Pb mostró un comportamiento similar en P₆ y P₉, sus concentraciones fluctuaron desde 19.35 hasta 202.5 mg kg⁻¹, siendo P₇ el punto de muestreo donde este elemento se concentró en los tallos de *Nama* sp., en lo que corresponde al Zn, los resultados mostraron similitud entre P₅ y P₈ su concentración fluctuó entre 45.95 y 641.3 mg kg⁻¹ (Tabla 10).

El elemento con mayor abundancia en las raíces de *Nama* sp. fue el Fe, sus concentraciones fluctuaron desde 466.27 hasta 28,700 mg kg⁻¹, siendo P₇ el punto de muestreo donde este elemento se concentró; de acuerdo a los resultados obtenidos en la sección 6.2.3, se observó que los porcentajes de fitoaccesibilidad para este elemento son relativamente bajos (0.03%), por lo que podría sugerirse que la bioacumulación de este elemento en las raíces puede deberse, como se ha mencionado anteriormente, a una retención física y entrapamiento de material particulado en la raíz. Las concentraciones de As y Cd mostraron similitud en P₅ y P₆; en Pb se encontró similitud entre P₅ y P₈ al igual que P₆ y P₇. Las concentraciones de As fluctuaron desde 0.1 hasta 9.99 mg kg⁻¹, Cd desde 0.64 hasta 2.04 mg kg⁻¹ Pb desde 32.55 hasta 92.99 mg kg⁻¹. Con respecto al Zn, los resultados mostraron diferencias estadísticamente significativas entre los puntos de muestreo, las concentraciones de este elementos oscilaron entre 18.17 hasta 175.97; siendo P₉ el punto de muestreo donde este elemento se concentró (Tabla 10).

Tabla 10. Concentración de metales bioacumulados en la biomasa de *Nama* sp. para los puntos de muestreo P₅, P₆, P₇, P₈ y P₉

Concentración de metales en hojas (mg kg ⁻¹)					
	P ₅	P ₆	P ₇	P ₈	P ₉
As	19.03 ± 5.25 ^a	9.68 ± 0.58 ^{bc}	13.34 ± 0.96 ^{ba}	4.69 ± 0.23 ^{dc}	3.79 ± 0.04 ^d
Cd	5.67 ± 0.02 ^c	4.25 ± 0.01 ^d	6.69 ± 0.31 ^b	0.75 ± 0 ^e	11.56 ± 0.05 ^a
Fe	1847 ± 53.74 ^a	1283.23 ± 7.12 ^b	1774 ± 55.15 ^a	342.32 ± 29.45 ^c	430.2 ± 7.07 ^c
Pb	95.07 ± 5.40 ^a	63.32 ± 0.31 ^c	75.57 ± 3.28 ^b	12.83 ± 1.52 ^e	23.04 ± 0.39 ^d
Zn	354.3 ± 0.77 ^b	261.5 ± 0.42 ^c	269.02 ± 9.43 ^c	39.92 ± 1.82 ^d	543.5 ± 3.53 ^a

Concentración de metales en tallos (mg kg ⁻¹)					
	P ₅	P ₆	P ₇	P ₈	P ₉
As	1.74 ± 0.13 ^{cb}	1.76 ± 0.15 ^b	6.56 ± 0.33 ^a	1.29 ± 0.007 ^c	6.9 ± 0.07 ^a
Cd	0.90 ± 0.02 ^c	1.14 ± 0.03 ^c	2.97 ± 0.05 ^b	0.58 ± 0.05 ^d	6.98 ± 0.27 ^a
Fe	119.87 ± 7.24 ^c	137.07 ± 16.44 ^c	44450 ± 1343.5 ^a	23970 ± 410.12 ^b	238.5 ± 3.39 ^c
Pb	19.35 ± 1.23 ^d	24.31 ± 3.08 ^{dc}	202.5 ± 2.47 ^a	40.05 ± 0.92 ^b	29.53 ± 2.9 ^c
Zn	45.95 ± 1 ^d	61.65 ± 2.12 ^c	373 ± 2.54 ^b	37.52 ± 0.11 ^d	641.3 ± 22.48 ^a

Concentración de metales en raíces (mg kg ⁻¹)					
	P ₅	P ₆	P ₇	P ₈	P ₉
As	4.99 ± 0.31 ^b	5.1 ± 0.14 ^b	9.99 ± 1.98 ^a	0.1 ± 0 ^d	1.4 ± 0 ^c
Cd	0.93 ± 0.053 ^c	0.84 ± 0.01 ^c	2.04 ± 0.11 ^a	0.64 ± 0.02 ^d	1.30 ± 0.02 ^b
Fe	466.27 ± 32.98 ^e	3333 ± 41.01 ^b	28700 ± 282.84 ^a	1338 ± 65.05 ^d	2449 ± 46.66 ^c
Pb	54.32 ± 6.47 ^b	92.29 ± 1.15 ^a	78.57 ± 3.92 ^a	59.12 ± 0.5 ^b	32.55 ± 2.39 ^c
Zn	43.02 ± 2.49 ^d	100.13 ± 8.30 ^c	127.39 ± 9.03 ^b	18.17 ± 0.43 ^e	175.97 ± 7.7 ^a

Diferentes letras indican diferencias estadísticamente significativas entre puntos de muestreo (P < 0.05)

Al igual que en *A. fistulosus*, las concentraciones totales y fitoaccesibles en el suelo rizosférico de *Nama* sp., muestran que el Fe podría quedarse retenido en la raíz, debido principalmente a los procesos de estabilización de los oxi-hidróxidos de hierro. Con respecto al Pb y como se había mencionado anteriormente este elemento podría estar siendo traslocado; debido a su asociación con fases mineralógicas sensibles a la solubilización por la acidificación del medio circundante. De acuerdo con las concentraciones bioacumuladas en las hojas de *Nama* sp. para Cd 5.67 mg kg⁻¹ y para Zn 354.3 mg kg⁻¹; se observó que tanto el Cd como el Zn pueden ser traslocalizados a la parte aérea mediante los mecanismos ya descritos para *A. fistulosus*. Con respecto a los valores establecidos en la Tabla 1 para una PER (planta estándar de referencia); se observó que *Nama* sp. tiene la capacidad de hiperacumular Cd, superando en promedio 113.4 veces más la concentración referida para Cd; mientras que Zn puede ser acumulado en promedio 10.87 veces más el valor referido. Con base a la concentración “normal” referida por Kabata-Pendias

(2011) (Tabla 1), *Nama* sp. a diferencia de *A. fistulosus* acumula 5.6 veces más Fe en sus hojas. Esta concentración “normal” es referida como aquella que se puede presentar antes de observar manchas necróticas en hojas, sin embargo, a pesar de que *Nama* sp, presentó concentraciones más elevadas no se observaron en campo este tipo de daño en hojas, lo que presupone que la especie vegetal tiene asociado algún mecanismo de tolerancia a este elemento (Tablas A.17, A.18 y A.19, ANEXO II).

En lo que se refiere al As, éste tiende a quedarse retenido en las partículas del suelo. De acuerdo con Ortega (2012) y como se ha mencionado anteriormente, la limitada disponibilidad del As en el suelo, así como su baja movilidad hacia la parte aérea de la planta, puede verse influenciada por la asociación del As a óxidos de Fe. En la sección 6.5.2 se observa que la concentración bioacumulada de Fe en el tallo, se ve fuertemente influenciada por la concentración fitoaccesible del As. Aunque poco se sabe de los efectos de este elemento sobre la fisiología y anatomía de las plantas vasculares; no se puede descartar su posible intervención principalmente en las reacciones donde intervenga el P; considerando que ambos elementos pueden ser absorbidos por las plantas a través del mismo sistema radical (Tablas A.17, A.18 y A.19, ANEXO II). Experimentalmente se ha observado en plantas cultivadas en sistemas hidropónicos que el exceso de P; afecta el crecimiento de la raíz, modificando la proporción entre la parte aérea y la raíz (Navarro y Navarro, 2003).

El efecto de la concentración bioacumulada sobre la fisiología y anatomía de *A. fistulosus* y *Nama* sp. será abordado en las secciones 6.3.2 y 6.3.3.

6.3.2 Cuantificación de pigmentos fotosintéticos

***Asphodellus fistulosus* L.**

Con respecto al análisis de pigmentos fotosintéticos los resultados mostraron que el comportamiento de la planta en P₁; es diferente a las plantas que se evaluaron en los otros puntos

de muestreo, registrándose en dicho punto las siguientes concentraciones: clorofila a $411.73 \mu\text{g g}^{-1}$; clorofila b $181.41 \mu\text{g g}^{-1}$ y clorofila total $595.17 \mu\text{g g}^{-1}$. Las concentraciones de clorofila a, b y total en las plantas de los puntos de muestreo P_2 , P_3 y P_4 mostraron concentraciones inferiores con P_1 (Tabla A.9, ANEXO II); y con respecto a clorofila a del orden de 2.5 a 5.7 veces, clorofila b de 2 a 3.7 veces y clorofila total de 2.4 a 5 veces (Figura 22).

De acuerdo con Azcón-Bieto y Talón (2008) y Site (2004), en condiciones “normales” la proporción de clorofila a siempre es mayor que la clorofila b (3:1); la planta del punto de muestreo P_1 presenta una relación de 2.3:1, la del punto de muestreo P_2 registró el valor más cercano a la relación e igual a dicha relación 2.78:1; mientras que las plantas con menores relaciones son las ubicadas en los puntos P_3 y P_4 ; las mostraron un comportamiento similar e igual a 1.44:1 y 1.92:1, respectivamente (Figura 23). Como se puede observar, la planta P_1 que se pretendía tomar como referencia de menor exposición, presentó déficit de clorofila a con respecto a los valores “normales”. Sin embargo; en esta tesis no fue posible dilucidar este comportamiento debido a que cuando se regresó al muestreo de biomasa para determinación de las concentraciones bioacumuladas de EPT, la planta ya no se encontró en el sitio. Además, no fue posible tomar muestras de suelo rizosférico, ya que este espécimen se encontraba ubicado entre material rocoso lo que imposibilitó el muestreo.

Problemas similares para la recolección de biomasa y suelo rizosférico se presentaron en el punto de muestreo P_3 , en donde debido a operaciones de mina asociadas a la construcción de caminos, el sitio de muestreo originalmente identificado había sido drásticamente modificado y las plantas del sitio habían sido arrancadas y eliminadas.

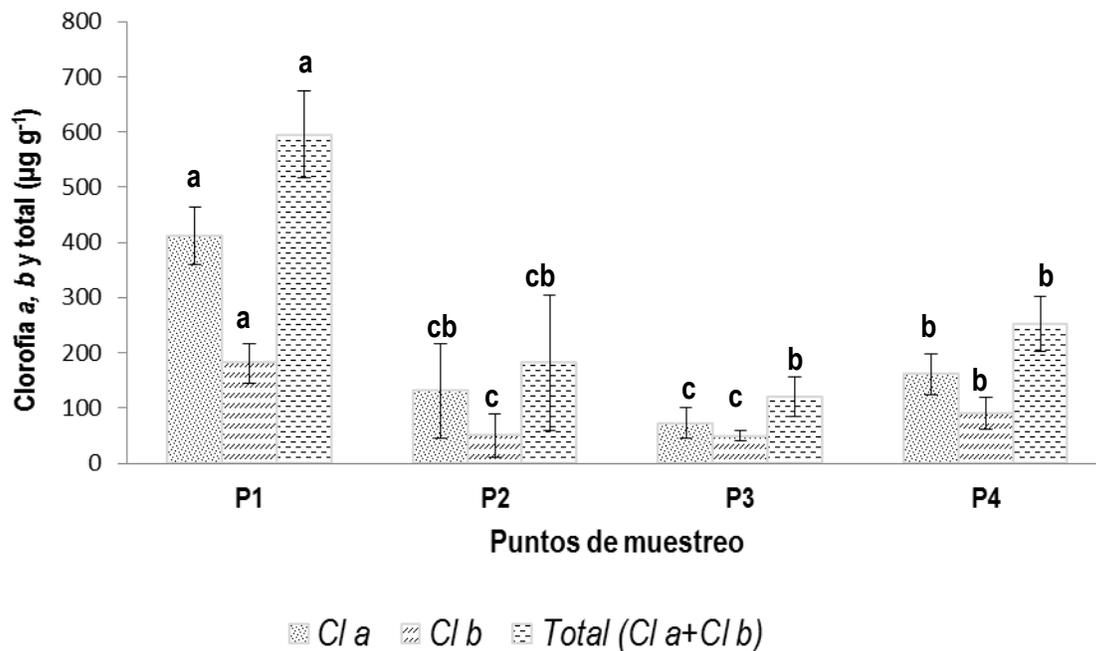


Figura 22. Concentración de pigmentos fotosintéticos en *A. fistulosus* para los puntos de muestreo P₁, P₂, P₃ y P₄. Diferentes letras indican diferencias estadísticamente significativas entre puntos de muestreo ($P < 0.05$)

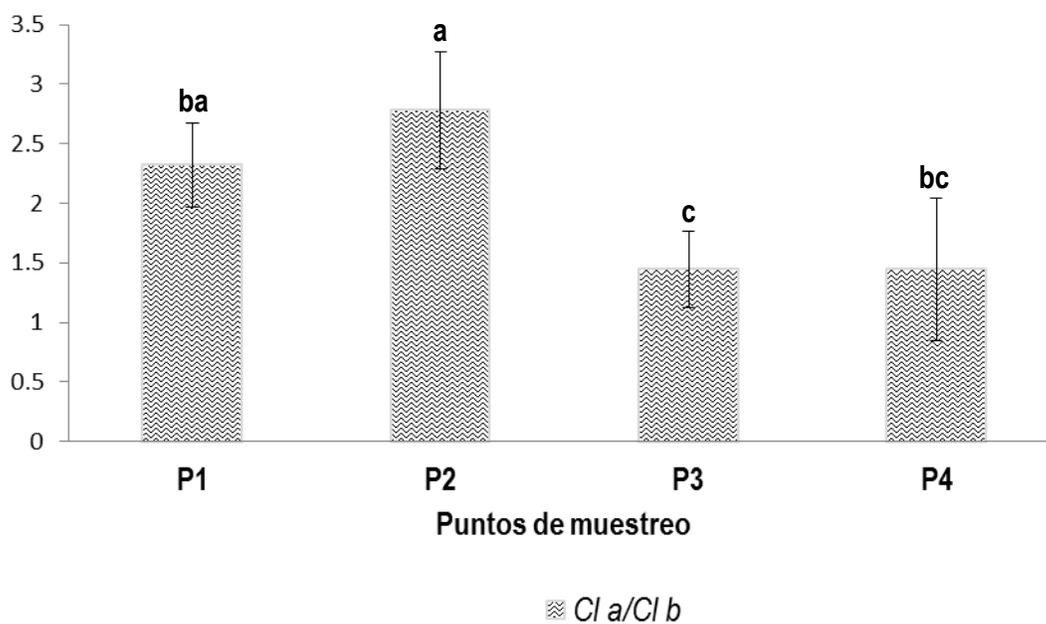


Figura 23. Relación clorofila a / clorofila b en *A. fistulosus* para los puntos de muestreo P₁, P₂, P₃ y P₄. Diferentes letras indican diferencias estadísticamente significativas entre puntos de muestreo ($P < 0.05$)

Nama sp.

Con respecto a los pigmentos fotosintéticos, en el caso de *Nama sp.* las plantas de los puntos de muestreo P₆, P₇ y P₈, mostraron un comportamiento similar en la concentración de clorofila a, clorofila b y clorofila total. Mientras que las plantas de los puntos de muestreo P₅ y P₉ mostraron un comportamiento completamente diferente con respecto a las demás plantas (Tabla A.20, ANEXO II). Siendo la planta del punto de muestreo P₅ el que registró las concentraciones más bajas de clorofila a, clorofila b y clorofila total (49.02, 15.52 y 65.17 µg g⁻¹ respectivamente) (Figura 24).

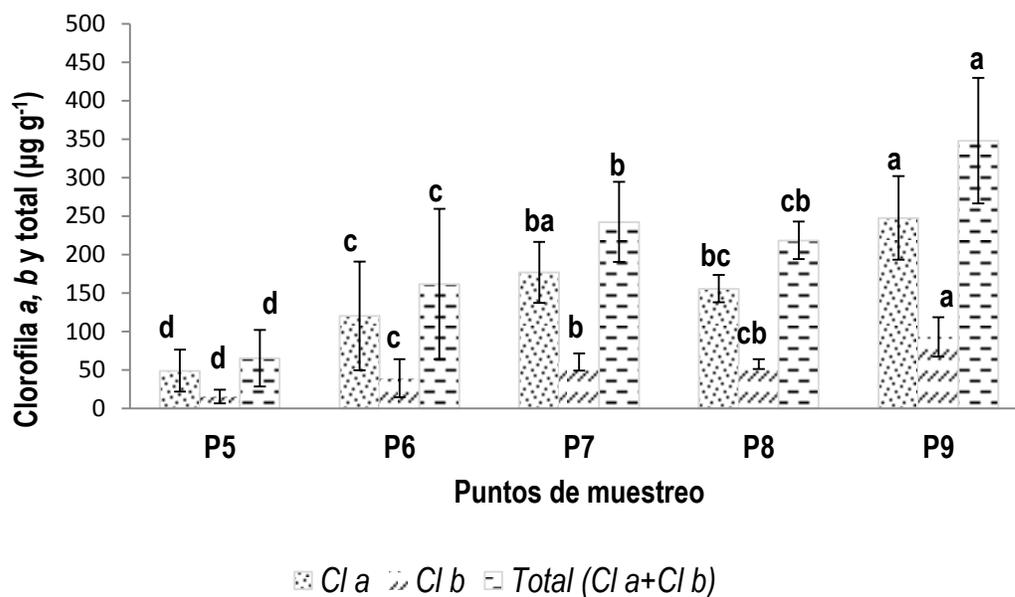


Figura 24. Concentración de pigmentos fotosintéticos en *Nama sp.* para los puntos de muestreo P₅, P₆, P₇, P₈ y P₉. Diferentes letras indican diferencias estadísticamente significativas entre puntos de muestreo ($P < 0.05$)

A pesar de que la relación de clorofila a:b en el P₅ es superior a la establecida como “normal” e igual a 3.3:1, es en este punto donde se presentaron las menores concentraciones de estos pigmentos fotosintéticos (Figura 25).

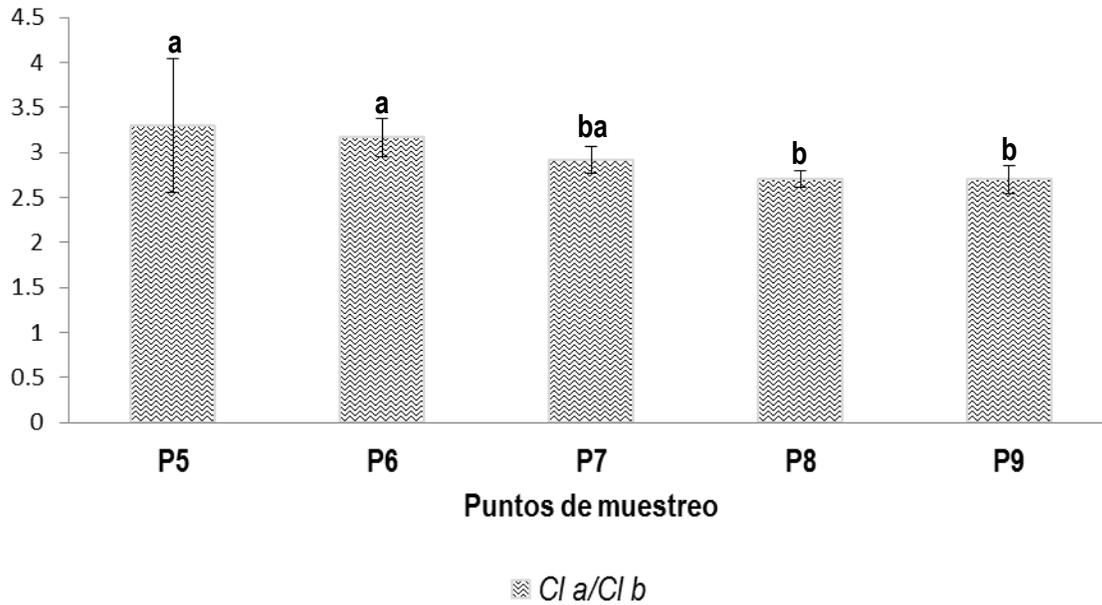


Figura 25. Relación clorofila a/clorofila b en *Nama* sp. para los puntos de muestreo P₅, P₆, P₇, P₈ y P₉. Diferentes letras indican diferencias estadísticamente significativas entre puntos de muestreo (P < 0.05)

Lo anterior podría estar relacionado principalmente al efecto de bioacumulación de elementos como Cd y Pb en las hojas de *Nama* sp. De acuerdo con los valores reportados por Kabata-Pendias (2011); las concentraciones de As, Cd, Pb y Zn superan 11, 28, 9.5 y 2.4 veces más a las concentraciones referidas por el autor. Por lo tanto, puede concluirse que la planta que se encuentra creciendo en P₅, puede manifestar síntomas visibles tales como clorosis, causada principalmente por la acumulación de Cd y Zn, lo cual fue constatado en las observaciones realizadas en campo. Sin embargo lo anterior no descarta que a pesar de la baja disponibilidad de hierro en el sustrato, la cantidad bioacumulada de este elemento en la planta y su relación con los otros elementos parece favorecer la relación de los pigmentos fotosintéticos 3.3, dicho valor no parece indicar que la planta se encuentre bajo estrés. No obstante, las cantidades sintetizadas de estos pigmentos en la planta recolectada del punto P₅, son muy inferiores con respecto a los otros puntos de muestreo y; específicamente con respecto al punto más alejado de la fuente es de 5, 5.9 y

5.3 veces inferior con respecto a clorofila a, b y total respectivamente. Lo anterior, podría estar relacionado con otras condiciones de campo que no fueron evaluadas en el presente estudio, como podría ser el efecto de la sombra (Cambrón-Sandoval *et al.*, 2011). Este efecto puede ser atribuido a la sombra asociada a la elevación de los residuos mineros y que podría influir en la radiación fotosintéticamente activa (PAR) que recibe la planta durante el día, que podría explicar parcialmente la disminución en el contenido de clorofila a, b y total con respecto a otra planta que crece en una zona de mayor PAR. Sin embargo, el incremento en la síntesis de clorofila esta reportado como una respuesta, al menos, al estrés lumínico. Ishii (1998) reportó que el contenido de clorofila es alto en condiciones de luminosidad baja, siendo esta respuesta una estrategia adaptativa para la captación eficiente de fotones para el desarrollo de la fotosíntesis bajo el régimen de baja intensidad de luz. El mismo autor, reportó que la relación de clorofila a y clorofila b es alta en las hojas de plantas con sombra, lo cual fue considerado también como una adaptación para conducir el proceso fotoquímico eficientemente, en plantas estresadas por deficiencia lumínica.

Además, de acuerdo a lo discutido para *A. fistulosus* la sustitución del Mg^{2+} por otros iones divalentes bioacumulados en hoja, podrían inactivar una fracción de la clorofila sintetizada por la planta de tal forma que se vea en la necesidad de incrementar el contenido de este pigmento. Lo anterior podría explicar las observaciones en campo, en donde la planta recolectada en el punto P₉ presentó déficit de hierro y la mayor concentración de Cd, Zn, y clorofila, siendo probablemente este un mecanismo de tolerancia a la exposición y bioacumulación de estos elementos,

Finalmente, como se mencionó anteriormente (cf. Sección 6.3.1) las elevadas concentraciones bioacumuladas de Pb como As podrían interferir también en las reacciones relacionadas con la captación y conversión de la energía luminosa.

Retomando los resultados obtenidos en la sección 6.3.1 y los reportados por Kabata-Pendias (2011); se observa que la acumulación de As, Cd, Pb y Zn podría tener un efecto sobre la respuesta fotosintética de *A. fistulosus* manifestándose principalmente en la disminución de la concentración de clorofila a, b y total. De acuerdo con los resultados obtenidos para los puntos de muestreo de *Nama* sp; podría plantearse la sustitución hipotética del Mg^{2+} en la molécula de clorofila por un ion divalente metálico como el Pb, Cd o el Zn. Si el sitio ocupado por el Mg^{2+} en la molécula de la clorofila fuese sustituido por un catión de mayor masa atómica (incrementos de 4, 10 y 20% en la masa molar cuando el Mg es sustituido por Zn, Cd o Pb, respectivamente), esto podría inactivar la clorofila debido a la variación configuracional o colapso estructural de la molécula (Figura 26) por modificación de la masa molar del complejo. Este mecanismo de toleración o respuesta a la exposición de la bioacumulación en hojas, podría verse reflejado en un incremento de la concentración de clorofila a como una respuesta a la inactivación de una fracción de la misma por sustitución del Mg^{2+} por Cd o Zn.

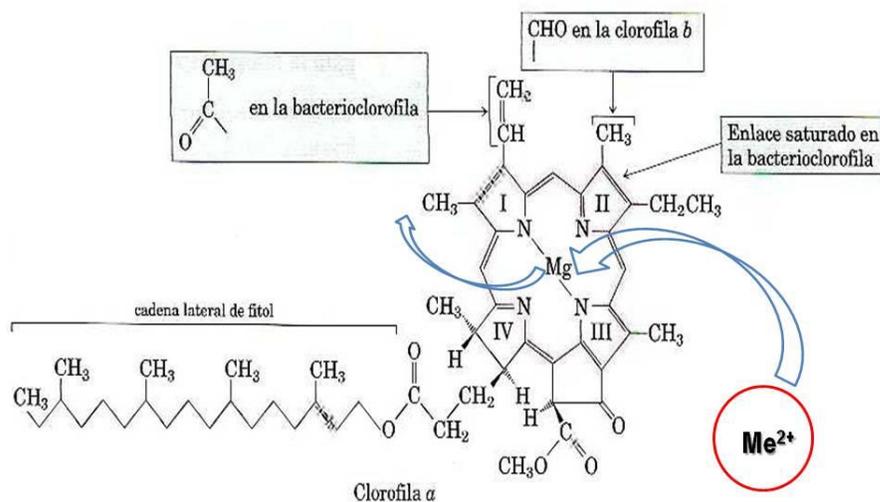


Figura 26. Estructura clorofila a; Me^{2+} sustitución del Mg^{2+} en la molécula de clorofila (Modificado de Nelson y Cox, 2006)

6.3.3 Histología

***Asphodellus fistulosus* L.**

Los resultados de los cortes longitudinales en las hojas de *A. fistulosus*, muestran diferencias estadísticamente significativas en la longitud de los vasos en las hojas ($n = 10$; $gl = 9$; $F = 42.94$; $P < 0.05$) siendo P_2 el punto de muestreo que presentó la mayor longitud en comparación con P_4 (Figura 27). Maruthi *et al.* (2007) y Luković *et al.* (2011), observaron que, en sistemas artificiales e hidropónicos respectivamente, las plantas tratadas con soluciones de $Zn(SO_4)7H_2O$ y $CdCl_2$ mostraron cambios en la estructura y función de las hojas (Tabla A.10, ANEXO II). En este trabajo, es importante remarcar que las observaciones se realizaron en campo con condiciones no controladas, observándose que para las plantas que se encuentran creciendo en P_4 , la disminución de la longitud de los vasos del xilema de las hojas disminuye ca. 1.8 veces con respecto a P_2 . Lo anterior podría atribuirse al incremento de la concentración bioacumulada de Zn en las hojas de P_4 con respecto a P_2 . Dicha concentración en P_4 resultó ser 1.8 veces superior a la cuantificada en P_2 , presentándose una relación inversa entre estos dos factores evaluados, lo cual no se ve reflejado cuando el análisis estadístico se realiza invariante a la especie vegetal.

Con respecto a los otros elementos (Pb, Cd y As) no se encontraron diferencias significativas de bioacumulación en las hojas (Tabla A.7, ANEXO II),

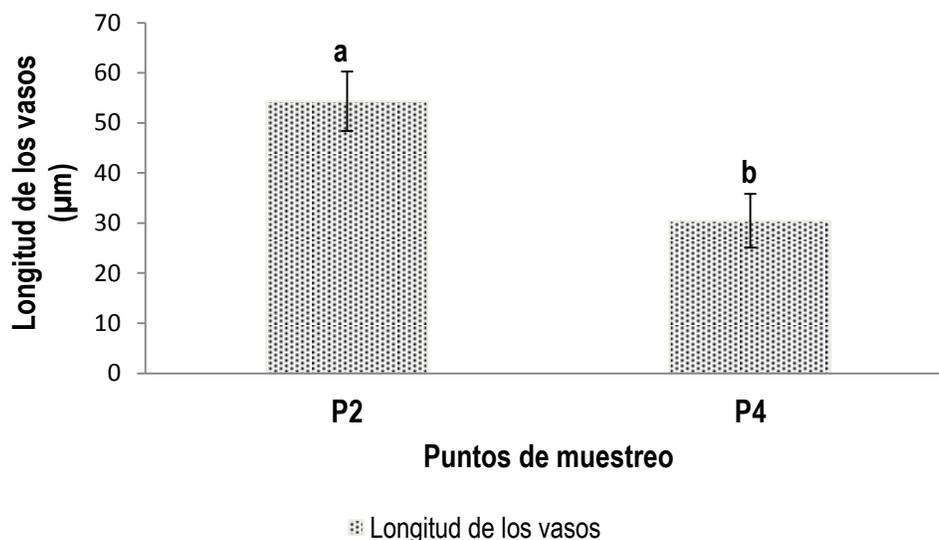
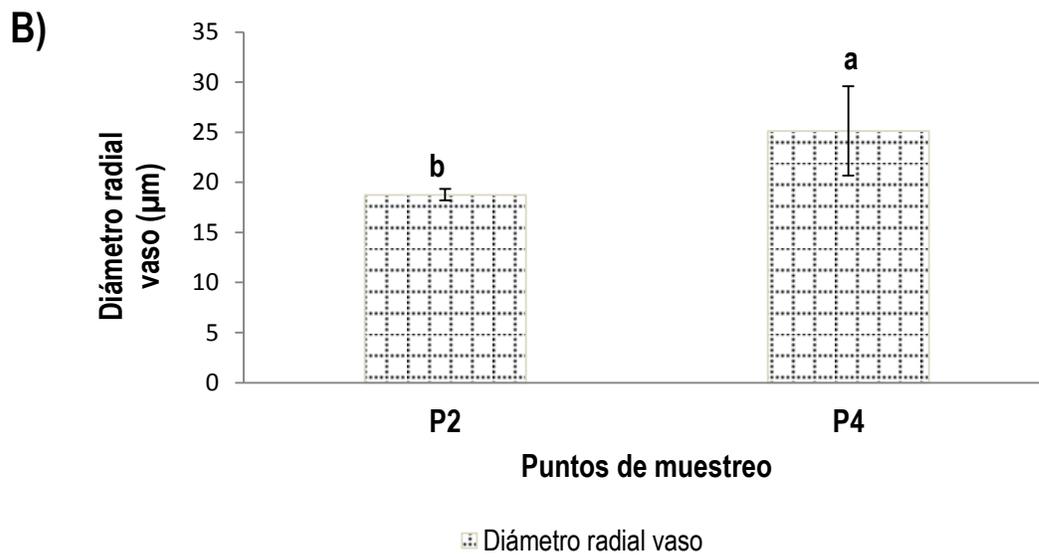
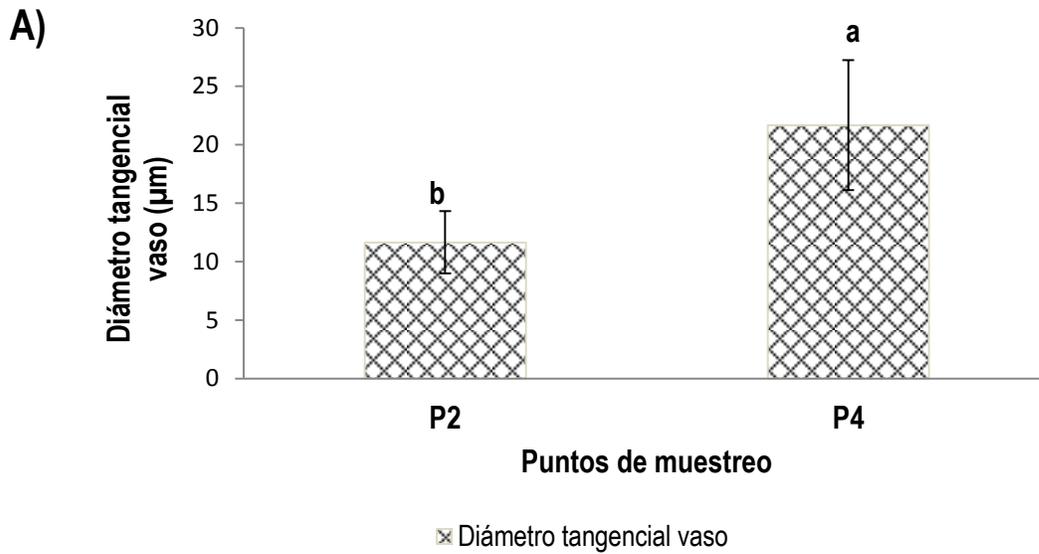


Figura 27. Variaciones anatómicas en los cortes longitudinales de hojas en *A. fistulosus* para los puntos de muestreo P₂ y P₄. Diferentes letras indican diferencias estadísticamente significativas entre puntos de muestreo ($P < 0.05$)

En los tallos se encontraron diferencias estadísticamente significativas en la dimensión de los diámetros tangenciales ($n = 10$; $gl = 9$; $F = 13.78$; $P < 0.05$), radiales ($n = 10$; $gl = 9$; $F = 9.78$; $P < 0.05$) y en las áreas interiores de los vasos ($n = 10$; $gl = 9$; $F = 30.77$; $P < 0.05$); siendo P₄ el punto de muestreo que presentó la mayor longitud en la dimensión de los diámetros tangencial (21.67 µm), radial (25.13 µm) y el área interior de los vasos (251.6 µm²), en comparación con P₂ (Figura 28) (Tabla A.12, ANEXO II). En la mayoría de las ocasiones el efecto de algunos EPT sobre la anatomía de las plantas vasculares se centra en hacer observaciones sobre las variaciones anatómicas en raíz y hojas. De acuerdo con los resultados obtenidos en la sección 6.3.1; puede atribuirse el alargamiento de los vasos que constituyen al xilema a las concentraciones de Cd, Pb y Zn bioacumulados en los tallos de las plantas que se encontraban creciendo en P₄ (Tabla A.8, ANEXO II). Con base en los resultados obtenidos, puede plantearse hipotéticamente que la xilogenesis prematura; que se observa en los tallos de las plantas que pertenecen a este punto de muestreo podría favorecer la traslocación de Cd y Zn hacia la parte aérea de *A. fistulosus*, tal como se observa

en el gradiente de concentraciones de P₄ (Tabla 9, cf. Sección 6.3.1) y que podría estar asociado al transporte mediante procesos de difusión simple.



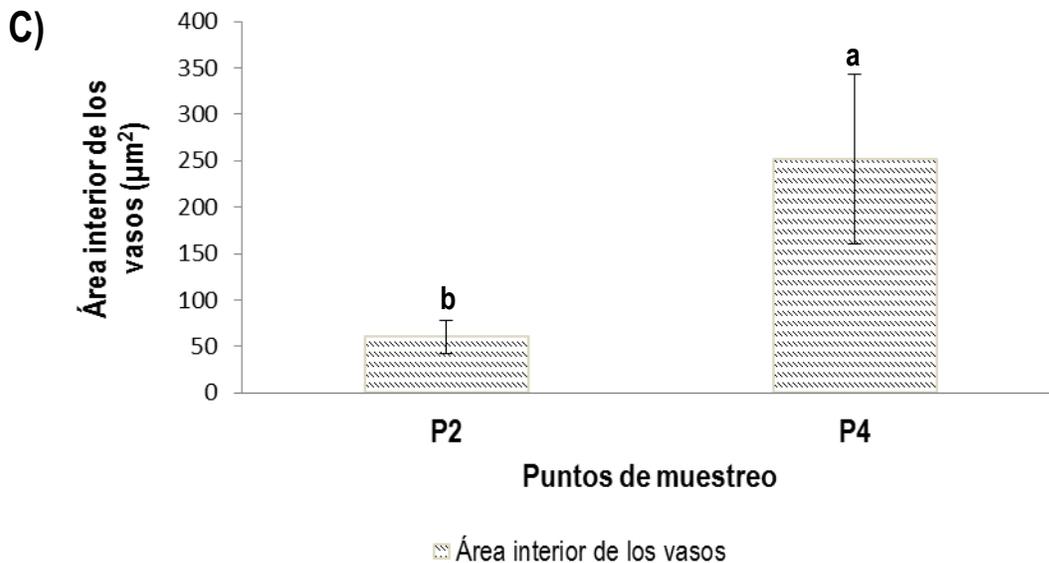


Figura 28. Variaciones anatómicas en los cortes transversales de tallos en *A. fistulosus* para los puntos de muestreo P₂ y P₄. (A) Diámetro tangencial vaso; (B) Diámetro radial vaso y (C) Área interior de los vasos. Diferentes letras indican diferencias estadísticamente significativas entre puntos de muestreo ($P < 0.05$)

En las raíces se encontraron diferencias estadísticamente significativas en los cortes longitudinales relativas a la longitud de los vasos ($n = 10$; $gl = 9$; $F = 19.32$; $P < 0.05$), siendo P₄ el punto de muestreo que registro mayor longitud en comparación con P₂ (Tabla A.10, ANEXO II); en los cortes transversales (crecimiento del diámetro tangencial) P₄ nuevamente registró la mayor longitud en comparación con P₂ ($n = 10$; $gl = 9$; $F = 9.40$; $P < 0.05$) (Figura 29) (Tabla A.13, ANEXO II). De acuerdo a lo reportado por Di Baccio *et al.* (2011); Luković *et al.* (2011); Āurćeková *et al.* (2007) y Seregin *et al.* (2004); el alargamiento de los vasos y la prematura lignificación, observados en P₄ podrían atribuirse principalmente a la concentración fitoaccesible en el suelo y a la concentración bioacumulada de Cd y Zn. Por lo que puede sugerirse que la presencia de estos elementos, puede modificar la anatomía de las raíces de *A. fistulosus*, que en conjunto con las observaciones realizadas en tallo, podrían constituir como un mecanismo de tolerancia de la planta a la exposición de estos elementos debido a una mayor fitodisponibilidad de los mismos en el sustrato.

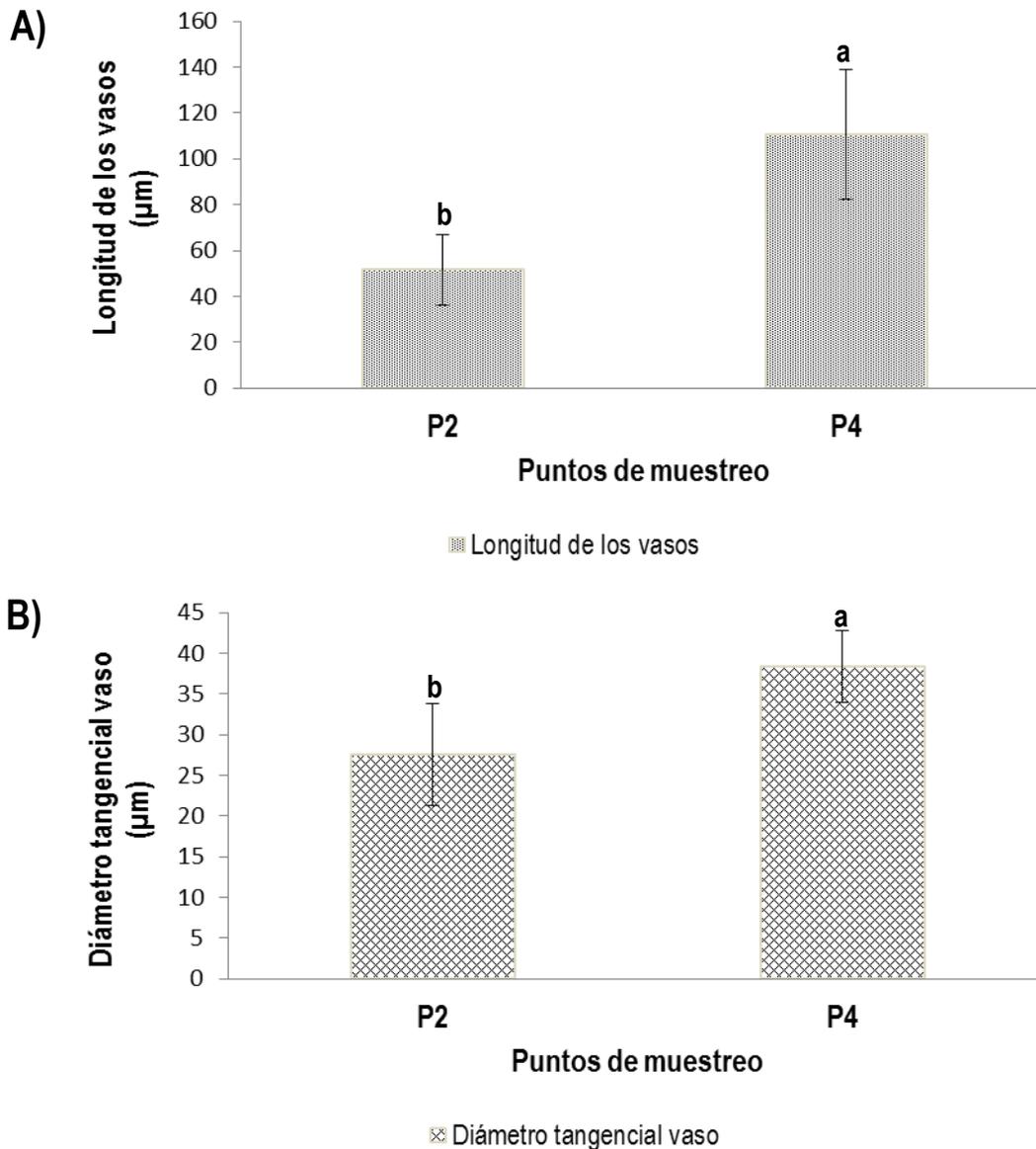


Figura 29. Variaciones anatómicas en las raíces de *A. fistulosus* para los puntos de muestreo P₂ y P₄. (A) Longitud de los vasos (cortes longitudinales) y (B) Diámetro tangencial vaso (cortes transversales). Diferentes letras indican diferencias estadísticamente significativas entre puntos de muestreo ($P < 0.05$)

En lo que se refiere a la anatomía del tallo se observó presencia de vasos, asimismo también se observaron en el xilema de la raíz vasos con paredes desarrolladas. Específicamente en los cortes realizados en la raíz de *A. fistulosus* se observaron daños en la banda de Caspary. El desarrollo de bandas de Caspary en raíces de álamo, cultivadas en un medio hidropónico. Podría considerarse como una estrategia a nivel radicular, para disminuir la absorción y traslocación de Zn

hacia la parte aérea (Balaji et al.2011). Además del Zn, se ha atribuido la formación de las bandas de Caspary también a la exposición de Cd (Đurčeková et al., 2007; Maksimović et al., 2007) y Pb (Seregin et al., 2004) (Figura 30). De acuerdo con las observaciones realizadas en *A. fistulosus*, puede sugerirse que cuando estas plantas se encuentran creciendo de forma natural y expuestas a elevadas concentraciones de Cd y Zn, podrían modificar su estructura engrosando las células endodérmicas que la conforman; reduciendo la absorción y traslocación de solutos.

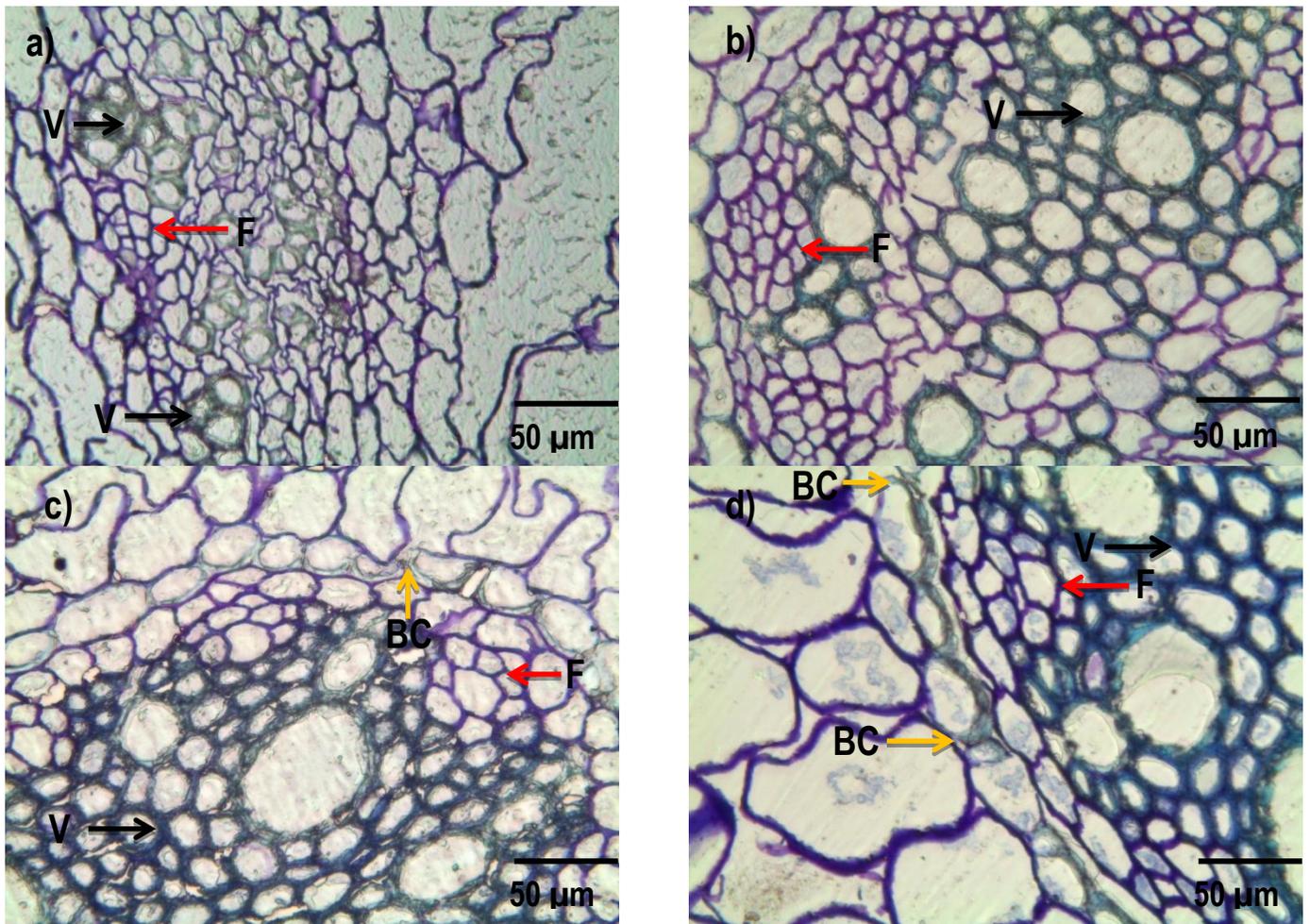


Figura 30. Variaciones anatómicas en *A. fistulosus* para los puntos de muestreo P₂ y P₄; BC = Banda de Caspary (flecha amarilla); F = Floema (flecha roja) y V = vasos (flecha negra). (a) Corte transversal en tallo para el punto de muestreo P₂; (b) Corte transversal en tallo para el punto de muestreo P₄; (c) Corte transversal en raíz para el punto de muestreo P₂ y (d) Corte transversal en raíz para el punto de muestreo P₄.

En resumen, las variaciones anatómicas que se observaron en las hojas, tallos y raíces de *A.fistulosus*, en estudios hidropónicos o en condiciones controladas, muestran concordancia con las

observaciones de las plantas recolectadas en campo, lo que constituye un aporte sustantivo para la comprensión de los mecanismos de tolerancia de plantas; las cuales además, por lo valores de las concentraciones bioacumuladas en hoja podrían también ser consideradas como hiperacumuladoras de EPT (Ent *et al.*, 2012). En base a lo observado, puede corroborarse que en *A. fistulosus*, el alargamiento y el engrosamiento de los elementos traqueales del xilema coadyuvan a limitar la posible traslocación de Cd, Pb y Zn hacia la parte aérea de la planta como un mecanismo de tolerancia.

Nama sp.

La Figura 31 muestra las variaciones anatómicas en hojas que se observaron en los puntos de muestreo P₅ y P₈ en *Nama sp.* En lo que se refiere a los cortes realizados en las hojas, se encontraron diferencias estadísticamente significativas en la longitud de los vasos ($n = 10$; $gl = 9$; $F = 100.33$; $P < 0.05$) y en el área de los haces vasculares ($n = 10$; $gl = 9$; $F = 114.47$; $P < 0.05$); P₈ fue el punto de muestreo que registró mayor longitud y área de haces vasculares en comparación con P₅ (Tabla A.21 y A.22, ANEXO II). Los resultados obtenidos, mostraron que al igual que en *A. fistulosus*, los elementos traqueales del xilema se alargan. Las concentraciones fitoaccesibles y bioacumuladas, en las hojas de *Nama sp.*, de todos los EPT analizados son mayores en el espécimen recolectado en P₅ con respecto a P₈. Lo anterior parece estar relacionado con las observaciones hechas en los cortes longitudinales y transversales de las hojas en P₅, que muestran vasos de menor tamaño comparado con las hojas de la planta recolectada en P₈, siendo esto una posible respuesta a la mayor exposición por acumulación de EPT.

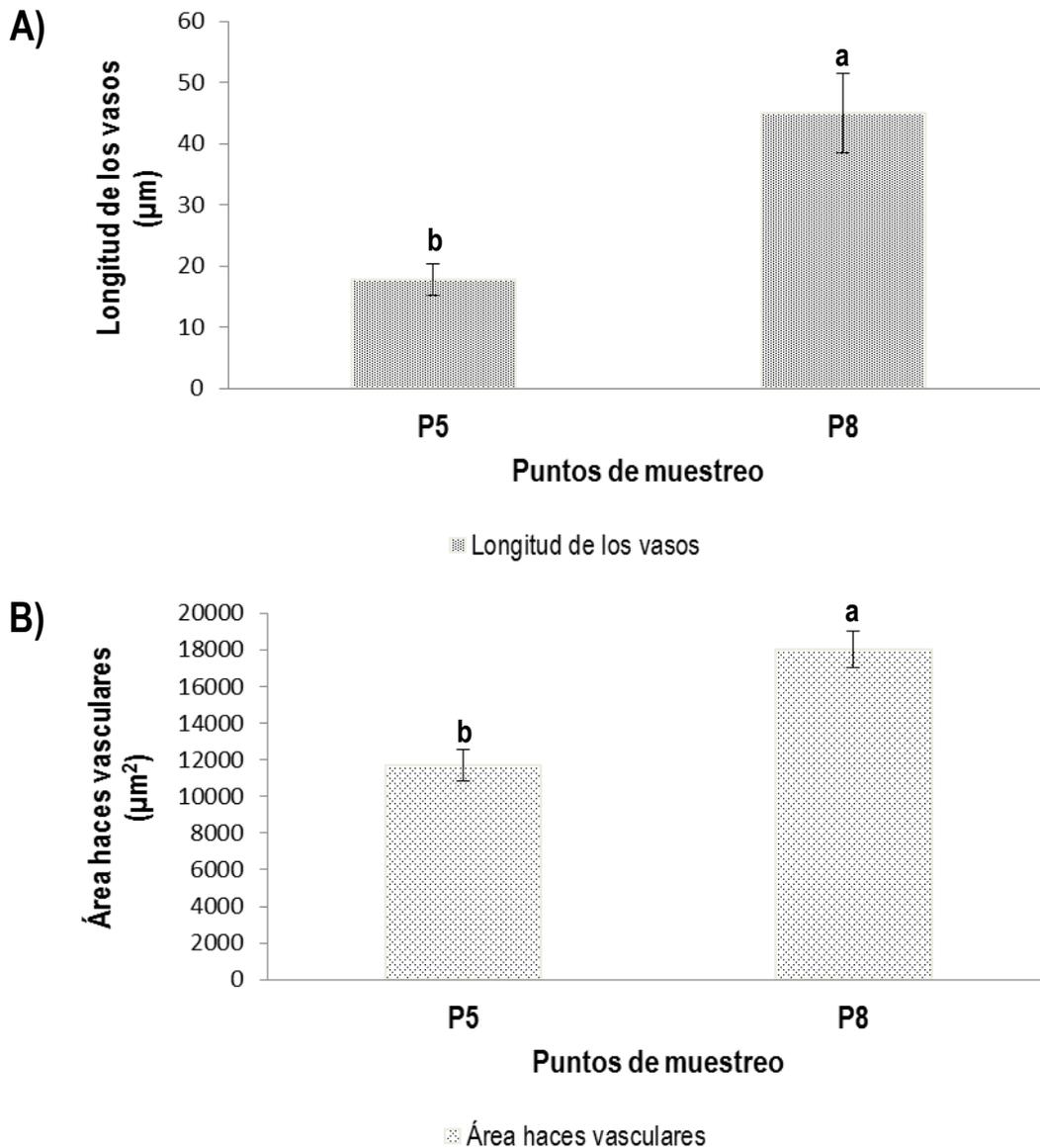
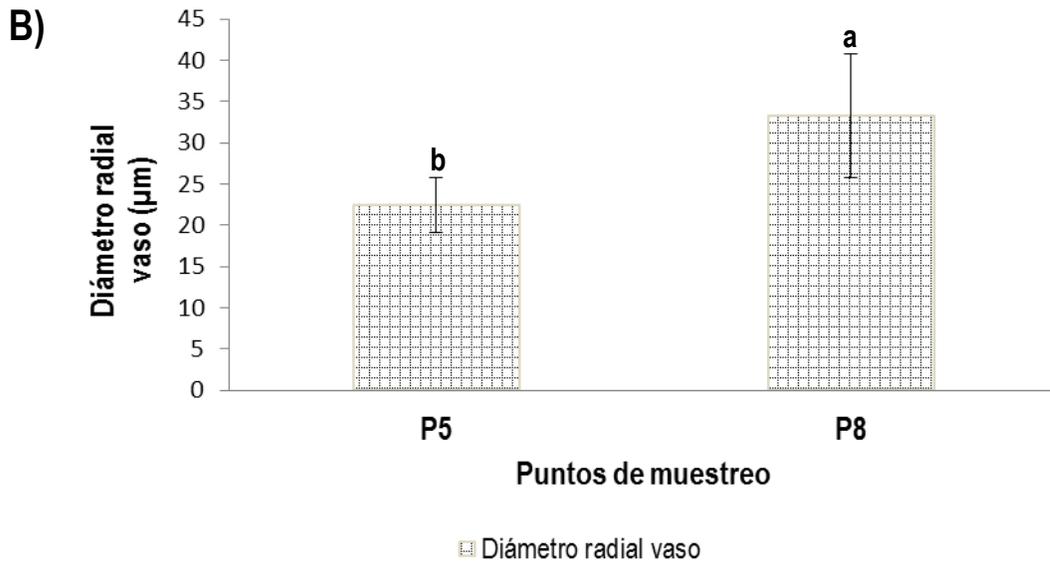
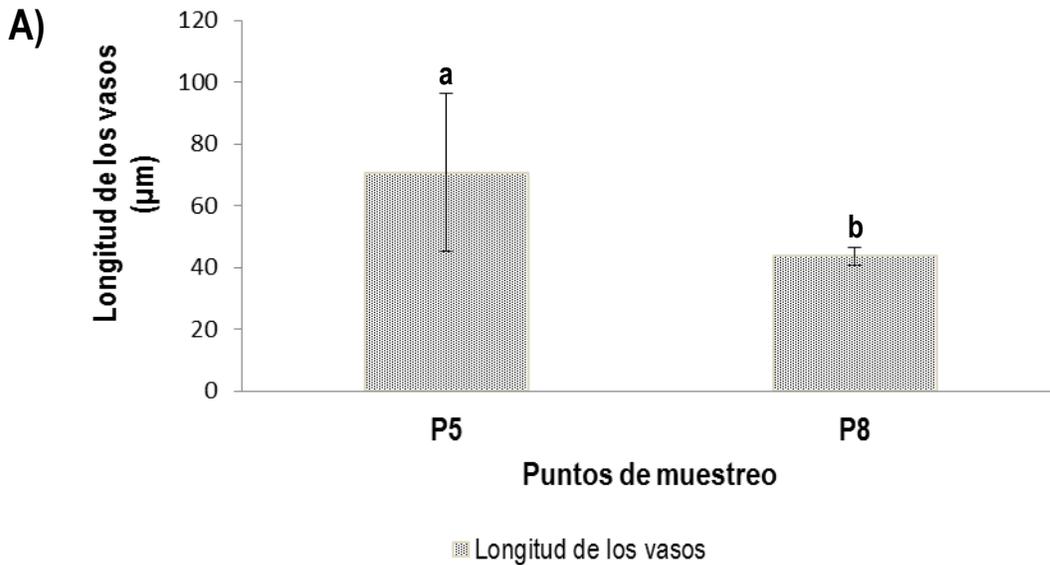


Figura 31. Variaciones anatómicas en las hojas de *Nama* sp. para los puntos de muestreo P₅ y P₈. (A) Longitud de los vasos (cortes longitudinales) y (B) Área de los haces vasculares (cortes transversales). Diferentes letras indican diferencias estadísticamente significativas entre puntos de muestreo ($P < 0.05$)

Los resultados de los cortes longitudinales para los puntos de muestreo P₅ y P₈ en tallos, mostraron diferencias estadísticamente significativas relativas a la longitud de los vasos ($n = 10$; $gl = 9$; $F = 6.87$; $P < 0.05$); siendo P₅ el punto de muestreo que registró los vasos de mayor longitud; en lo que respecta a los cortes transversales se observaron diferencias estadísticamente significativas en la longitud del diámetro radial ($n = 10$; $gl = 9$; $F = 9.27$; $P < 0.05$) y en el área interior de los vasos (n

= 10; gl = 9; F = 11.06; P < 0.05); P₈ fue el punto de muestreo que registró la mayor dimensión en comparación con P₅ (Figura 32). En los tallos de *Nama sp* se observó que el alargamiento y engrosamiento de los elementos traqueales del xilema; se presentan en a fin de limitar las acumulación y traslocación de EPT hacia las hojas.



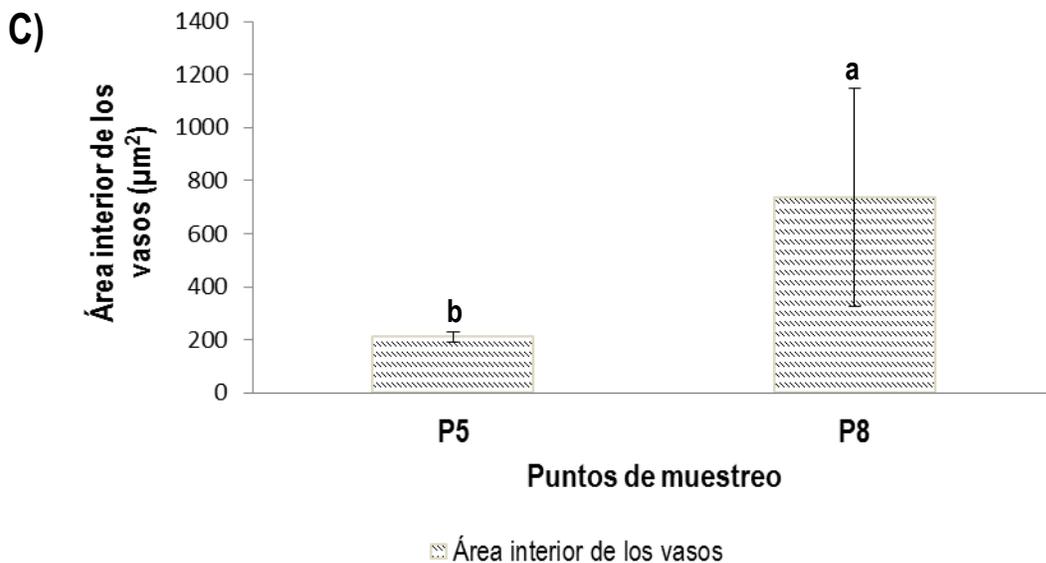
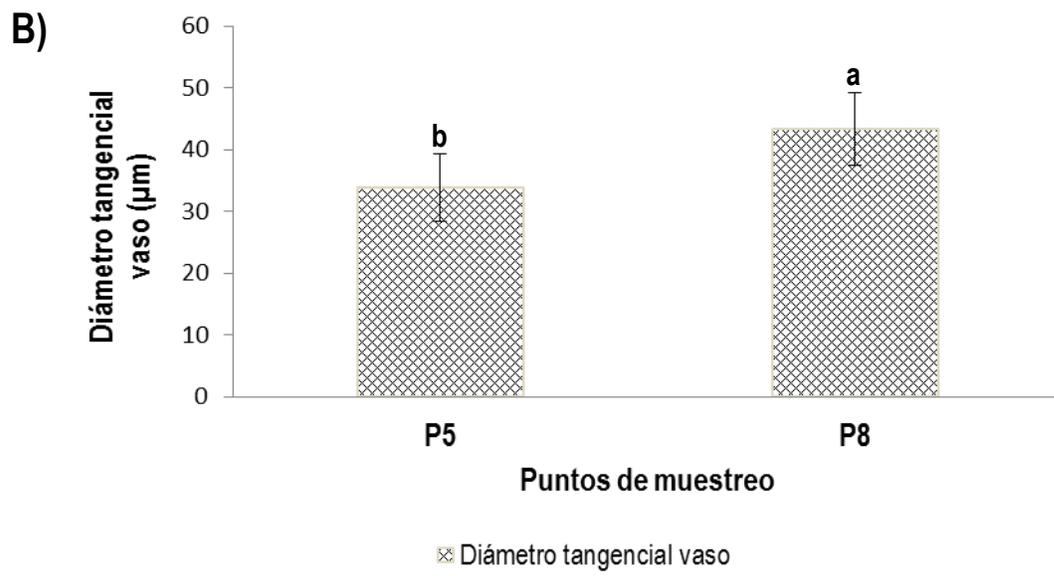
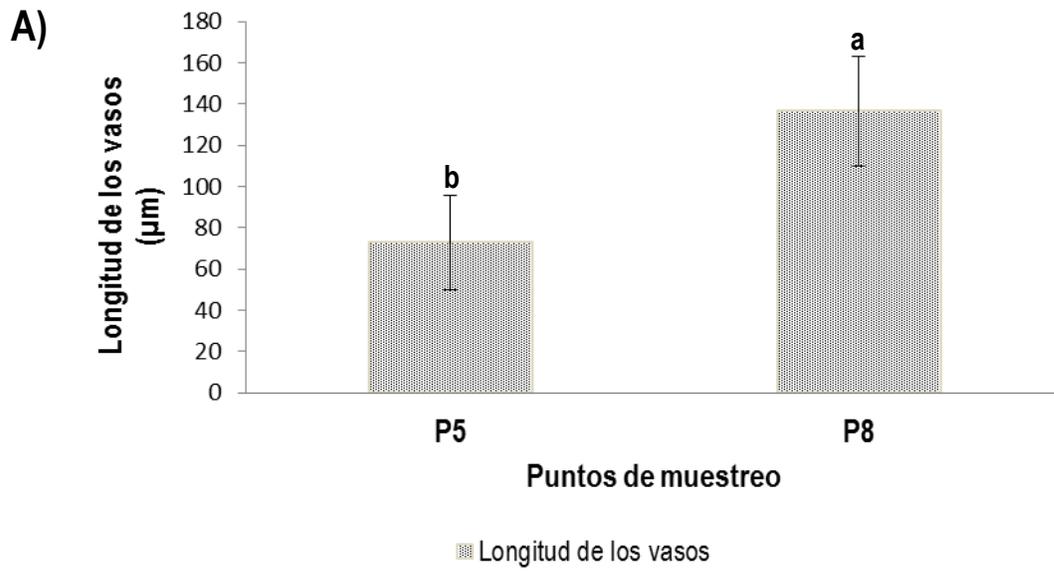


Figura 32. Variaciones anatómicas en los tallos de *Nama* sp. para los puntos de muestreo P₅ y P₈. (A) Longitud de los vasos (cortes longitudinales); (B) Diámetro radial vaso y (C) Área interior de los vasos (cortes transversales). Diferentes letras indican diferencias estadísticamente significativas entre puntos de muestreo ($P < 0.05$)

La Figura 33 muestra las variaciones anatómicas de las raíces de *Nama* sp, los resultados mostraron diferencias estadísticamente significativas en los cortes longitudinales relativas a la longitud de los vasos ($n = 10$; $gl = 9$; $F = 16.26$; $P < 0.05$); en lo que respecta a los cortes transversales se observaron diferencias estadísticamente significativas en el crecimiento del diámetro tangencial ($n = 10$; $gl = 9$; $F = 7.13$; $P < 0.05$), en la longitud del diámetro radial ($n = 10$; $gl = 9$; $F = 40.92$; $P < 0.05$) y en el área interior de los vasos ($n = 10$; $gl = 9$; $F = 71.67$; $P < 0.05$); siendo P₈ el punto de muestreo que se colocó siempre mayor en magnitud en comparación con P₅. Las observaciones hechas en las raíces de *Nama* sp, correspondientes a P₈, mostraron que el alargamiento y engrosamiento de la pared de los elementos traqueales, limita la acumulación y traslocación de EPT, hacia la parte aérea de la planta. De acuerdo con los valores obtenidos en la sección 6.3.1; tanto el Cd, Pb y Zn son mayores en P₅ con respecto a P₈.



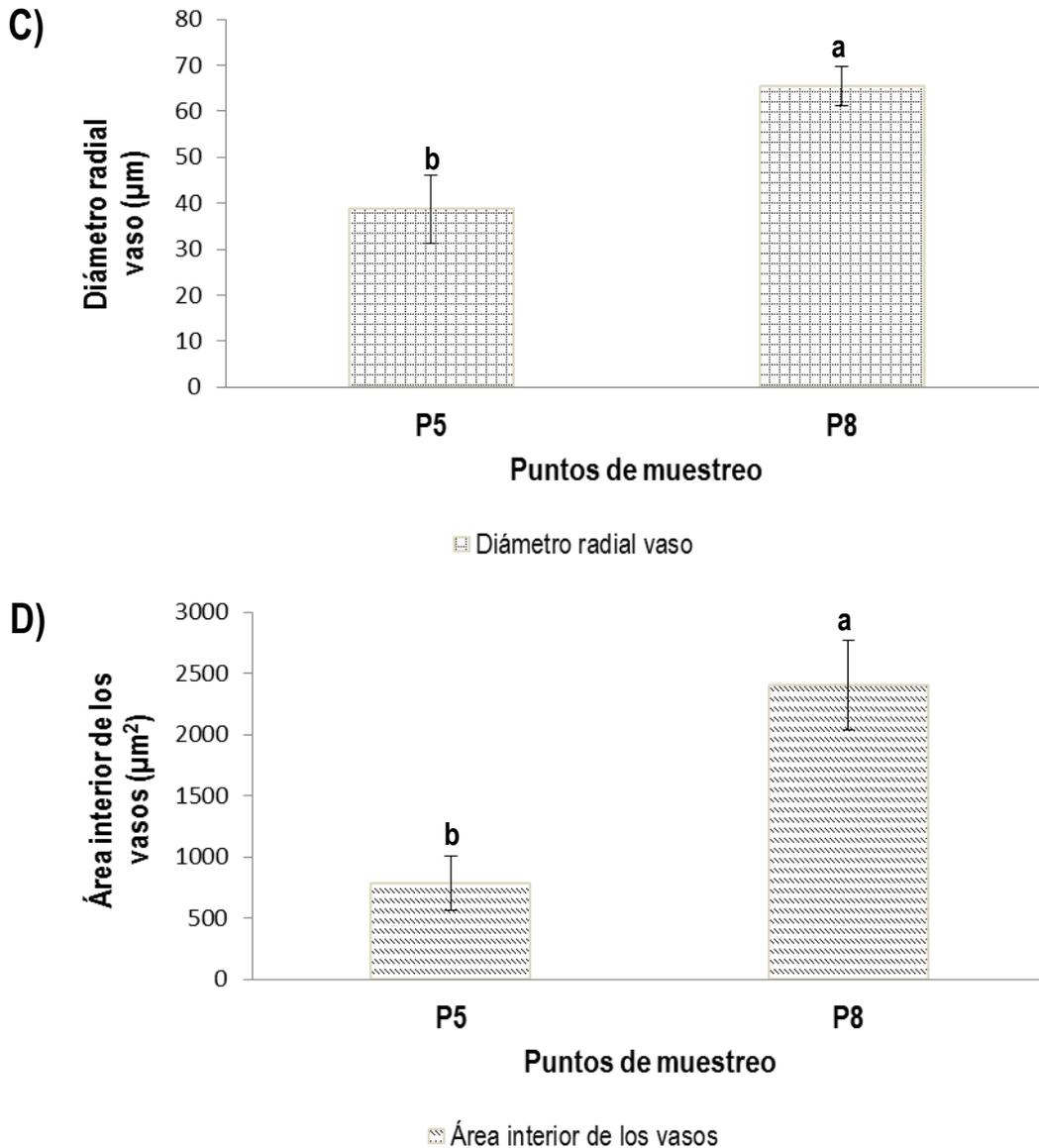


Figura 33. Variaciones anatómicas en las raíces de *Nama* sp. para los puntos de muestreo P₅ y P₈. (A) Longitud de los vasos (cortes longitudinales); (B) Diámetro tangencial vaso; (C) Diámetro radial vaso y (D) Área interior de los vasos (cortes transversales). Diferentes letras indican diferencias estadísticamente significativas entre puntos de muestreo ($P < 0.05$)

En los cortes transversales realizados en las hojas de *Nama* sp, para los puntos de muestreo P₅ y P₉ se observaron diferencias estadísticamente significativas en el área de los haces vasculares ($n = 10$; $gl = 9$; $F = 24.31$; $P < 0.05$); siendo en P₅ donde se registraron los haces vasculares con mayor área en comparación con P₉ (Figura 34). En lo que se refiere a las

concentraciones obtenidas en la sección 6.3.1; puede observarse que son mayores en P₅ con respecto a P₉; las variaciones observadas en las hojas de *Nama* sp. sugieren que las plantas que se encuentran creciendo sobre los residuos mineros (P₅) absorben los iones metálicos en la raíz, para después ser trasladadas hacia la parte aérea a través de los diversos mecanismos de transporte de la membrana plasmática.

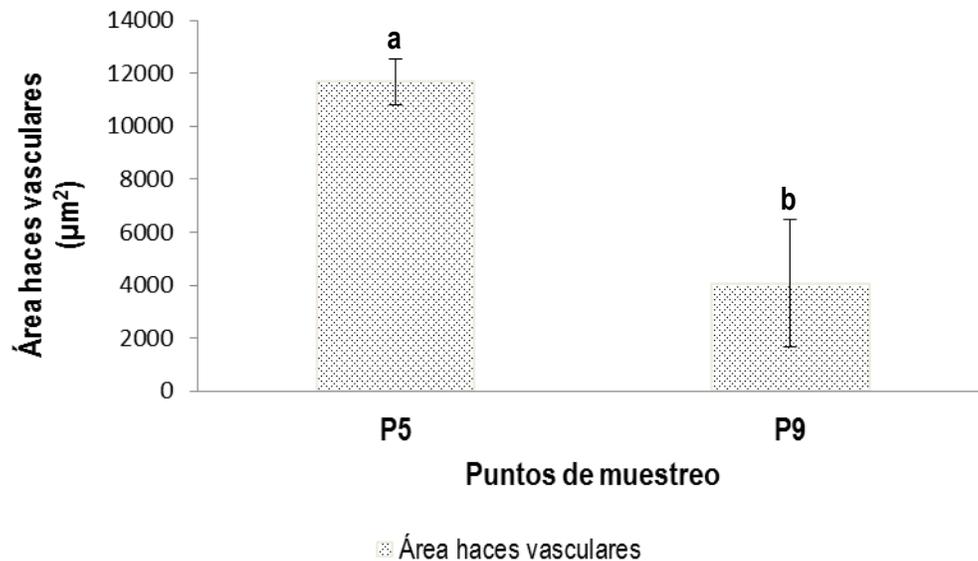
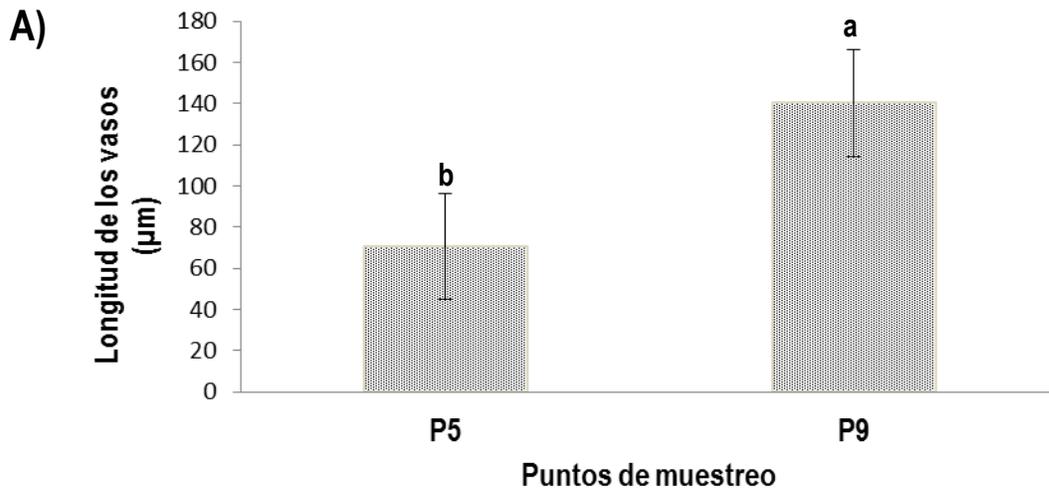


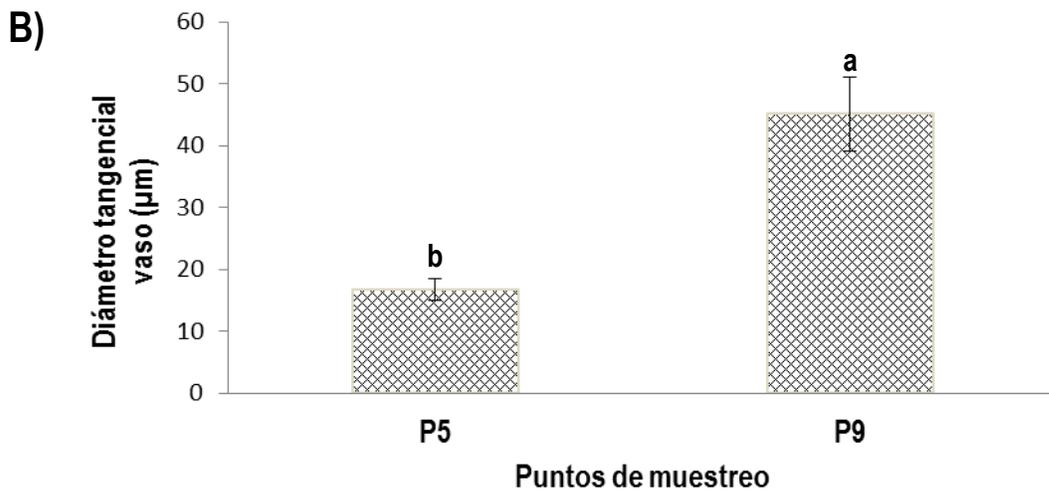
Figura 34. Variaciones anatómicas en los cortes transversales de hojas en *Nama* sp. para los puntos de muestreo P₅ y P₉. Diferentes letras indican diferencias estadísticamente significativas entre puntos de muestreo ($P < 0.05$)

En lo que respecta a los cortes realizados en los tallos de *Nama* sp, se encontraron diferencias estadísticamente significativas en la longitud de los vasos ($n = 10$; $gl = 9$; $F = 18.84$; $P < 0.05$); en lo que respecta a los cortes transversales se observaron diferencias estadísticamente significativas en el crecimiento del diámetro tangencial ($n = 10$; $gl = 9$; $F = 138$; $P < 0.05$) y en la longitud del diámetro radial ($n = 10$; $gl = 9$; $F = 38.13$; $P < 0.05$), así como en el área interior de los vasos ($n = 10$; $gl = 9$; $F = 102.74$; $P < 0.05$) (Figura 35). Como se ha discutido en las secciones anteriores, el alargamiento y engrosamiento de los elementos del xilema (vasos en hojas), puede

considerarse como un mecanismo de tolerancia; en este sentido se observa que los elementos del xilema en P₅ limitan la absorción y traslocación de EPT, hacia la parte aérea de la planta.



■ Longitud de los vasos



⊗ Diámetro tangencial vaso

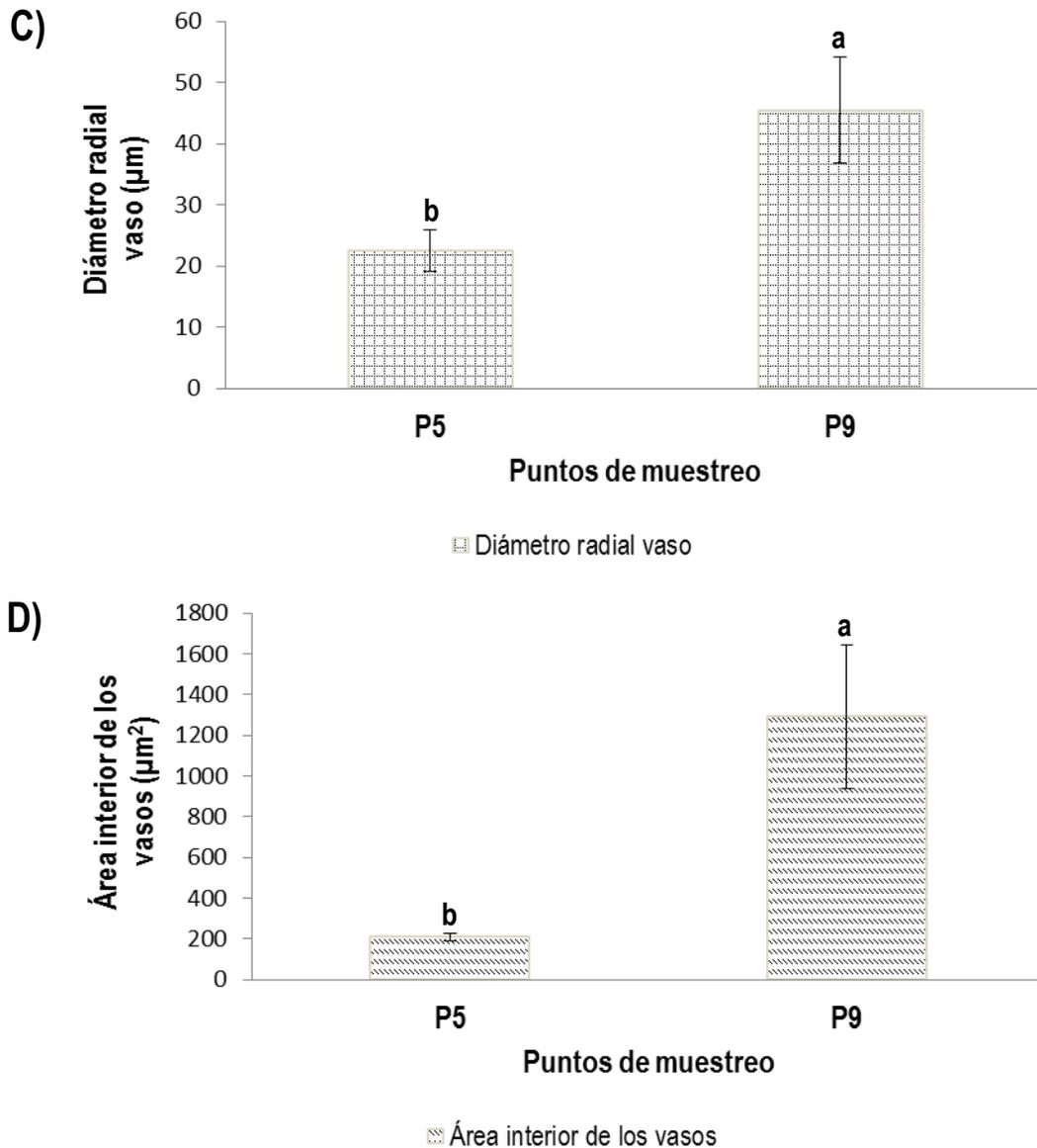


Figura 35. Variaciones anatómicas en los tallos de *Nama* sp. para los puntos de muestreo P₅ y P₉. (A) Longitud de los vasos (cortes longitudinales); (B) Diámetro tangencial vaso; (C) Diámetro radial vaso y (D) Área interior de los vasos (cortes transversales). Diferentes letras indican diferencias estadísticamente significativas entre puntos de muestreo ($P < 0.05$)

En las raíces se observaron diferencias estadísticamente significativas en la longitud del diámetro radial ($n = 10$; $gl = 9$; $F = 10.90$; $P < 0.05$); siendo P₉ el punto de muestreo que superó en magnitud a P₅ (Figura 36). En lo que se refiere a la concentración de EPT en la raíz de *Nama* sp., P₅ supera en magnitud a P₉. De acuerdo a lo que se ha observado tanto en las hojas como en los tallos

de esta especie vegetal; el alargamiento y engrosamiento de los elementos traqueales, sugiere que los EPT se queden retenidos en la raíz, limitando su posible traslocación hacia la parte aérea de la planta.

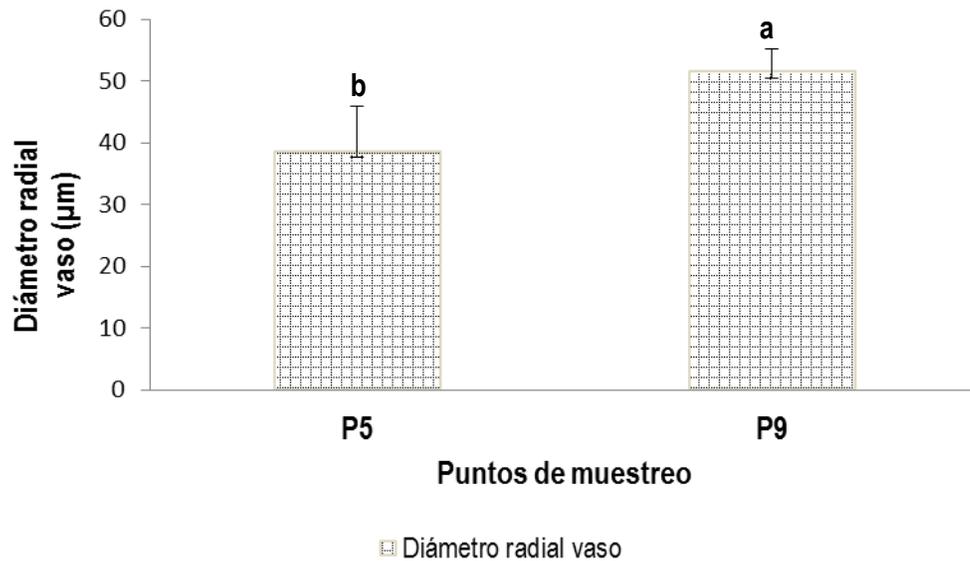


Figura 36. Variaciones morfológicas en los cortes transversales de raíces en *Nama* sp. para los puntos de muestreo P₅ y P₉. Diferentes letras indican diferencias estadísticamente significativas entre puntos de muestreo ($P < 0.05$)

En general en los cortes realizados en hojas, tallos y raíces para los puntos de muestreo P₅, P₈ y P₉, se observaron vasos con un diámetro inferior a 115 µm, valor que se ha registrado para algunas especies como *Eriodyton* y *Nama*, dispuestos la mayoría de las veces en hileras transversales; en lo que se refiere al desarrollo del floema se observaron algunas hebras grandes (Figura 36) y xilema en forma continua (Metcalf y Chalk, 1957).

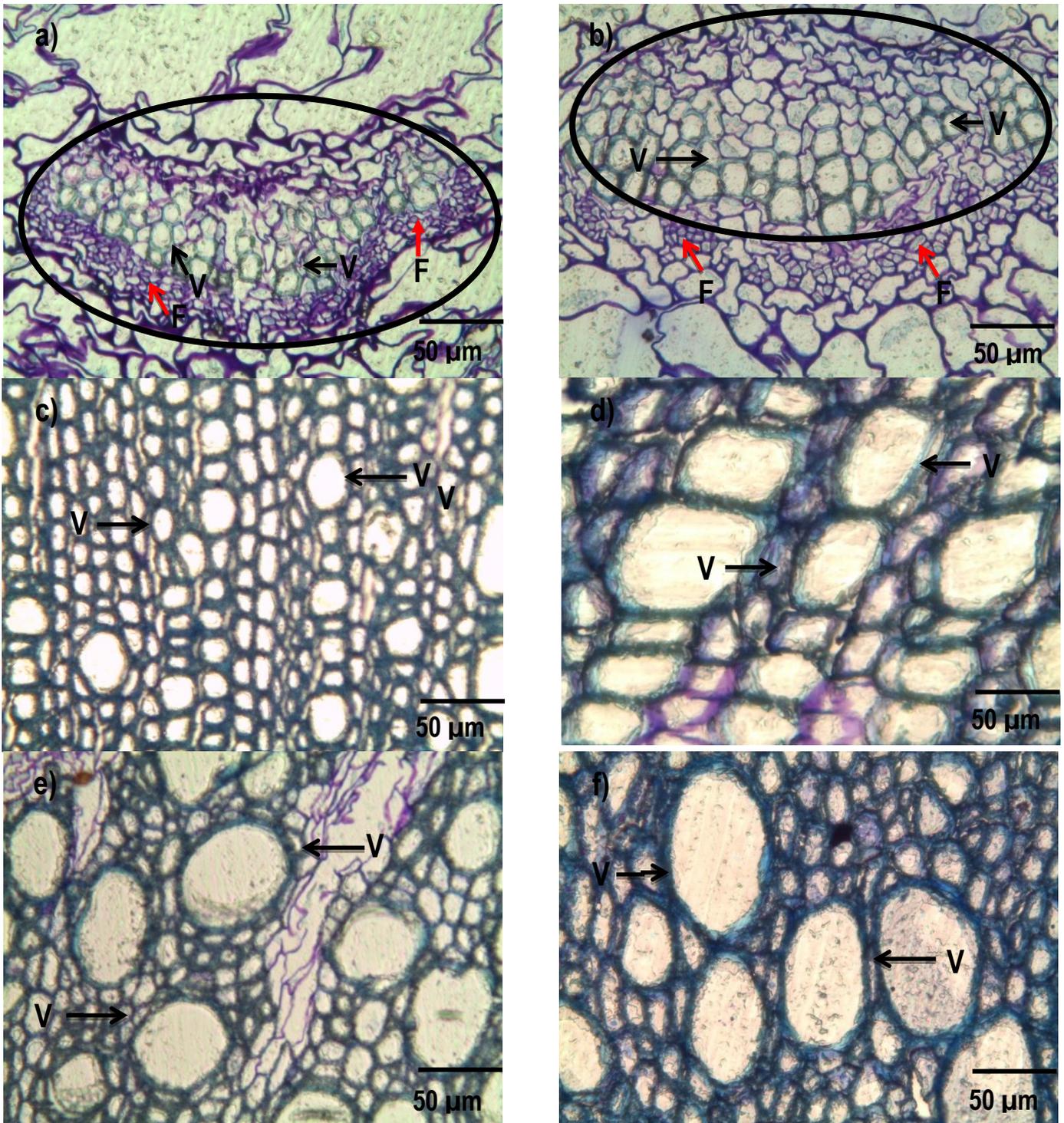


Figura 37. Variaciones anatómicas en *Nama* sp. para los puntos de muestreo P₅ y P₈; floema (flecha roja); haz vascular (elipse) y vasos (flecha negra). (a) Corte longitudinal en hoja para el punto de muestreo P₅; (b) Corte longitudinal en hoja para el punto de muestreo P₈; (c) Corte transversal tallo para el punto de muestreo P₅; (d) Corte transversal en tallo para el punto de muestreo P₈; (e) Corte transversal en raíz para el punto de muestreo P₅ y (f) Corte transversal en raíz para el punto de muestreo P₈.

6.4 COLONIZACIÓN MICORRÍZICA

6.4.1 Procesamiento de raíces: tinción, clareo y frecuencia de colonización

***Asphodellus fistulosus* L.**

Los resultados mostraron que el porcentaje de colonización en las raíces de *A. fistulosus* fue del 66.67% registrado en el punto de muestreo P₄; las estructuras que se observaron con mayor frecuencia fueron micelio, hifas y arbuscúlos (Figura 37).

***Nama* sp.**

El porcentaje de colonización micorrízica en las raíces de *Nama* sp. fue del 20% para los puntos de muestreo P₅, P₆ y P₇; en lo que respecta a P₈ y P₉ no se observó colonización micorrízica. Las estructuras que se registraron con mayor frecuencia fueron micelio, hifas y arbuscúlos. (Figura 38).

6.4.2 Extracción y cuantificación de esporas

En el presente trabajo no se encontraron esporas en el suelo rizosférico de *A. fistulosus* y *Nama* sp.

Sin embargo, la evidencia de colonización micorrízica en *A. fistulosus* y *Nama* sp. observado por medio del procesamiento, tinción y clareo de raíces; podría considerar la presencia de HMA en el suelo y representar en un momento dado algún mecanismo de tolerancia a EPT en las plantas que se encuentran creciendo sobre residuos generadores de DAR. Sin embargo; de los resultados anteriores no se puede discernir alguna hipótesis en particular al respecto. Lo que se pudo constatar en las observaciones al microscopio es la presencia de HMA en los sustratos muestreados al margen (P₄) y en el cauce del arroyo San Pedro (P₇). Con respecto a aguas abajo (P₈ y P₉) no se

encontraron evidencia de HMA, debido principalmente a que en ambos puntos se acumula una gran cantidad de material de tamaño de partícula < a 200 μm ..

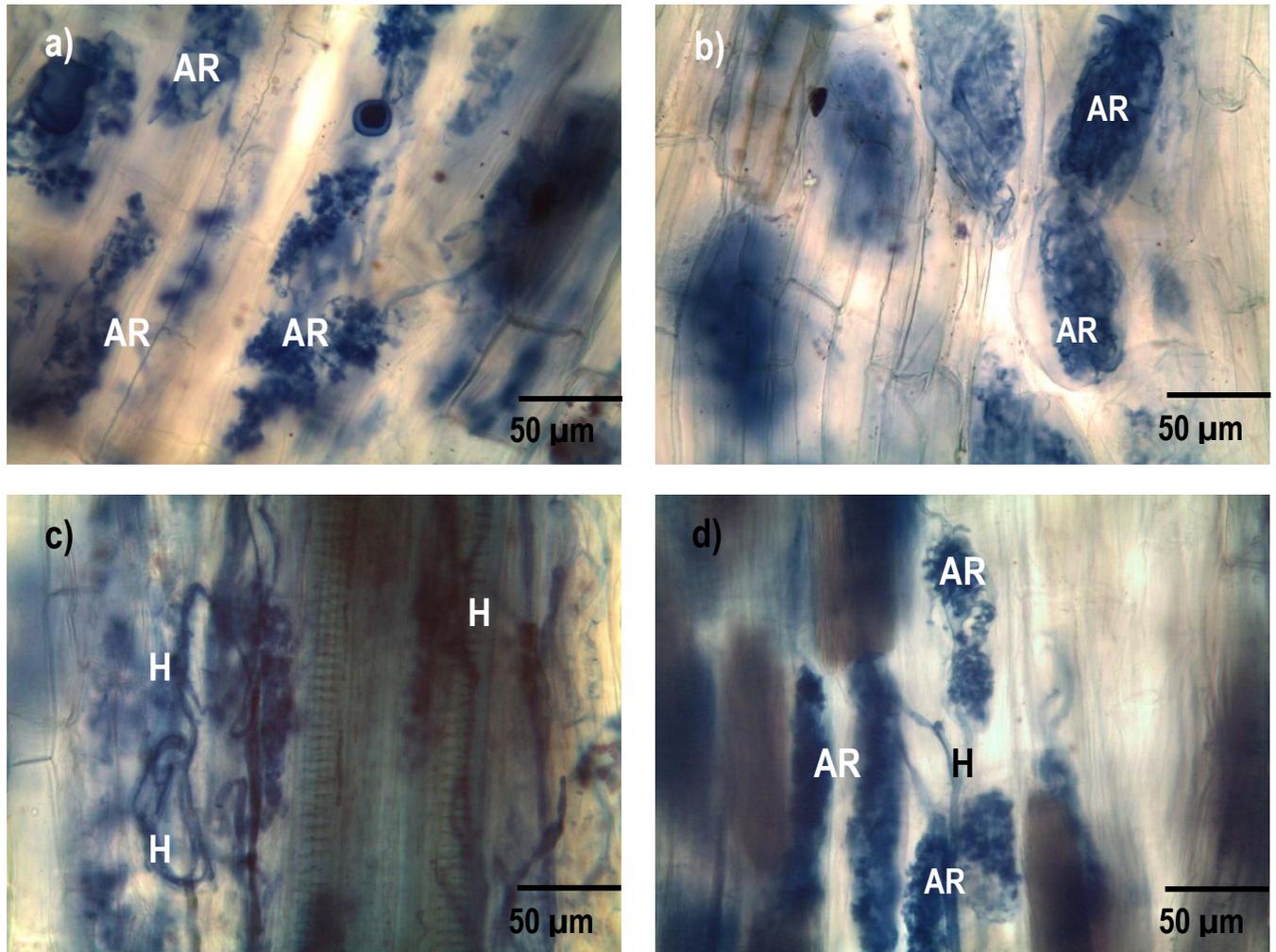


Figura 38. Colonización micorrízica en raíces de *A. fistulosus*, creciendo en residuos generadores de DAR para el punto de muestreo P₄; AR = Arbusculos; H = Hifas. (a) y (b) Arbusculos; (c) Hifas y (d) Arbusculos e hifas

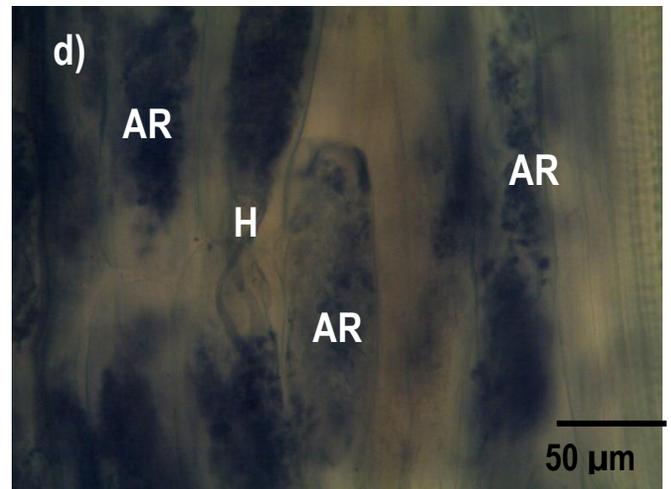
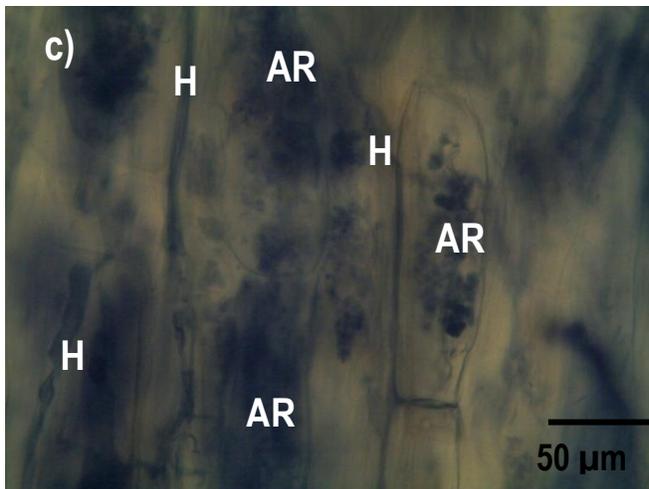
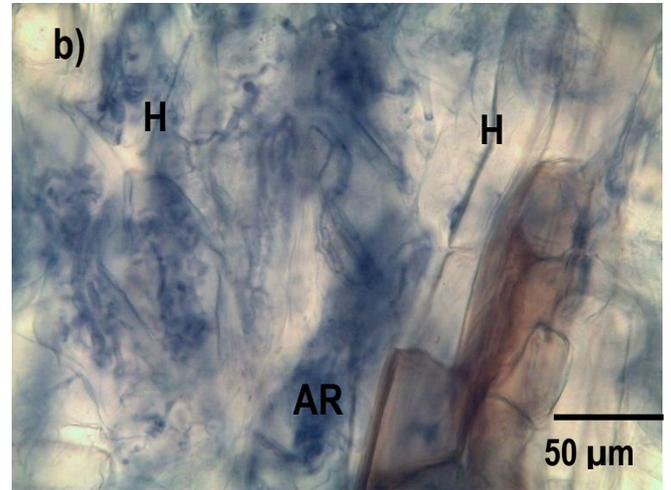
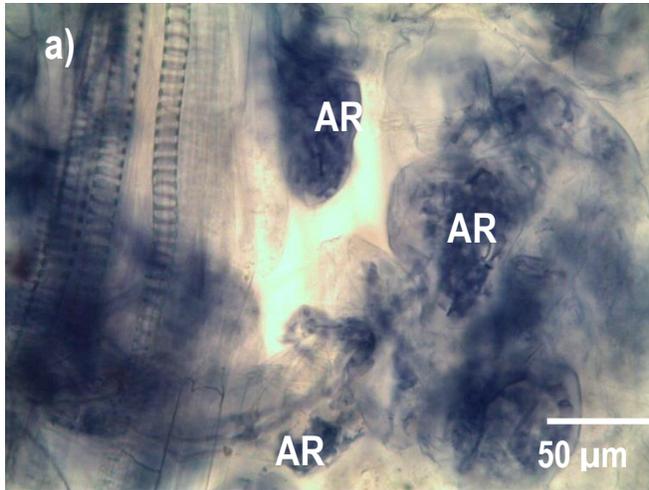


Figura 39. Colonización micorrízica en raíces de *Nama* sp. creciendo en residuos generadores DAR; AR = Arbusculos; H = Hifas. (a) Arbusculos; (b) Hifas (c) y (d) Arbusculos e hifas

6.5 CORRELACIÓN

6.5.1 Análisis químico

El procedimiento CORR del programa estadístico SAS (1999) mostró que existe correlación entre la concentración total de metales en suelo rizosférico y la concentración total de metales bioacumulados en tallo y raíz en las especies vegetales bajo estudio (Tablas 11 y 12).

Las variables de concentración total de metales en suelo rizosférico y la concentración total de metales bioacumulados en tallo se correlacionaron de manera negativa para As, Cd, Fe y Pb; es decir que conforme aumentaron las concentraciones de As, Cd, Fe y Pb en el suelo rizosférico, disminuyeron la concentración de Fe y Cd; bioacumulado en los tallos de *A. fistulosus* y *Nama* sp. (Tabla 12). Mientras que conforme aumentó la concentración total Zn suelo rizosférico; se observó un incremento en la concentración de As en las raíces de *A. fistulosus* y *Nama* sp. (Tabla 12).

Tabla 11. Coeficientes de correlación de Pearson entre el contenido total de metales en suelo rizosférico y la concentración total de metales bioacumulados en tallo

		Concentración total de metales en suelo rizosférico				
		As	Cd	Fe	Pb	Zn
Concentración total de metales bioacumulados en tallo	As	0.065	0.082	0.202	-0.017	0.242
	Cd	0.239	0.337	0.487	0.200	0.392
	Fe	-0.911*	-0.924*	-0.971*	-0.872	-0.725
	Pb	-0.968*	-0.868	-0.848	-0.885*	-0.573
	Zn	0.116	0.175	0.346	0.031	0.266

* P < 0.05

Tabla 12. Coeficientes de correlación de Pearson entre el contenido total de metales en suelo rizosférico y la concentración total de metales bioacumulados en raíz

		Concentración total de metales en suelo rizosférico				
		As	Cd	Fe	Pb	Zn
Concentración total de metales bioacumulados en raíz	As	0.600	0.815	0.749	0.819	0.922*
	Cd	0.492	0.679	0.704	0.620	0.715
	Fe	-0.425	-0.314	-0.181	-0.432	0.006
	Pb	0.032	0.218	0.054	0.311	0.454
	Zn	0.316	0.353	0.513	0.218	0.394

* P < 0.05

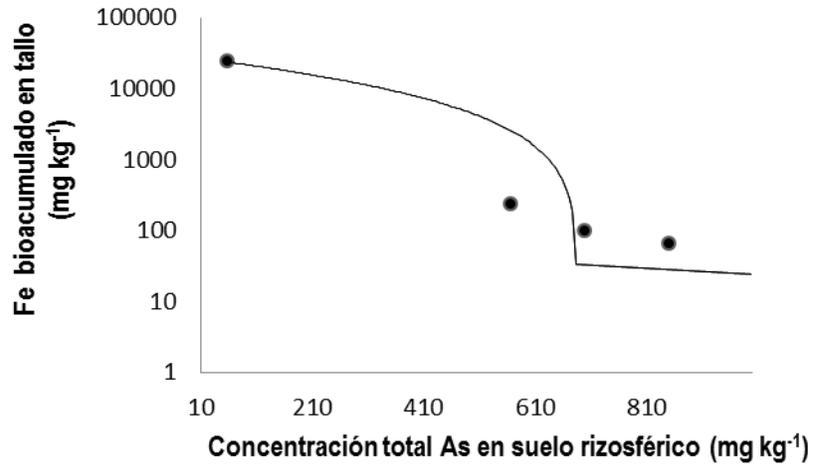
La Tabla 13 muestra las ecuaciones y coeficientes de determinación (R^2) entre la concentración total de metales en suelo rizosférico y la concentración total de metales bioacumulados en tallo.

Tabla 13. Ecuaciones y coeficientes de determinación (R^2) entre la concentración total de metales en suelo rizosférico y el contenido total de metales bioacumulados en tallo

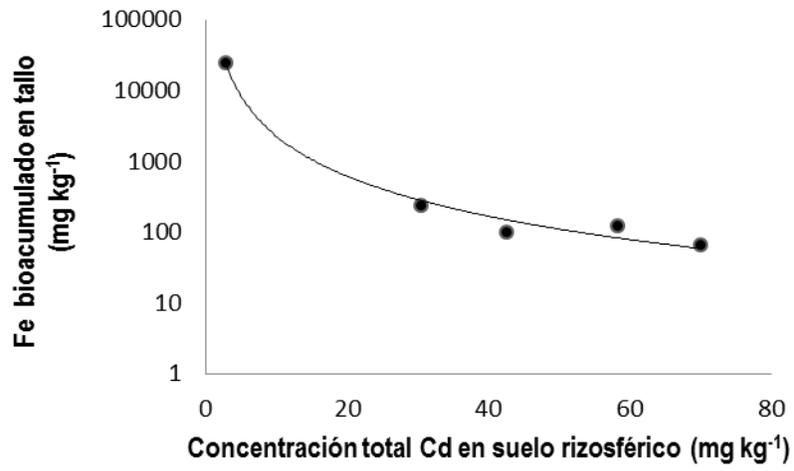
Concentración total de metales en suelo rizosférico (x)	Concentración total bioacumulados en tallo (y)	Ecuación	R^2
As	Fe	$y = 0.0314x^2 - 60.665x + 26866$	0.977
Cd	Fe	$y = 168970x^{-1.875}$	0.9858
Fe	Fe	$y = 2E + 21x^{-4.532}$	0.9809
Pb	As	$y = -0.0166x + 40.5$	0.9836
Pb	Pb	$y = -5.662 \ln(x) + 73.988$	0.8183

Las representaciones gráficas de las correlaciones significativas ($P < 0.05$) de la concentración total de metales en suelo rizosférico y la concentración total de metales bioacumulados en tallo y raíz en las especies vegetales bajo estudio (Tablas 11 y 12), se presentan en las Figuras 40 y 41.

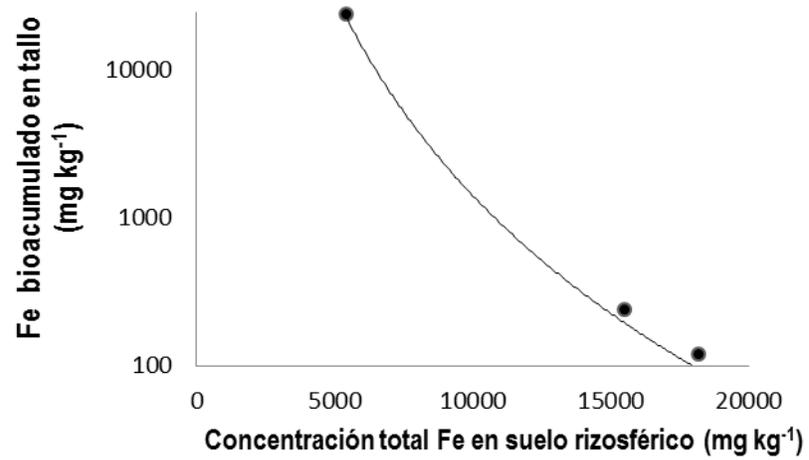
a)



b)



c)



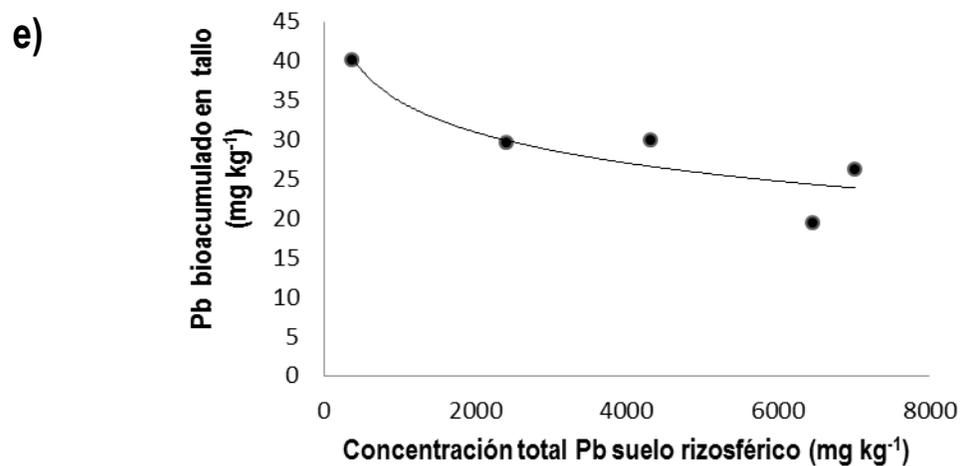
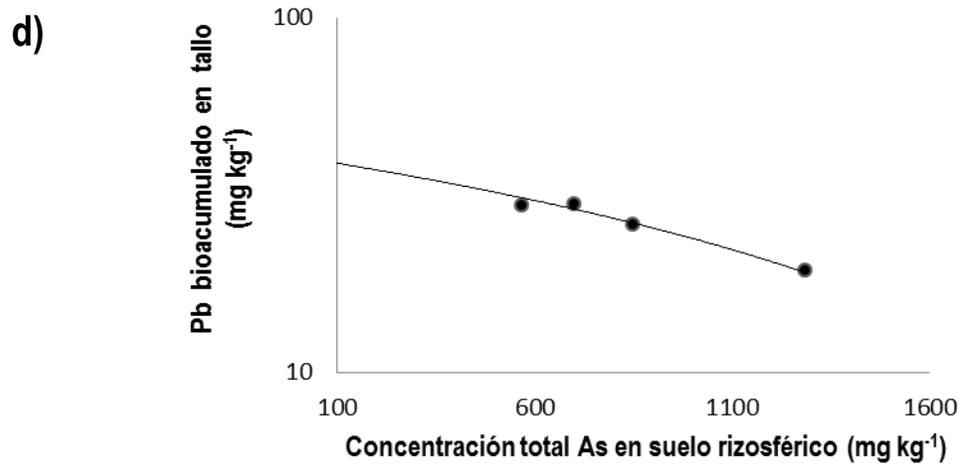


Figura 40. Correlación entre la concentración total de metales en suelo rizosférico y la concentración total de metales bioacumulados en tallo. (a), (b) y (c) Concentración total de Fe bioacumulado; (d) y (e) Concentración total de Pb bioacumulado

La Tabla 14 muestra la ecuación y el coeficiente de referencia (R^2) entre la concentración total de metales en suelo rizosférico y la concentración total de metales bioacumulados en raíz.

Tabla 14. Ecuación y coeficiente de determinación (R^2) entre la concentración total de metales en suelo rizosférico y la concentración total bioacumulados en raíz

Concentración total de metales en suelo rizosférico (x)	Concentración de As bioacumulado en raíz (y)	Ecuación	R^2
Zn	As	$y = 3E-06x^{1.9514}$	0.8882

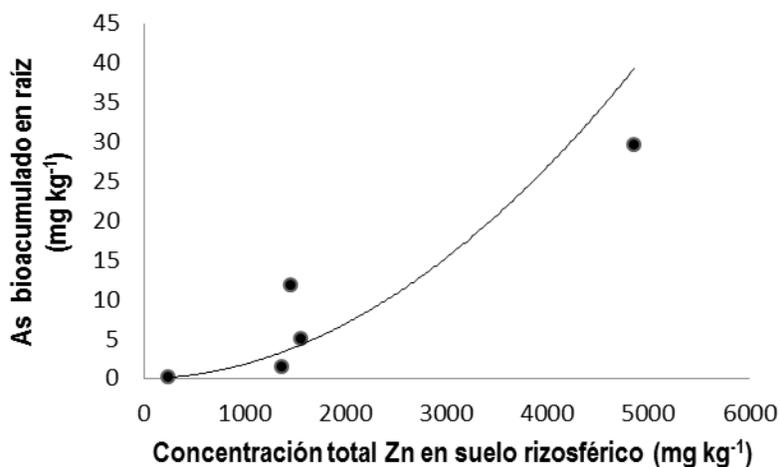


Figura 41. Correlación entre la concentración total de Zn en el suelo rizosférico y la concentración total de As bioacumulado en raíz

Se encontraron altas correlaciones entre las concentraciones fitoaccesibles de As (0.912); Cd (en hoja y raíz, 0.947 y 0.966, respectivamente); Fe (0.922); Pb (0.932) y Zn (As y Cd bioacumulados en raíz, 0.922 y 0.900, respectivamente) movilizados por una solución de ácidos orgánicos de bajo peso molecular (LMWOA) y las concentraciones totales de metales bioacumulados en hoja, tallo (Figura 42) y raíz (Figura 43) de las especies vegetales de bajo estudio. Con este resultado se comprobó que el protocolo establecido para determinar la movilidad de EPT en presencia de una solución de ácidos orgánicos de bajo peso molecular puede ser empleado como una herramienta para la comprensión del proceso de traslocación de los metales que se

encuentran en el suelo rizosférico y de cómo estos pueden ser trasladados desde la raíz hasta la parte aérea de las plantas.

La Tabla 15 muestra los valores de los coeficientes de correlación de Pearson entre la concentración total de metales movilizados por una solución de ácidos orgánicos de bajo peso molecular y lo bioacumulado en las hojas de las especies vegetales bajo estudio, la correlación entre la concentración de Cd movilizado por una solución de LMWOA y la concentración total de Cd bioacumulado en hoja se correlacionó de manera positiva ($r = 0.947$).

Tabla 15. Coeficientes de correlación de Pearson entre el contenido total de metales movilizados por una solución de ácidos orgánicos de bajo peso molecular y la concentración total de metales bioacumulados en hoja

		Concentración fitoaccesible de metales en suelo rizosférico				
		As	Cd	Fe	Pb	Zn
Concentración total de metales bioacumulados en hoja	As	-0.222	-0.754	-0.160	-0.460	-0.563
	Cd	-0.639	0.947*	0.624	0.607	0.810
	Fe	-0.347	-0.675	-0.015	-0.373	-0.535
	Pb	-0.437	-0.577	0.019	-0.356	-0.428
	Zn	-0.848	0.391	0.685	-0.048	0.078

* $P < 0.05$

La correlación entre la movilidad de metales presentes en el suelo rizosférico y la concentración total de metales bioacumulados en tallo se correlacionó de manera positiva, el coeficiente de correlación más alto se encontró en As ($r = 0.912$ (Tabla 16)).

Tabla 16. Coeficientes de correlación de Pearson entre el contenido total de metales movilizados por una solución de ácidos orgánicos de bajo peso molecular y el contenido total de metales bioacumulados en tallo

Concentración fitoaccesible de metales en suelo rizosférico						
		As	Cd	Fe	Pb	Zn
Concentración total de metales bioacumulados en tallo	As	-0.485	0.095	0.792	0.131	-0.406
	Cd	-0.542	0.798	0.770	0.242	0.298
	Fe	0.912*	-0.682	-0.706	-0.500	-0.604
	Pb	0.855	-0.149	-0.468	-0.360	-0.302
	Zn	-0.524	0.578	0.824	0.111	-0.018

* P < 0.05

Los resultados también mostraron altas correlaciones entre la movilidad de metales presentes en el suelo rizosférico y la concentración total de metales bioacumulados en la raíz de las especies vegetales bajo estudio. As ($r_{Pb} = 0.932$ y $r_{Zn} = 0.922$), Cd ($r_{Cd} = 0.966$ y $r_{Zn} = 0.900$) y Zn ($r_{Fe} = 0.922$) se correlacionaron de manera positiva; siendo el coeficiente de correlación más alto el encontrado para el Cd (Tabla 17).

Tabla 17. Coeficientes de correlación de Pearson entre el contenido total de metales movilizados por una solución de ácidos orgánicos de bajo peso molecular y la concentración total de metales bioacumulados en raíz

Concentración fitoaccesible de metales en suelo rizosférico						
		As	Cd	Fe	Pb	Zn
Concentración total de metales bioacumulados en raíz	As	-0.430	0.743	0.386	0.932*	0.922*
	Cd	-0.452	0.966*	0.471	0.653	0.900*
	Fe	-0.022	0.215	0.538	0.014	-0.361
	Pb	0.253	0.020	-0.254	0.659	0.457
	Zn	-0.700	0.562	0.922*	0.200	0.010

* P < 0.05

La Tabla 18 muestra las ecuaciones y coeficientes de determinación (R^2) entre la concentración fitoaccesible de metales movilizados por una solución LMWOA y la concentración total de metales bioacumulados en hoja y tallo de las especies vegetales bajo estudio.

Tabla 18. Ecuaciones y coeficientes de determinación (R^2) entre la concentración fitoaccesible de metales movilizados por una solución LMWOA y la concentración total de metales bioacumulados en el tejido vegetal

Concentración fitoaccesible de metales en suelo rizosférico (x)	Concentración total de metales bioacumulados en el tejido vegetal (y)	Ecuación	R^2
Cd	Cd (hoja)	$y = -0.0065x^2 + 0.6191x + 2.4037$	0.9318
As	Fe (tallo)	$y = 28.549e^{0.2243x}$	0.8386

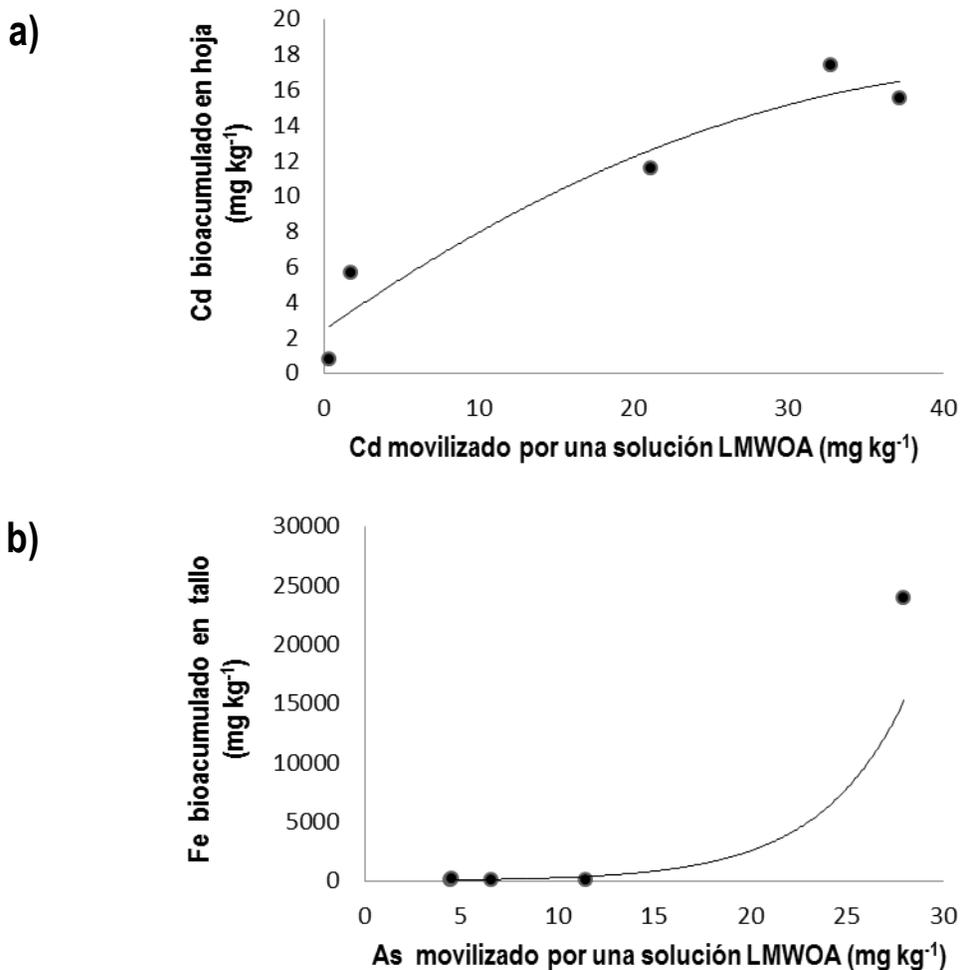


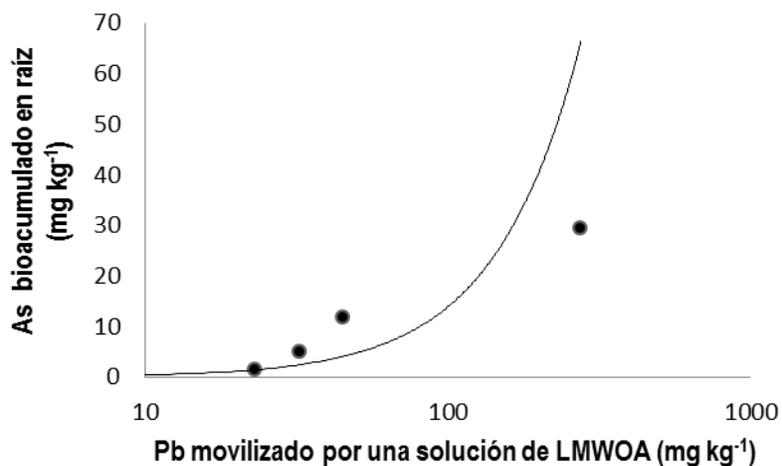
Figura 42. Correlación entre la concentración fitoaccesible de metales movilizados por una solución LMWOA y el contenido total de metales bioacumulados en el tejido vegetal. (a) Concentración total de Cd bioacumulado en hoja; (b) Concentración total de Fe bioacumulado en tallo

La Tabla 19 muestra las ecuaciones y coeficientes de determinación (R^2) entre la concentración fitoaccesible de metales movilizados por una solución LMWOA y la concentración total de metales bioacumulados en la raíz de las especies vegetales bajo estudio.

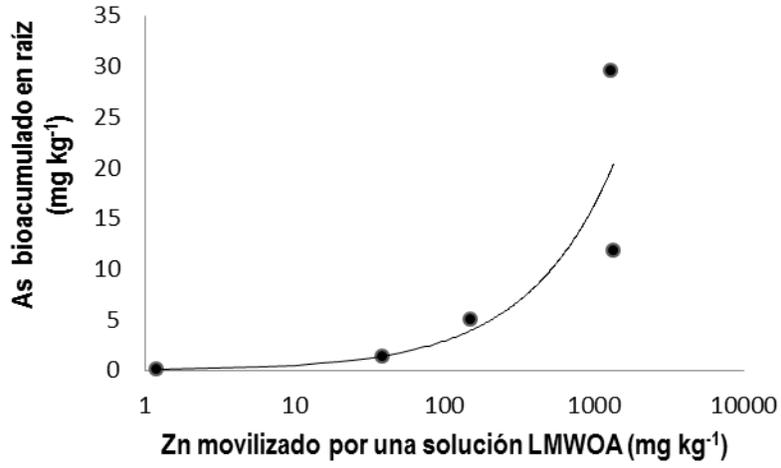
Tabla 19. Ecuaciones y coeficientes de determinación (R^2) entre la concentración fitoaccesible de metales movilizados por una solución LMWOA y la concentración total de metales bioacumulados en la raíz

Concentración fitoaccesible de metales en suelo rizosférico (x)	Concentración total de metales bioacumulados en la raíz (y)	Ecuación	R^2
Pb	As	$y = 0.0114x^{1.5431}$	0.8378
Zn	As	$y = 0.0932x^{0.7471}$	0.9728
Cd	Cd	$y = 0.8039x^{0.2182}$	0.9409
Zn	Cd	$y = 1E-07x^2 + 0.0006x + 0.9201$	0.8252
Fe	Zn	$y = 3.0735x^2 - 26.251x + 82.369$	0.8715

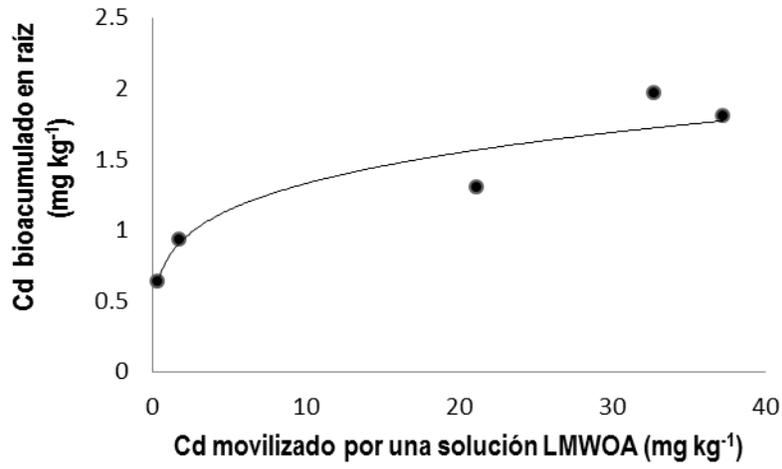
a)



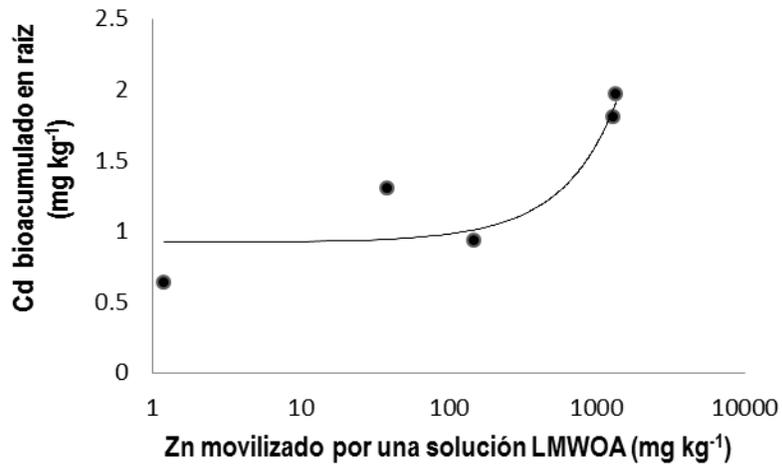
b)



c)



d)



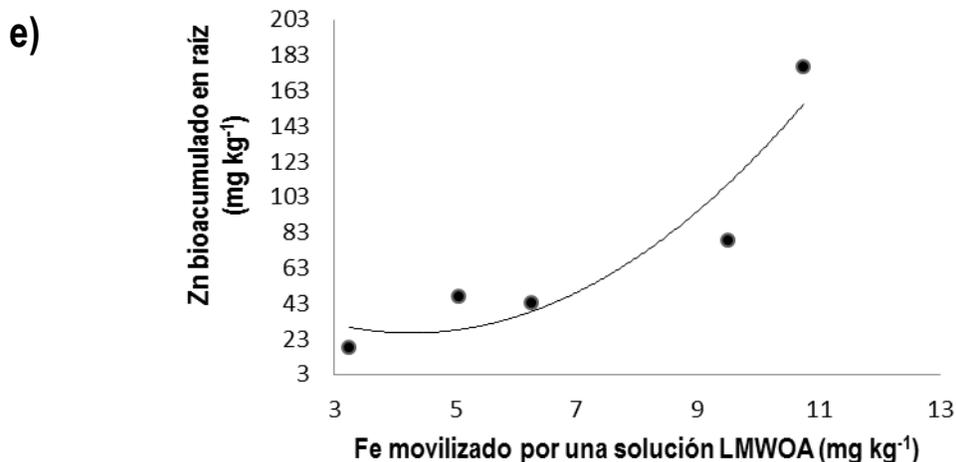


Figura 43. Correlación entre la concentración fitoaccesible de metales movilizados por una solución LMWOA y la concentración total de metales bioacumulados en raíz. (a) y (b) Concentración total de As bioacumulado; (c) y (d) Concentración total de Cd; (e) Concentración total de Zn bioacumulado

6.5.2 Análisis ecofisiológico e histológico

El análisis de correlación entre la cuantificación de pigmentos fotosintéticos y las variables de análisis químico; no mostraron correlaciones estadísticamente significativas ($P < 0.05$); al igual que las variables de los cortes longitudinales realizados en los tallos con alguna de las variables de análisis químico. Las variables de los análisis histológicos realizados en las hojas mostraron altas correlaciones con las variables del análisis químico (Figura 44). La Tabla 20 muestra las ecuaciones y coeficientes de determinación (R^2) entre las variables del análisis histológico realizados en las hojas y el contenido de metales fitoaccesible en el suelo rizosférico.

Tabla 20. Ecuaciones y coeficientes de determinación (R^2) entre las variables del análisis histológico (hojas) y la concentración fitoaccesible de metales movilizados por una solución LMWOA

Concentración fitoaccesible de metales en suelo rizosférico (x)	Variables análisis histológico (cortes transversales en las hojas) (y)	Ecuación	R^2
Fe	Grosor cutícula	$y = 0.0103x^2 - 0.3973x + 6.5363$	0.8537
Cd	Área haz vascular	$y = -3064 \ln(x) + 14179$	0.9658

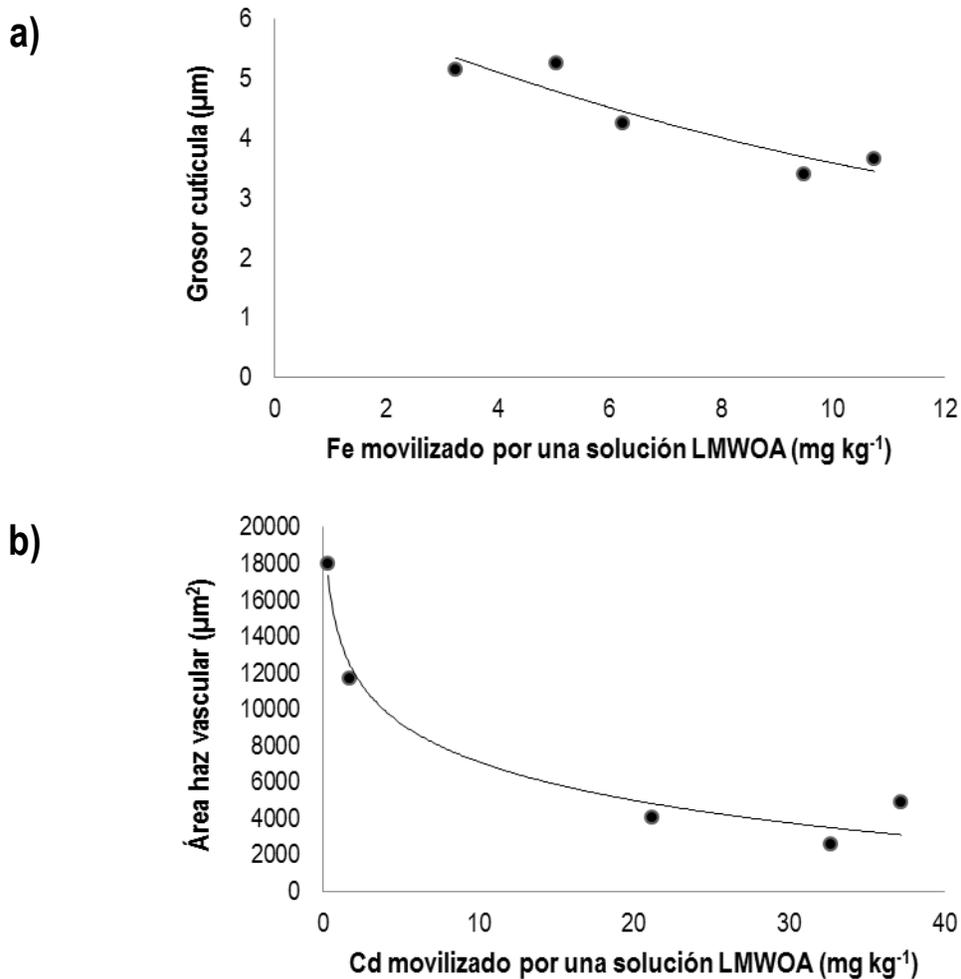


Figura 44. Correlación entre las variables del análisis histológico (cortes transversales en las hojas) y la concentración fitoaccesible de metales movilizados por una solución LMWOA. (a) concentración fitoaccesible de Fe; (b) concentración fitoaccesible de Cd

En lo que se refiere al análisis histológico se encontró correlación negativa entre el grosor de la cutícula (corte transversal en hoja) y la concentración total de Fe movilizado por una solución de ácidos orgánicos de bajo peso molecular ($r = -0.952$). Asimismo se encontró correlación negativa entre el área del haz vascular (corte transversal en hoja) y la concentración total de Cd movilizado por una solución de ácidos orgánicos de bajo peso molecular ($r = -0.940$) (Tabla 21).

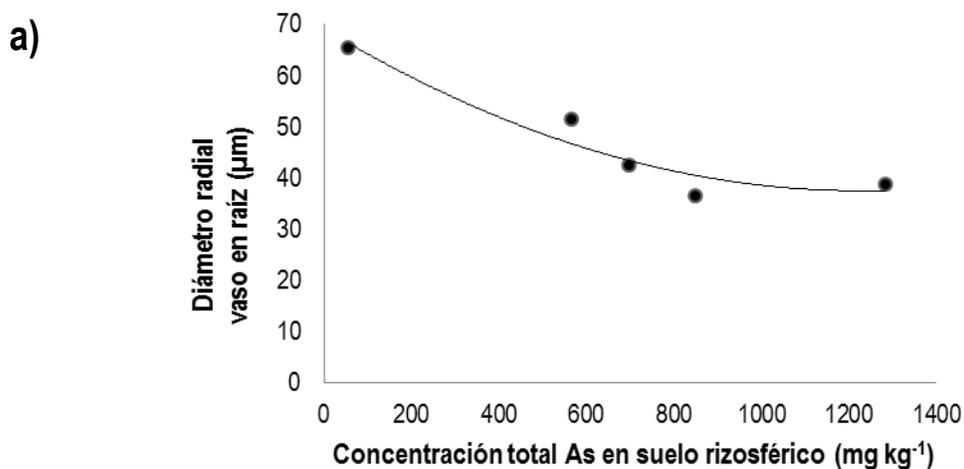
Tabla 21. Coeficientes de correlación de Pearson entre las variables del análisis histológico y la concentración total de metales movilizados por una solución de ácidos orgánicos de bajo peso molecular
Variables análisis histológico

Concentración total de metales movilizados por una solución LMWOA	Crecimiento cutícula	Área haz vascular
As	0.801	0.560
Cd	-0.682	-0.940*
Fe	-0.952*	-0.609
Pb	-0.739	-0.432
Zn	-0.398	-0.688

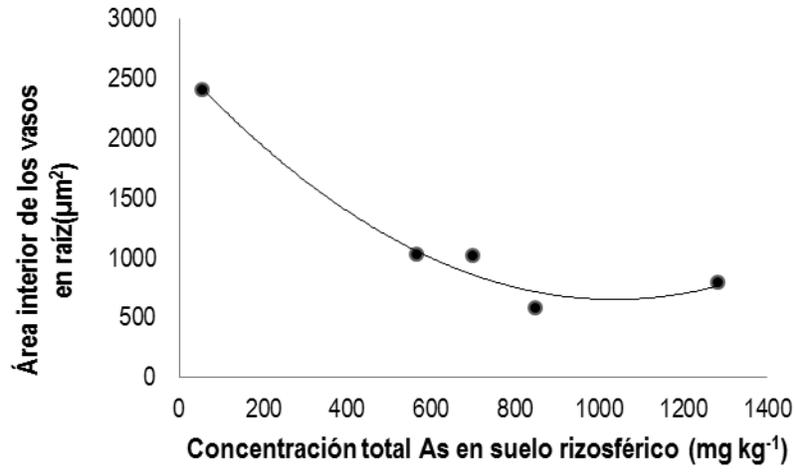
* P < 0.05

Los resultados obtenidos mostraron altas correlaciones entre las variables de los cortes histológicos realizados en la raíz y el contenido total de metales en suelo rizosférico.

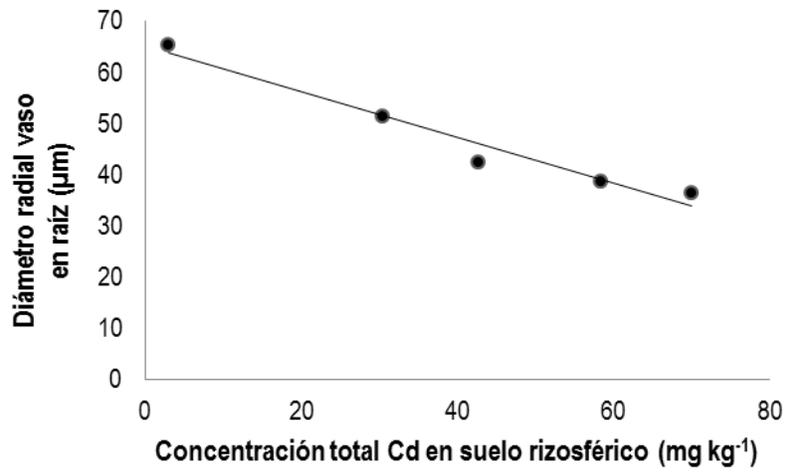
La Figura 45 muestra la correlación entre los cortes transversales realizados en raíz y el contenido total de metales en suelo rizosférico.



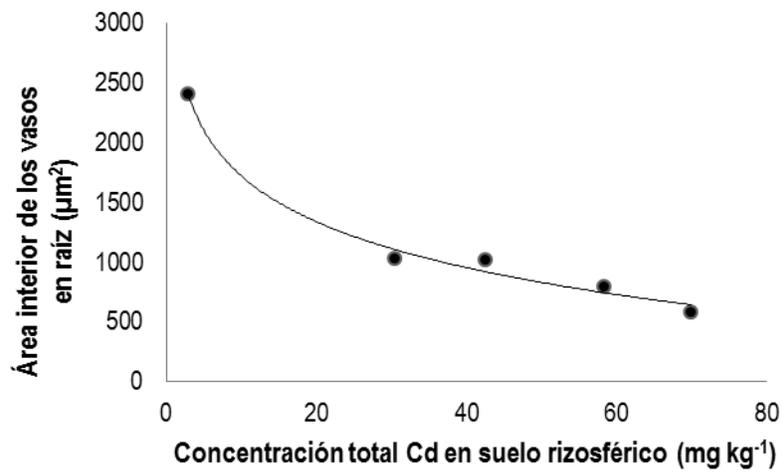
b)



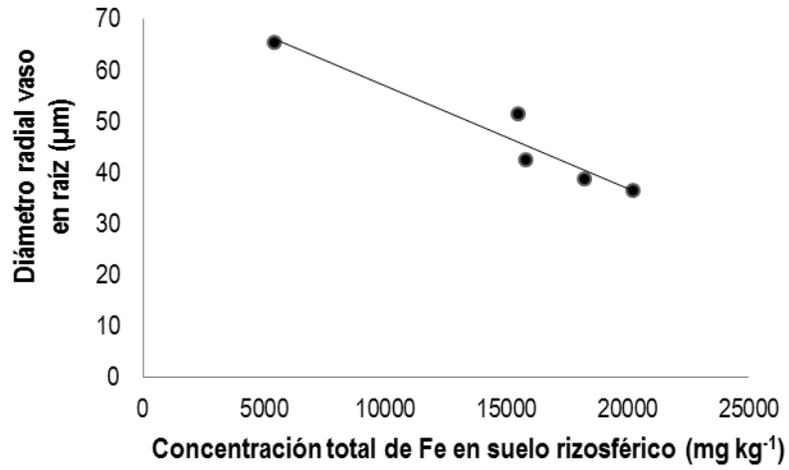
c)



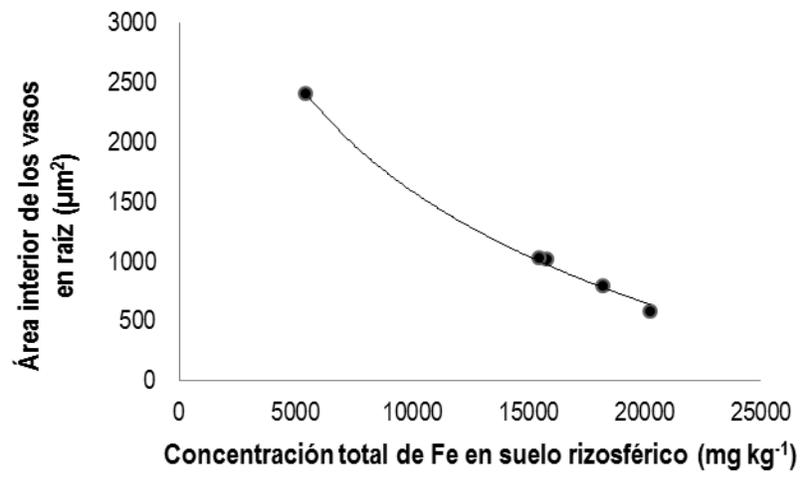
d)



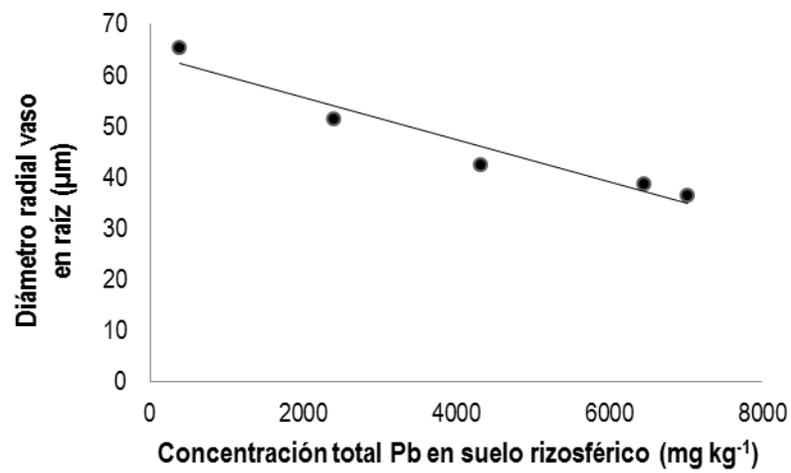
e)



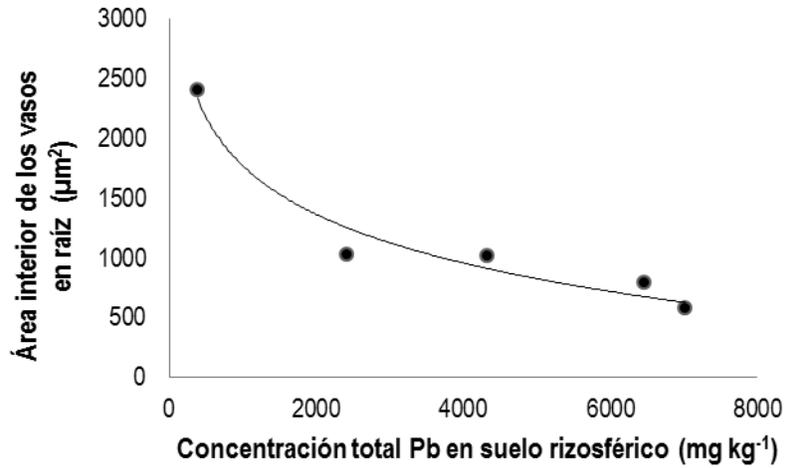
f)



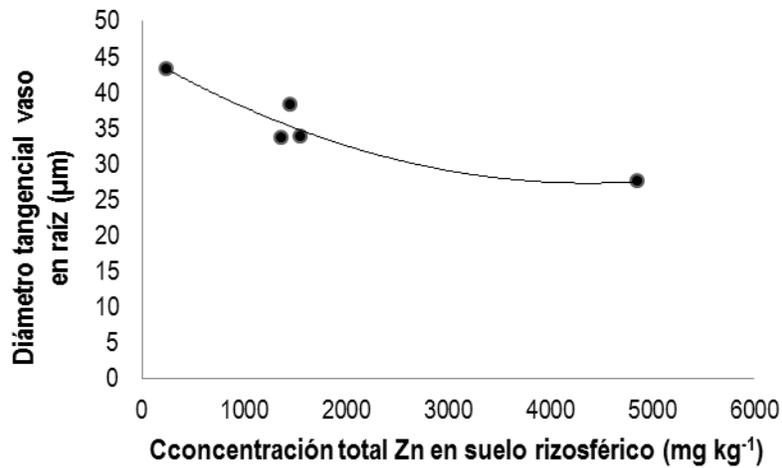
g)



h)



i)



j)

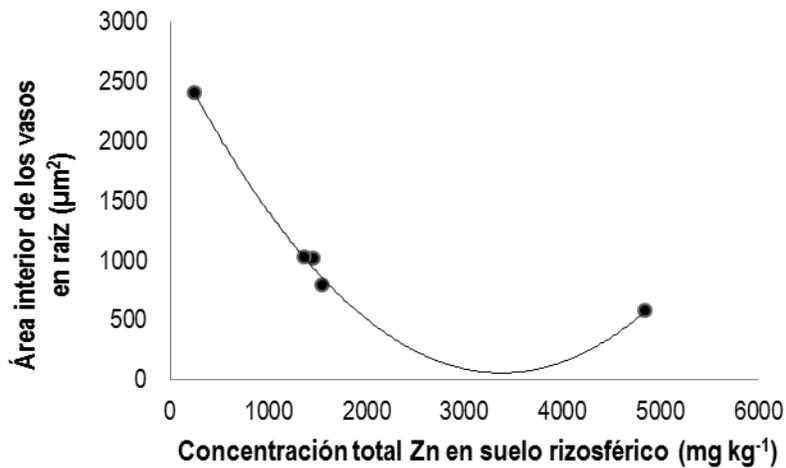


Figura 45. Correlación entre las variables del análisis histológico (cortes transversales) y el contenido total de metales en suelo rizosférico. (a) y (b) Concentración total de As en suelo rizosférico; (c) y (d) Concentración total de Cd en suelo rizosférico; (e) y (f) Concentración total de Fe en suelo rizosférico; (g) y (h) Concentración total de Pb en suelo rizosférico; (i) y (j) Concentración total de Zn en suelo rizosférico

En la Tabla 22 pueden observarse las ecuaciones y coeficientes de determinación (R^2) entre las variables del análisis histológico (cortes transversales) y el contenido total de metales en suelo rizosférico.

Tabla 22. Ecuaciones y coeficientes de determinación (R^2) entre las variables del análisis histológico (cortes transversales) y el contenido total de metales en suelo rizosférico

Concentración total de metales en suelo rizosférico (x)	Variables análisis histológico (cortes histológicos) (y)	Ecuación	R^2
As	Diámetro radial vaso	$y = 2E -05x^2 - 0.0517x + 69.22$	0.9247
As	Área interior de los vasos	$y = 0.0018x^2 - 3.8104x + 2624.2$	0.9785
Cd	Diámetro radial vaso	$y = -0.4461x + 65.149$	0.9594
Cd	Área interior de los vasos	$y = -556.2 \ln(x) + 3005.6$	0.9894
Fe	Diámetro radial vaso	$y = -0.002x + 76.887$	0.9233
Fe	Área interior de los vasos	$y = -1353 \ln(x) + 14051$	0.9968
Pb	Diámetro radial vaso	$y = -0.0041x + 63.94$	0.9405
Pb	Área interior de los vasos	$y = -589.1 \ln(x) + 5844$	0.96
Zn	Diámetro tangencial vaso	$y = 9E -07x^2 - 0.0082x + 45.229$	0.8938
Zn	Área interior de los vasos	$y = 0.0002x^2 - 1.6193x + 2794.2$	0.9951

Las correlaciones entre ambas variables se presentaron de manera negativa en As, Cd, Fe, Pb y Zn; lo que demostró que a medida que aumenta la concentración de EPT en el suelo rizosférico se daña la anatomía de las especies vegetales bajo estudio (Tabla 23).

Tabla 23. Coeficientes de correlación de Pearson entre las variables del análisis histológico y la concentración total de metales en suelo rizosférico

Concentración total de metales en suelo rizosférico	<i>Variables análisis histológico</i>		
	Crecimiento diámetro tangencial	Longitud diámetro radial	Área interior de los vasos
As	-0.712	-0.928*	-0.921*
Cd	-0.848	-0.986*	-0.988*
Fe	-0.857	-0.941*	-0.994**
Pb	-0.804	-0.997**	-0.956*
Zn	-0.945*	-0.846	-0.889*

* P < 0.05; ** P < 0.005

Asimismo también se encontraron altas correlaciones entre los cortes longitudinales en raíz y el contenido total de metales en suelo rizosférico (Figura 46). La concentración total de Cd ($r = -0.833$), Pb ($r = -0.876$) y Zn ($r = -0.921$) se correlacionaron de manera negativa con la longitud de los vasos en raíz, lo que sugiere que la presencia de estos metales en el suelo rizosférico puede modificar la anatomía de las especies vegetales bajo estudio (Tabla 24).

Tabla 24. Coeficientes de correlación de Pearson entre la longitud de los vasos en la raíz y la concentración total de metales en suelo rizosférico

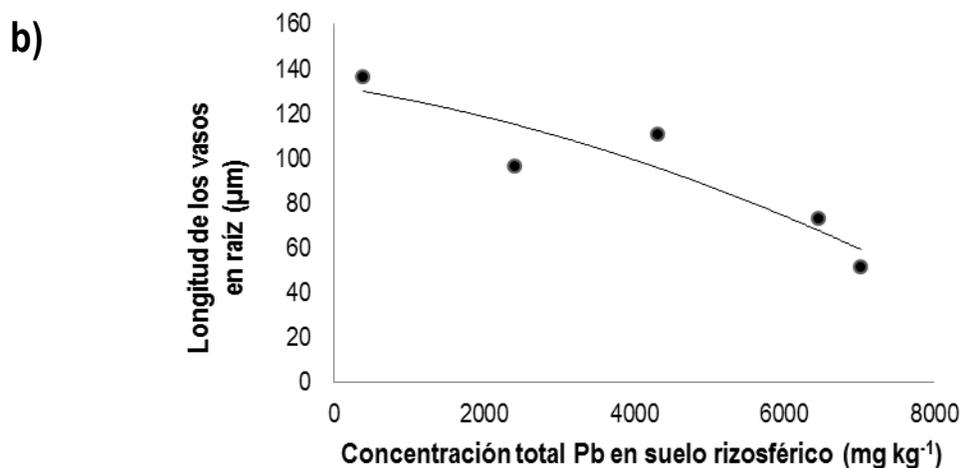
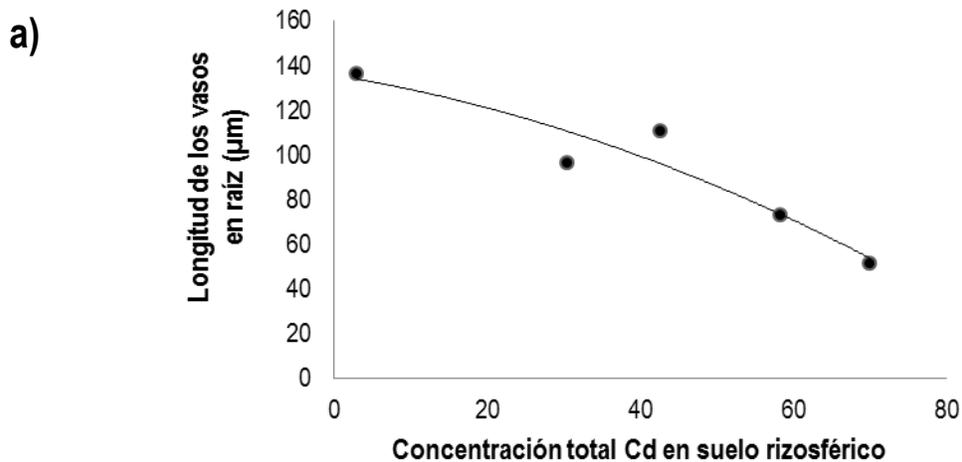
Concentración total de metales en suelo rizosférico	<i>Variable análisis histológico</i>
	Longitud de los vasos en raíz
As	-0.781
Cd	-0.883*
Fe	-0.852
Pb	-0.876*
Zn	-0.921*

* P < 0.05

La Tabla 25 muestra las ecuaciones y coeficientes de determinación (R^2) entre las variables del análisis histológico (cortes longitudinales) y el contenido total de metales en suelo rizosférico.

Tabla 25. Ecuaciones y coeficientes de determinación (R²) entre las variables del análisis histológico (cortes longitudinales) y el contenido total de metales en suelo rizosférico

Concentración total de metales en suelo rizosférico (x)	Variabes análisis histológico (cortes longitudinales) (y)	Ecuación	R ²
Cd	Longitud de los vasos en raíz	$y = -0.0088x^2 - 0.5559x + 135.76$	0.9032
Pb	Longitud de los vasos en raíz	$y = -7E-07x^2 - 0.0053x + 132.17$	0.8398
Zn	Longitud de los vasos en raíz	$y = 5E-06x^2 - 0.0458x + 148.55$	0.8608



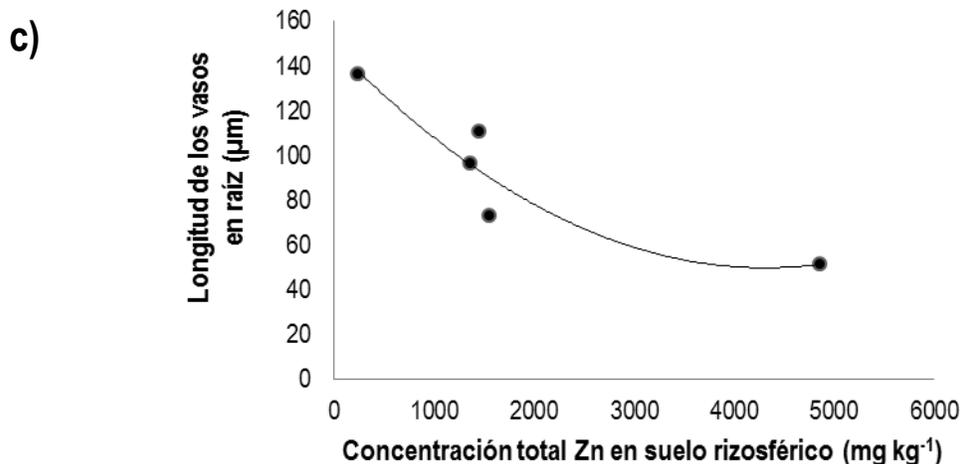


Figura 46. Correlación entre las variables del análisis histológico (cortes longitudinales) y el contenido total de metales en suelo rizosférico. (a) Concentración total de Cd en suelo rizosférico; (b) Concentración total de Pb en suelo rizosférico; (c) Concentración total de Zn en suelo rizosférico

6.6 REGRESIÓN

De manera general la Tabla 26 muestra los resultados obtenidos con el procedimiento REG (Stepwise) del programa estadístico SAS (1999) para el análisis de regresión múltiple entre las variables del análisis ecofisiológico y las correspondientes al análisis químico. La Tabla 27 resume la nomenclatura principal empleada en este análisis, para una mejor comprensión de los resultados del análisis de regresión.

Se observó que la disminución de clorofila b (Cl_b), en *A. fistulosus* (Figura 22) y *Nama* sp. (Figura 23), está relacionada con el aumento en la concentración total de Pb bioacumulado en la raíz (brPb). Asimismo se encontró que conforme aumenta la concentración fitoaccesible de hierro (fiFe), disminuye el grosor de la cutícula de la epidermis (Hgc) de ambas especies vegetales. Además, el análisis mostró que la disminución en el área de los haces vasculares en las hojas (Hah), está fuertemente influenciada por la concentración total de Cd bioacumulado en las mismas (bhCd).

En lo que se refiere a las modificaciones anatómicas en el tallo de *A. fistulosus* y *Nama* sp., tras haber realizado el análisis de regresión, se encontró que la disminución en la longitud de los

vasos (Tlv), está relacionada con el cambio de pH en el suelo rizosférico de ambas especies vegetales; asimismo la disminución en el tamaño del diámetro tangencial en este tejido vegetal, se ve afectado por el aumento en la concentración total de Pb bioacumulado en la raíz (brPb) de ambas especies vegetales.

En los cortes longitudinales realizados en la raíz de *A. fistulosus* y *Nama* sp., la concentración total de Zn en el suelo rizosférico (srZn), así como la concentración total de hierro bioacumulado en las hojas (bhFe); influyen significativamente ($P < 0.05$) en la disminución de la longitud de los vasos de las raíces (Rlv). Nuevamente la concentración total de zinc en el suelo rizosférico (srZn) y la concentración total de arsénico bioacumulado en la raíz (brAs); influyen significativamente ($P < 0.05$) en la disminución del diámetro tangencial (Rtan) de los vasos en las raíces de *A. fistulosus* y *Nama* sp. Asimismo la concentración total de Pb en el suelo rizosférico (srPb) disminuye el diámetro radial de los vasos en las raíces y la concentración total de Fe en suelo rizosférico (srFe) en el área interior de los vasos en las raíces (Rai) de ambas especies vegetales.

Tabla 26. Coeficientes de regresión entre las variables del análisis ecofisiológico y las variables del análisis químico

Variable dependiente	Interceptada al origen (β_0)	Coeficiente de variación (β_j)	R ²	Valor de F	Pr > F
Clorofila b (Cl _b)	23.136	-0.1484 bhFe	0.5701	3.98	0.1400
		-1.623 brPb	0.4195	80.50	0.0122*
		0.0534 bhZn	0.0104	1353.46	0.0173
Longitud de los vasos en hojas (Hlv)	6.569	-0.2545 bhZn	0.6045	4.59	0.1217
		0.2484 fiCd	0.3342	10.90	0.0808
		0.8635 fiFe	0.0603	58.47	0.0828
Grosor cutícula en hojas (Hgc)	2.717	-0.2266 fiFe	0.9079	29.57	0.0122*
		-0.0121 fiPb	0.0905	113.96	0.0087
		0.0026 bhPb	0.0016	925.74	0.0209
Área haz vascular en hojas (Hah)	122.988	-29.7452 bhCd	0.9330	41.74	0.0075*
		0.3300 srPb	0.0558	9.91	0.0878
		3.9853 brPb	0.0112	1199.09	0.0184
Longitud de los vasos en tallos (Tlv)	104.333	-34.2063 pH	0.9289	39.17	0.0082*
		-0.0120 btFe	0.0663	27.49	0.0345
		-0.0244 brFe	0.0047	61.54	0.0807
Diámetro tangencial en tallos (Ttan)	10.997	-0.9320 brPb	0.8716	20.37	0.0203*
		0.0301 brFe	0.1060	9.50	0.0911
		-0.0196 srAs	0.0223	3,621,483	0.0020
Diámetro tangencial en tallo (Ttan)	29.172	-8.5213 pH	0.7176	7.62	0.0701
Área interior de los vasos en tallos (Tai)	305.303	-101.8677 pH	0.7506	9.01	0.0576
Longitud de los vasos en raíces (Rlv)	14.221	-0.1104 srZn	0.8491	16.88	0.0261*
		-0.0594 bhFe	0.1436	39.31	0.0245
		0.1480 srCd	0.0073	33,308	0.0035

Diámetro tangencial en raíces (Rtan)	7.234	-0.0422 srZn	0.8934	25.15	0.0153*
		0.1793 brAs	0.0977	21.94	0.0427
		-0.0175 bhPb	0.0088	106.79	0.0614
Diámetro radial en raíces (Rrad)	8.165	-0.0274 srPb	0.9947	560.75	0.0002**
		-0.0069 fiZn	0.0052	108.15	0.0091
		0.0735 btPb	0.0001	18,724.6	0.0047
Área interior de los vasos en raíces (Rai)	63.678	-0.2700 srFe	0.9898	292.45	0.0004**
		-0.1076 srZn	0.0089	14.06	0.0643
		1.0810 btPb	0.0013	4682.61	0.0093

* P < 0.05; **P < 0.005

Tabla 27. . Lista de abreviaturas empleadas en el análisis de regresión múltiple

Abreviatura	Significado
srAs srCd srFe srPb srZn	Concentración total de metales en suelo rizosférico
fiAs fiCd fiFe fiPb fiZn	Concentración fitoaccesible de metales en suelo rizosférico
bhAs bhCd bhFe bhPb bhZn	Concentración total de metales bioacumulados en hojas
btAs btCd btFe btPb btZn	Concentración total de metales bioacumulados en tallos
brAs brCd brFe brPb brZn	Concentración total de metales bioacumulados en hojas
pH	Potencial de hidrógeno

7. DISCUSIÓN

7.1 ANÁLISIS QUÍMICO

Los valores de pH registrados en el suelo rizosférico de *A. fistulosus* y *Nama* sp.; corresponden a los valores típicos de una región árida de origen sedentario con suelo carbonatado. En los suelos de regiones áridas o semiáridas son frecuentes la escasez de agua (pluviometría baja) y el complejo coloidal (residuos de plantas y actividad microbiana) en este sentido cualquier proceso que pueda mantener el incremento de cationes como por ejemplo el Ca^{2+} ; contribuirá a aumentar la alcalinidad. Los resultados mostraron que aún y cuando la escasez de agua en el arroyo del Cerro de San Pedro sea evidente en los suelos rizosféricos de *A. fistulosus* y *Nama* sp; la presencia de complejos coloidales de HMA (P_4 , P_5 , P_6 y P_7), partes aéreas y raíces de árboles y plantas; arbustos y otras plantas contribuyen a que en los suelos rizosféricos de ambas especies vegetales se registren valores relativamente altos de pH.

Estudios previos han demostrado que la solubilidad y disponibilidad de los EPT en el suelo para las plantas pueden verse afectadas por diversos factores entre los que destacan pH, potencial redox, textura del suelo, capacidad de intercambio catiónico, entre otros; que determinan en gran medida el grado de absorción y traslocación de EPT en las diferentes especies vegetales; procesos como el intercambio de aniones y la oxidación y reducción pueden llegar a favorecer la mineralización de los materiales orgánicos (complejos coloidales) que pudieran ser retenidos de manera temporal mediante procesos químicos o bioquímicos (Carrillo-González, 2005b; Rodríguez-Elizalde, 2006; Luković *et al.*, 2012).

En el presente estudio se evaluó la concentración total y fitoaccesible de As, Cd, Fe, Pb y Zn en el suelo rizosférico de *A. fistulosus* y *Nama* sp; los cuales se consideran no esenciales para la nutrición de las plantas el As, Cd y Pb; en tanto que Fe y Zn son utilizados por las plantas en

pequeñas cantidades y pueden ser acumulados en diversos órganos y tejidos (Maruthi *et al.*, 2007; Ďurčėková *et al.*, 2007; Navarro *et al.*, 2007; Seregin *et al.*, 2004; Navarro y Navarro, 2003).

En plantas de garbanzo (*Cicer arietinum*) en condiciones de invernadero con luz natural y expuestas a concentraciones de 30 y 60 mg de As kg⁻¹ se observó que la fitotoxicidad mostraba un comportamiento variable, debido a la analogía química del arsénico y el fósforo, resultado de la competencia por los sitios de adsorción entre el arseniato (forma en la que comúnmente las plantas absorben As) y el fosfato, reduciendo su absorción en el suelo y aumentando la concentración en la solución (Gunes *et al.*, 2009). Al igual que en las plantas de garbanzo, la concentración total de As en el suelo rizosférico *A. fistulosus* y *Nama* sp; mostró un comportamiento variable; como se ha mencionado anteriormente si se considera la analogía geoquímica que comparten el As y el P, el ácido cítrico, málico y oxálico mejoran la movilización de P en la rizósfera. De acuerdo a los resultados obtenidos, se observó que bajo condiciones de campo, la producción de ácidos orgánicos en la rizosfera de *A. fistulosus* y *Nama* sp. asociado a la actividad biológica de ambas especies vegetales; el As tiende a quedarse retenido en las partículas del suelo. La elevada concentración de Fe (20,231 mg kg⁻¹) en el sustrato podría influir en la baja movilidad del As en el suelo rizosférico, debido principalmente a la presencia de fases de óxidos e hidróxidos de Fe que retienen el As mediante procesos de adsorción específica o co-precipitación con estos óxidos.-En lo que respecta a la determinación del contenido de Pb en el suelo rizosférico de *A. fistulosus* y *Nama* sp; este elemento suele presentarse en formas químicas insolubles en el suelo. Sin embargo, los resultados obtenidos mostraron que la fitoaccesibilidad del Pb podría, en los suelos rizosféricos de ambas especies, encontrarse asociado a fracciones solubles en agua meteórica y carbonatos, lo cual permite al igual que el Cd, éste pueda ser absorbido a través de la raíz. Rodríguez *et al.* (2006) evaluó y reportó la capacidad de seis especies vegetales para acumular Pb; al menos cuatro de las seis especies tratadas con las dosis de 500 y 1000 mg de Pb kg⁻¹, mostraron una tendencia a

acumular este elemento conforme se aumentó la dosis en Pb en el suelo. En lo que respecta a *Nama sp.* sólo en los puntos P₅ y P₆ se observó un comportamiento similar.

La acidificación de la rizósfera y la exudación de ácidos orgánicos se consideran factores potenciales para mejorar la acumulación de metales. Los ácidos orgánicos de bajo peso molecular se caracterizan por poseer uno o más de un grupo carboxilo, es por esta razón que intervienen en muchos procesos que incluyen la movilización y absorción de nutrientes del suelo hacia las plantas y microorganismos, detoxificación de metales por las plantas y la proliferación microbiana en el rizósfera; sin embargo, hasta hace poco se han hecho pruebas *in vivo* que puedan apoyar alguna de estas hipótesis (Jones, 1998; Benavides *et al.*, 2005). Sin embargo, en este estudio se observó que la presencia de oxi-hidróxidos de Fe podría controlar la fracción móvil y fitodisponible del As. Cabe destacar que las características de los puntos de muestreo en *A. fistulosus* (P₄) y *Nama sp.*(P₈), influyeron en la fitoaccesibilidad del As; con respecto al Cd y Pb, los resultados mostraron que su asociación a las fracciones solubles en agua meteórica y carbonatos, podrían explicar la traslocación de ambos hacia la parte aérea de la planta, debido principalmente a la solubilización por la acidificación del medio circundante.

Como referencia a los valores establecidos en la NOM-147-SEMARNAT/SSA1-2004, los resultados obtenidos mediante la movilidad de EPT en presencia de una solución LMWOA, mostraron que la concentración fitoaccesible de Cd en el suelo rizosférico de *A. fistulosus* y *Nama sp.*, se encuentra dentro de los límites permisibles para suelos agrícolas (37 mg kg⁻¹); sin embargo no puede considerarse la concentración fitoaccesible de este elemento, como índice de su efecto en la acumulación de Cd en las plantas; habrá de considerarse la dinámica de la rizósfera influenciada por la interacción de factores ambientales, procesos biológicos y químicos, la absorción de Cd desde la raíz y su distribución dentro de la planta (Jones, 1998; Cieśliński y Van-Ress, 1998).

Análogo a lo reportado por Cieśliński y Van-Ress (1998), las diferencias en la disponibilidad de Cd en el suelo rizosférico de *A. fistulosus* y *Nama* sp; dependió en gran medida de la concentración total de Cd en el suelo rizosférico, interpretándose como la respuesta de ambas especies a los metales y nutrientes presentes en la solución del suelo que pueden ser transferidos a las plantas. En este estudio, las concentraciones de Cd en raíz para ambas especies vegetales, fueran hasta 10 veces superior (P4 y P7) a las referidas por otros autores (Kabata-Pendias, 2011; Cieśliński y Van-Ress, 1998).

Sharma y Shanker han demostrado que las raíces de plantas tienen la capacidad de tomar cantidades significativas de plomo. En este estudio se observó que la “bioacumulación” de Fe y Pb en las raíces de *A. fistulosus* y *Nama* sp., podría deberse principalmente a una retención física o a un entrapamiento de material particulado en la raíz.

La movilidad de Pb mostró valores semejantes a los reportados en el suelo de *Triticum aestivum* L. (19.22 -53.61 $\mu\text{g g}^{-1}$) por Xiao-quan *et al.* (2005). En el suelo rizosférico de *A. fistulosus* para el punto de muestreo P₄ (45.25 mg kg^{-1}) y en lo que respecta al suelo rizosférico de *Nama* sp, para los puntos de muestreo P₆, P₇ y P₈ (18.81, 23 y 23.06 mg kg^{-1} , respectivamente).

Los resultados obtenidos para la concentración fitoaccesible de Zn en presencia de una solución LMWOA, en el suelo rizosférico de *Nama* sp. para los puntos de muestreo P₆ y P₉ (59.8 y 38.8 mg kg^{-1}) mostró valores semejantes a los reportados en el suelo de *Triticum aestivum* L. (28.18 -71.95 $\mu\text{g g}^{-1}$) por Xiao-quan *et al.* (2005). La dinámica en la disponibilidad del Zn en el suelo rizosférico podría haber dependido de los valores de pH del suelo, textura y composición química del suelo. De acuerdo con los valores registrados de pH en el suelo rizosférico de *A. fistulosus* y *Nama* sp. la disponibilidad del Zn puede incrementarse o disminuirse si aumenta excesivamente el pH del

suelo; en este sentido si un suelo ha sido acidificado para aumentar la disponibilidad de otros elementos, podría producirse toxicidad por zinc (Navarro y Navarro, 2003).

7.2 ANÁLISIS ECOFISIOLÓGICO E HISTOLÓGICO

Metales como Cu, Zn, Ni y Mn son microelementos para los organismos fotosintéticos, la toxicidad de estos metales puede dar lugar a diversos efectos que dependerán de la planta y la concentración del metal. El efecto de los EPT presentes en el suelo, puede interferir en la actividad de los centros de reacción del fotosistema II (PSII), causar fotoinhibición, inhibición de la actividad de la plastocianina (estrés oxidativo) y cambios en el metabolismo de la planta (Küpper *et al.*, 2002).

Se ha demostrado en plántulas de girasol (*Helianthus annuus*) cultivadas en arena contaminada artificialmente con CdCl₂ 10 y 20 μM; tratadas durante una semana, mostraban clorosis en las hojas, manifestándose una reducción en el contenido de clorofila a y b (Di Cagno *et al.*, 1999). En las hojas de *A. fistulosus* y *Nama* sp. también se encontró una reducción de clorofila a, b y total. Como ya se ha mencionado la capacidad de las plantas para asimilar Cd dependerá de su concentración en el suelo, presencia de materia orgánica, potencial redox, pH, temperatura y la concentración de otros iones como K, Ca, Mg, Fe, Mn, Cu, Zn y Ni, con los cuales Cd parece competir por las proteínas que se encuentran embebidas en la bicapa lipídica que compone a la membrana plasmática; en este sentido la membrana celular previene o reduce la entrada de estos iones a la célula (Benavides *et al.*, 2005). Se ha tratado de explicar la reducción de clorofila, debido principalmente a la sustitución del Mg²⁺ en la molécula de clorofila (Rodríguez-Elizalde, 2006); si se considera la analogía química entre el Cd y Zn; estando ambos elementos en solución como cationes divalentes y presentarse en forma libre, pueden sustituir el sitio del magnesio en la molécula de clorofila.

En este estudio se demostró que la concentración de As bioacumulado en las hojas de *A. fistulosus* supera ca. entre 17 a 52 veces la concentración establecida como normal por Kabata Pnedias (2011), mientras que *Nama sp.*, supera 11 veces la concentración establecida por el autor. Si se considera la analogía del As con el P, es posible que este elemento puede interferir de manera indirecta en la fotofosforilación, afectando la capacidad de los organismos fotosintéticos para captar la luz solar; reflejándose en la disminución del contenido de clorofila a, b y total;

Pietrini *et al.* (2003) reportaron que el contenido de clorofila disminuía en *Phragmites australis*, cultivadas en una cámara de crecimiento con temperatura y humedad controlada; cuando se añadió cadmio como CdSO₄ (50 y 100 µM) a la solución nutritiva Hoagland; la concentración de 50 µM aumentó significativamente la concentración de Fe, Cd y Zn, con respecto a los controles, mientras que la concentración de estos elementos se mantuvo sin cambios en la concentración 100 µM. Los resultados que se obtuvieron en la determinación del contenido total de Fe y Zn bioacumulados en las hojas de *A. fistulosus* (P₂) y *Nama sp.* (P₅, P₆ y P₇), se vieron afectados por la concentración de Cd en el suelo rizosférico. Se ha observado que en la mayoría de las condiciones ambientales el Cd puede entrar en las raíces a través del tejido cortical y llegar al xilema vía apoplástica (paredes celulares) y/o simplástica (movimiento en el interior del citoplasma, mediante plasmodesmos), acompañado por varios ligandos como ácidos orgánicos y/o fitoquelatinas. Frecuentemente los iones de Cd suelen ser retenidos principalmente en las raíces y sólo unas pequeñas cantidades se transportan en el siguiente orden decreciente tallos, hojas, frutos y semillas (Rodríguez-Serrano *et al.*, 2008; Benavides *et al.*, 2005).

Los resultados obtenidos en la determinación del contenido total de Cd bioacumulado en el tejido vegetal de *A. fistulosus* y *Nama sp.* difiere de lo normalmente encontrado, la concentración de Cd siguió el siguiente orden: hojas > tallos > raíces; esta diferencia puede asociarse con las

propiedades de absorción y traslocación entre plantas cultivadas en campo o en condiciones controladas (invernadero e hidroponía). Se ha demostrado que la misma especie cultivada (*Salix viminalis*), cuando se cultivó en hidroponía la concentración Cd fue mayor en las raíces, en contraste con las cultivadas en campo donde la concentración de este elemento fue mayor en las hojas; este efecto fue atribuido a las condiciones en que fueron cultivadas las plantas. Los resultados obtenidos en *A. fistulosus* y *Nama* sp. concuerdan con los resultados reportados en *S. viminalis* y puede ser atribuido a las condiciones de cultivo (campo); asimismo concuerdan con lo observado en hojas de sauce (*Salix*), donde la bioacumulación de Cd en las hojas aumentó con respecto a la concentración de Cd en el suelo; la capacidad de *A. fistulosus* y *Nama* sp para acumular Cd en las hojas podría considerarse como un indicador de la disponibilidad de este elemento en sedimentos contaminados (Luković *et al.*, 2012).

Asimismo la disminución en el contenido de pigmentos fotosintéticos en *A. fistulosus* y *Nama* sp, pudo verse afectado por la presencia de As y Pb. Arsénico contribuye en la generación de especies reactivas de oxígeno (ROS) como superóxido (O_2^-), hidróxilo (OH^-) y peróxido de hidrógeno (H_2O_2); resultado de los cambios que experimenta el arsénico (arseniato a arsenito) en las plantas; de manera general se ha observado que el efecto fitotóxico del As y Pb afectan negativamente el proceso de la fotosíntesis, interfiriendo en las reacciones luminosas. As puede causar daños en la membrana por la formación de OH^- y en consecuencia la peroxidación de lípidos y daños en la transferencia de electrones de PSII a PSI al igual que Pb. Se ha demostrado que en plantas expuestas a $(PbNO_3)_2$ en un medio acuático, las células de las hojas mostraron cambios en la estructura del cloroplasto, interfiriendo con la captación, absorción y transmisión de luz a los centros de reacción (LHC I y II) (Nelson y Cox, 2006; Azcón-Bieto y Talón, 2008; Gunes *et al.*, 2009). En condiciones normales, la proporción de *clorofila a* siempre es mayor que la *clorofila b*

(3:1). Estudios previos han demostrado que el Pb puede alterar esta proporción; debido a la reducción de elementos esenciales como el Fe y el Mg, dicha alteración se debe al aumento de actividad de la enzima clorofilasa; por lo que la clorofila b se ve más afectada que la clorofila a. La proporción *clorofila a: clorofila b* en *A. fistulosus* y *Nama* sp. podría verse alterada por la presencia de Pb; en el presente estudio no se puede atribuir la reducción en el contenido de pigmentos por acción de Fe, debido a que la concentración de Fe en el suelo no suele considerarse como un índice de la disponibilidad de este elemento para la planta; se ha observado que algunas especies vegetales pueden llegar almacenar excedentes de Fe (300 mg kg^{-1}) en los cloroplastos de las hojas, sin mostrar síntomas de toxicidad (Navarro y Navarro 2003; Sharma y Shanker, 2005; Rodríguez-Elizalde, 2006).

Estudios previos han demostrado que los procesos de absorción y traslocación de Pb y Zn en las células de la raíz presentan cierta similitud. Di Baccio *et al.* (2010) observaron que Zn se acumuló en mayor proporción en el córtex, rizodermis y tejidos corticales; en tanto que Pb se transporta de manera radial a través de la corteza y se acumula cerca de la endodermis (Sharma y Shanker, 2005). La acumulación de ambos metales en las diferentes partes de la raíz y el prematuro desarrollo de barreras apoplásticas, como las bandas de Caspary podría considerarse como un mecanismo de tolerancia en la raíz para reducir la acumulación y transporte de grandes cantidades de Zn y Pb hacia la parte aérea (Di Baccio *et al.*, 2010). Huang y Cunningham (1996) reportaron que las plantas dicotiledóneas acumulan cantidades significativas mayores de Pb en las raíces que las plantas monocotiledóneas. Los resultados mostraron que la concentración de Pb en las raíces de *A. fistulosus* (monocotiledónea) y *Nama* sp. (dicotiledónea) mostró un comportamiento similar; dicha similitud puede atribuirse al movimiento del Pb en el apoplasto de las raíces y el papel que desempeña la endodermis al actuar como una barrera parcial a la circulación de este elemento entre la raíz y el tallo (Sharma y Shanker, 2005). Se ha reportado en híbridos de álamo (*Populus x*

euramericana clon I-214) cultivados en condiciones de hidroponía y expuestos a Zn como $Zn(NO_3)_2 \cdot 6H_2O$ añadido a la solución nutritiva Hoagland (0.065 mg kg^{-1} y 65 mg kg^{-1}). Se ha reportado que Zn se acumuló en las diferentes partes de la raíz como córtex, rizodermis y tejidos corticales; la concentración de Zn en las raíces de *Nama* sp. mostró cantidades significativamente mayores en comparación con las concentraciones reportadas en las raíces de álamo (92.93 mg kg^{-1}) en contraste con la concentración de este elemento en las raíces de *A. fistulosus* (62.34 mg kg^{-1}); esta diferencia puede atribuirse a la formación de barreos apoplásticos como las bandas de Caspary (Figura 26) (Di Baccio *et al.*, 2010).

En condiciones normales, el desarrollo de las bandas de Caspary sigue tres etapas: (1) las paredes celulares primarias o bandas de Caspary se forman alrededor del cilindro vascular, en esta etapa las bandas de Caspary suelen contener pequeñas cantidades de suberina y lignina, (2) en el interior de las paredes de las bandas de Caspary se deposita una mayor cantidad de suberina con la finalidad de proteger a la planta de la entrada incontrolada de solutos, (3) se lleva a cabo un engrosamiento secundario de las paredes de las bandas de Caspary, gracias a la deposición de celulosa (Schreiber y Franke; 2011; Di Baccio *et al.*, 2010).

Bajo condiciones de campo, se observó específicamente en los cortes transversales realizados en las raíces de *A. fistulosus* pudo observarse cambios en la estructura de la banda de Caspary; las variaciones anatómicas observadas en las bandas de Caspary pueden atribuirse a un posible engrosamiento prematuro con la finalidad de reducir la permeabilidad de las bandas de Caspary y de manera indirecta reducir la absorción y traslocación de solutos. En plantas cultivadas en sistemas hidropónicos, se ha observado que el exceso de Zn y Cd induce la suberización de la endodermis y el prematuro desarrollo del xilema (xilogenesis prematura). Los cortes transversales realizados en las raíces de *A. fistulosus* y *Nama* sp. mostraron lignificación prematura inducida probablemente por la acumulación de Cd y Zn en la raíz; en plántulas de *Agave lechuguilla*

expuestas a Cd, se observó que los vasos del xilema lignifican prematuramente; debido principalmente a que los iones de Cd ingresan de manera directa al xilema o acompañado con algunas proteínas como (MT o PC); es posible que al igual que en las plántulas de lechuguilla, los iones de Cd que ingresan a *A. fistulosus* y *Nama* sp. ingresen por vía simplástica, hasta alcanzar el xilema y finalmente el floema (Sharma y Shanker, 2005; Méndez, 2011; Di Baccio *et al.*, 2010).

Después de haber culminado el crecimiento de la raíz principal, se ha observado en raíces de maíz contaminadas artificialmente con Cd ($\text{Cd}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$) y con Pb ($\text{Pb}(\text{NO}_3)_2$), la unión de estos dos metales a las paredes celulares; razón por la cual estos dos metales pueden quedar inmovilizados y no ejercer su efecto tóxico en los compartimentos de las células metabólicamente activas; aún y cuando se ha expuesto con anterioridad la maduración prematura de las bandas de Caspary y la función que estas desempeñan, no puede perderse de vista que aún y con presentar daños en su formación en las raíces de *A. fistulosus* y *Nama* sp.; esta barrera del sistema de la raíz trata de cumplir con su función; retener la mayor cantidad de metales pesados (Cd, Pb y Zn) antes de que estos penetren en la corteza, citoplasma y en las paredes de todas las células (Seregin *et al.*, 2004).

7.3 COLONIZACIÓN MICORRÍZICA

Con respecto a los bajos niveles de colonización (por debajo del 50%) en *A. fistulosus* y *Nama* sp; es difícil discernir el efecto de la presencia de la colonización micorrízica. Sin embargo los resultados obtenidos, permiten establecer su presencia en sistemas impactado por DAR. Cabe destacar que la inoculación natural o inducida de HMA, no tiene un efecto negativo en el crecimiento de la planta; como se observó en *Lens culinaris* inoculada de manera artificial con *Glomus mosseae*; aún y cuando en el presente estudio se hizo énfasis en asociar la presencia de HMA en las raíces de las especies vegetales bajo estudio; cabe destacar la importancia de las relaciones simbióticas entre

la planta y los microorganismos que habitan en la rizósfera; siendo así se ha demostrado que la presencia de endomicorrizas podría influir en la absorción y transporte de P, Cd, Pb (González-Chávez et al., 2009; Benavides *et al.*, 2005; Sharma y Shanker, 2005; Smith y Read, 2000).

8. CONCLUSIONES Y PERSPECTIVAS

En el presente estudio se evaluó la concentración total de As, Cd, Fe, Pb y Zn, en el suelo rizosférico de *A. fistulosus* y *Nama* sp. En base a lo anterior se demostró que la concentración total de As y Pb en *Nama* sp., superó los las concentraciones de referencia para dichos elementos para un suelo con fines de uso agrícola/residencial y comercial establecidos en NOM-147-SEMARNAT/SSA1-2004. Para el caso del As se registró que este elemento se concentra 58.4 veces más de lo permitido para el uso de suelo con fines agrícola/residencial y comercial; agrícola, mientras que el Pb supera 23 veces más la concentración de referencia.

La evaluación de la concentración fitoaccesible permitió analizar la movilidad a la que pueden estar sujetos los diferentes EPT evaluados. A pesar que las concentraciones de As son elevadas en el suelo rizosférico de ambas especies vegetales; se estableció que la movilidad de dicho elemento es relativamente baja, debido principalmente a la presencia de oxi-hidróxidos de hierro que podrían retener al As mediante procesos de adsorción específica o co-precipitación. Con respecto a los demás EPT analizados se observó que la concentración fitoaccesible tiende a disminuir aguas abajo con respecto al cauce del arroyo San Pedro.

En base a lo anteriormente expuesto y considerando las concentraciones reportadas como normales y los criterios de hiperacumulación propuestos, por Ent *et al.* (2012); puede concluirse que tanto *A. fistulosus* como *Nama* sp. tienen la capacidad de hiperacumular As, Cd, Pb y Zn. Para el caso de *A. fistulosus* podría considerarse una especie hiperacumuladora de Cd y As; debido principalmente a su capacidad para acumular 347.6 veces más la concentración de Cd y 1.26 veces las concentración de As bioacumulada en hojas con respecto a los valor establecido para la PER propuesta (0.05 y 0.1 mg kg⁻¹ respectivamente).

Con respecto a los valores establecidos en la Tabla 1 para una PER; se observó que *Nama* sp. tiene la capacidad de bioacumular As en las hojas 190.3 veces la concentración establecida para una PER; así también esta plata tiene la capacidad de bioacumular en las hojas hasta 113.4 veces más la concentración de Cd, y 10.9 veces la de Zn..

La respuesta fisiológica, en el presente estudio se evaluó de manera indirecta mediante la cuantificación de los pigmentos fotosintéticos en las hojas de *A. fistulosus* y *Nama* sp. De acuerdo a los resultados obtenidos, el presente estudio plantea dos posibles mecanismos que podrían explicar el efecto de los EPT evaluados en este estudio sobre el metabolismo fotosintético de ambas especies vegetales.

Los resultados permitieron relacionar la disminución de clorofila determinadas en las hojas de *Nama* sp. del punto de muestreo P₅ con las concentraciones bioacumuladas As, Cd, Pb y Zn, lo cual permite concluir que su presencia influye en la disminución de pigmentos fotosintéticos reflejándose en clorosis de las hojas efecto que fue constado por las observaciones de campo.

Los resultados anteriores permiten sugerir diversos mecanismos de tolerancia para las plantas expuestas a EPT. Por ejemplo la sustitución del Mg²⁺ por un catión divalente (Cd, Zn y Pb) en la estructura molecular de la clorofila podría inactivarla debido a las modificaciones de la masa que conllevaría a la variación conformacional de la molécula. En este sentido, y como se mencionó anteriormente, de llevarse a cabo la sustitución de cationes de mayor masa atómica que el Mg en la molécula de clorofila, parte ésta podría quedar inactiva; y en consecuencia como una respuesta al estrés de bioacumulación de EPT la planta podría sintetizar mayor cantidad. De acuerdo a las observaciones realizadas en campo las plantas en las que pudo haberse presentado este efecto tienden a aumentar la concentración de clorofila como una respuesta a una mayor fitodisponibilidad de los EPT en el sustrato considerándose un posible mecanismo de tolerancia a la exposición y bioacumulación de EPT. Este tipo de respuesta ha sido observado en cultivos controlados durante el

estudio del efecto de la variación de la intensidad luminosa, en donde las plantas que estaban bajo sombra incrementaron la concentración de clorofila como una respuesta al estrés lumínico (Cambrón-Sandoval *et al.*, 2011)

En este estudio, las variaciones observadas en las hojas, tallos y raíces de *A. fistulosus* y *Nama* sp., se atribuyeron principalmente a la concentración fitoaccesible del Cd y Zn (principalmente) así como a la concentración de bioacumulada en la biomasa de ambas especies vegetales. Cabe destacar que las plantas evaluadas en este estudio, se encuentran creciendo de manera natural; sin embargo, las variaciones anatómicas que se observaron en ambas especies vegetales concordaron con las ya reportadas en la bibliografía. Entre las principales variaciones anatómicas que se observaron fueron el alargamiento y ensanchamiento de los vasos en el xilema.

Los análisis de correlación y regresión permitieron en este estudio analizar la relación y el comportamiento entre los parámetros medidos, destacando las correlaciones entre la concentración total y fitoaccesible, con las variaciones anatómicas observadas en *A. fistulosus* y *Nama* sp.

8.1 PERSPECTIVAS

En este estudio se proponen algunos mecanismos de acumulación, traslocación y efectos de algunos EPT sobre la fisiología de *A. fistulosus* y *Nama* sp., sin embargo, es necesario realizar actividades que permitan complementar las observaciones y conclusiones que se han generado hasta el momento con las especies vegetales estudiadas, entre ellas se recomienda:

- Incluir variables relacionadas con el metabolismo fotosintético, entre las que destacan la conductancia estomática o la tasa neta de asimilación de CO₂; se ha reportado en la literatura que Cd (principalmente) disminuye la tasa de transpiración de las especies vegetales que se encuentran expuestas a este metal.

- Establecer metodologías que permitan observar posibles daños en la morfología de las hojas; algunos parámetros que podrían ser considerados son el tamaño y densidad de los estomas, el área foliar específica, con el objetivo de relacionar si estos parámetros modifican el balance hídrico de la planta y la posible alteración en la absorción de nutrientes cuando se encuentran expuestas a EPT.
- Medir de manera directa la eficiencia fotosintética, mediante la fluorescencia de la clorofila, además de poder evaluar la eficiencia fotosintética del fotosistema II (PSII). En este sentido, se puede complementar el análisis de la cuantificación de pigmentos fotosintéticos incluyendo la cuantificación de los carotenoides presentes en las hojas de las plantas.
- Considerar el efecto de la radiación fotosintéticamente activa (PAR) en la concentración de clorofila.
- Complementar el análisis estadístico de los datos obtenidos, mediante la aplicación de un análisis de componentes principales, con el objetivo de identificar observaciones aberrantes, detectar outliers dividiendo en subgrupos con unidades experimentales similares.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Almeida, A. F., R. R. Valle, M. S. Mielke y F. P. Gomes. 2007. Tolerance and prospection of phytoremediator woody species of Cd, Pb, Cu and Cr. *Brazilian Journal of Plant Physiology*. 19:83-98.

Andrade, J. L., E. De la Barrera, C. Reyes-Gracia, M. F. Ricalde, G. Vargas-Soto y J. C. Cervera. 2007. El metabolismo ácido de las crasuláceas: diversidad, fisiología ambiental y productividad. *Boletín de la Sociedad Botánica de México*. 81:37-50.

Antosiewicz, D. M., C. Escudé-Duran, E. Wierzbowska, A. Sklodowska. 2008. Ingenious plant species with the potential for the phytoremediation of arsenic and metals contaminated soil. *Water Air Soil Pollution*. 193:197-210.

Arora A., R. K. Sairam y G. C. Srivastava. 2002. Oxidative stress and antioxidative system plants. *Current Science*. 82:1227-1238.

Azcón-Bieto, J. y M. Talón. 2008. *Fundamentos de fisiología vegetal*. McGraw-Hill, España. 552 p.

Babula, P., A. Vojtech., R. Opatrilova., J. Zehnalek., L. Havel y R. Kizek. 2008. Uncommon heavy metals, metalloids and their plant toxicity: a review. *Journal Environmental Chemistry Letters*. 6:189-213.

Balbotin, M. B. 1972. Geología del Distrito Minero Cerro de San Pedro, S. L. P. Trabajo recepcional para la Universidad Autónoma de San Luis Potosí.

Balsberg, P. A. M. 1989. Toxicity of heavy metals (Zn, Cu, Cd, Pb) to vascular plants. *Water, Air and Soil Pollution*. 47:287-319.

Barrer, S. E. 2009. El uso de hongos micorrízicos arbusculares como una alternativa para la agricultura. *Facultad de Ciencias Agropecuarias*. 7:123-132.

Benavides, M. P., S. M. Gallego y M. L. Tomaro. 2005. Cadmium toxicity in plants. *Brazilian Journal of Plant Physiology*. 17:21-34.

Böhm, P. A. F., F. M. L. Zanardo, M. L. L. Ferrarese y O. Ferrarese – Filho. 2006. Peroxidase activity and lignification in soybean root growth – inhibition by juglone. *Biologia Plantarum*. 50:315-317.

Broadley, M. R., P. J. White, J. P. Hammond, I. Zelko y A. Lux. 2007. Zinc in plants. *New Phytologist*. 173:677-702.

Brooks, R. R. 1998. Plants that hyperaccumulate heavy metals. Their role in phytoremediation, microbiology, archaeology, mineral exploration and phytomining. CAB International, London. 380 p.

Brune, A., W. Urbach, K-J. Dietz. 1994. Compartmentation and transport of zinc in barley primary leaves as basic mechanisms involved in zinc tolerance. *Plant, Cell and Enviroment*. 17:153-162.

Brune, A., W. Urbach, K-J. Dietz. 1995. Differential toxicity of heavy metals is partly related to a loss of preferential extraplasmatic compartmentation: a comparison of Cd, Mo, Ni and Zn stress. *New Phytologist*. 129:403-409.

Calderón, R. G. y J. Rzedowski. 2005. Flora fanerógamica del Valle de México. Instituto de Ecología, A. C. y Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad. 2ª. Edición. México. 1406 p.

Cambrón-Sandoval, V. H., M. L. España-Boquera, N. M. Sánchez-Vargas, C. Sáenz-Romero, J. J. Vargas-Hernández y Y. Herrerías-Diego. 2011. Producción de Clorofila en *Pinus pseudostrabus* en etapas juveniles bajo diferentes ambientes de desarrollo. *Revista Chapingo Serie Ciencias Forestales y del Ambiente*. 17:253-260.

Carrillo-González, R. 2005a. Breve descripción de la minería en México. 137-152. En González-Chávez, M.C., Pérez-Moreno, J. y Carrillo-González, R. (eds). 2005. El sistema planta-microorganismo-suelo en áreas contaminadas con residuos de minas. Colegio de Postgraduados. Montecillo, Estado de México. 161 p.

Carrillo-González, R. 2005b. Niveles de contaminación de los suelos y las plantas. 34-62. En González-Chávez, M.C., Pérez-Moreno, J. y Carrillo-González, R. (eds). 2005. El sistema planta-microorganismo-suelo en áreas contaminadas con residuos de minas. Colegio de Postgraduados. Montecillo, Estado de México. 161 p.

Carrillo-González, R. 2009. Degradación del suelo: Conceptos generales. 121-151 p. En Álvarez-Sánchez, F. J., (editor). 2009. Ecología de micorrizas arbusculares y restauración de ecosistemas. Universidad Autónoma de México, Facultad de Ciencias. México, D.F.

Cieśliński, G., K. C. J. Van-Ress, A. M. Szmigielska, G. S. R. Krishnamurti y P. M. Huang. 1998. Low-molecular-weight organic acids in rhizosphere soils of durum wheat and their effect on cadmium bioaccumulation. *Plant and Soil*. 203:109-117.

Clemens, S. 2006. Toxic metal accumulation, responses to exposure and mechanisms of tolerance in plants. *Biochimie*. 88:1707-1719.

Clemens, S. 2001. Molecular mechanisms of plant metal tolerance and homeostasis. *Planta*. 212:475-486.

Clemens, S. 1999. Tolerance to toxic metals by gene family of phytochelatin synthases from plants and yeast. *The EMBO Journal*. 18:3326-3333

CONABIO a. [En línea]. Disponibles en <http://www.conabio.gob.mx/malezasdemexico/asphodelaceae/fichas/ficha.htm>. Consultado 22 de noviembre de 2010.

CONABIO b. [En línea]. Disponible en <http://www.conabio.gob.mx/otros/cgi-bin/herbario.cgi..> Consultado 27 de febrero de 2013.

COREMI. 1992. Serie monográfica geológico-mineral del Estado de San Luis Potosí. COREMI, México. 63-187 p.

Davies, K. L., M. S. Davies, D. Francis. 1991. Zinc-induced vacuolation in root meristematic cells of *Festuca rubra* L. *Plant Cell and Environment*. 14:399-406

De la Cruz, C.E. 2006. Mitigación de drenaje ácido en minas subterráneas aplicando fangos artificiales. Caso: mina Orcacampa. *Revista de investigaciones FIGMMG*. 9:17:69-74.

De Dorlodot, S., S. Lutts y P. Bertin. 2005. Effects of ferrous iron toxicity on the growth and mineral composition of an interspecific rice. *Journal of Plant Nutrition*. 28:1-20.

DELTA. 2013. [En línea]. Disponible en <http://delta-intkey.com/> Consultado 25 de febrero de 2013.

Díaz-Aguilar, I., M. U., Larqué-Saavedra, G. Alcántar-González, R. Carrillo-González y A. Vázquez-Alarcón. 2001. Alteración de algunos procesos fisiológicos en trigo por la adición de plomo. *Revista Internacional de Contaminación Ambiental*. 17:79-90.

Díaz-Garduño, L. M., A. Díaz-Osorio, R. Carrillo-González y M. C. González-Chávez. 2005. Plantas que se desarrollan en áreas contaminadas con residuos mineros. 9-33. En González-Chávez, M. C., Pérez-Moreno, J. y Carrillo-González, R. (eds). 2005. El sistema planta-microorganismo-suelo en áreas contaminadas con residuos de minas. Colegio de Postgraduados. Montecillo, Estado de México. 161 p.

Di Baccio, D., A. Minnocci y L. Sebastiani. 2010. Leaf structural modifications in *Populus x euramericana* subjected to Zn excess. *Biologia Plantarum*. 54:502-508.

Di Cagno, R., L. Guidi, L. De Gara y G. F. Soldatini. 2001. Combined cadmium and ozone treatments affect photosynthesis and ascorbate-dependent defences in sunflower. *New Phytologist*. 151:627-636.

Di Cagno, R., L. Guidi., A. Stefani y G. F. Soldatini. 1999. Effects of cadmium on growth of *Helianthus annuus* seedlings: physiological aspects. *New Phytologist*. 144:65-71.

Đurčeková, K., J. Huttová., I. Mistrík., M. Ollé y L. Tamás. 2007. Cadmium induces premature xylogenesis in barley roots. *Plant Soil*. 290:61-68.

ECOAMERICA. 2007. Drenaje ácido de mina. 67:18-21.

Ent, A., A. J. M. Baker, R. D. Reeves; A. J. Pollard y H. Schat. Hyperaccumulators of metal and metalloid trace elements: Facts and fiction. *Plant Soil*.

Esau, K. 1977. *Anatomy of seeds plants*. 2ª Ed. John Wiley and sons. 550 p.

Ferrera-Cerrato, R., J. Delgadillo, M. y A. Alarcón. 2009. La micorriza en la sostenibilidad y la restauración de agroecosistemas. 281-304. En Álvarez-Sánchez, F. J. (editor). 2009. *Ecología de micorrizas arbusculares y restauración de ecosistemas*. Universidad Nacional Autónoma de México, Facultad de Ciencias. México, D. F.

FAO-ISRIC-ITC. 2001. [En línea]. Lectures notes of the mayor soil of the world. Disponible en: www.fao.org/docrep/003/Y1899E/y1899eoo.htm. Fecha de consulta: 5 de julio de 2013.

Fukuda, H. 1996. Xylogenesis: initiation, progression and cell death. *Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology*. 47:299-325.

García, E. 2004. *Modificaciones al sistema de clasificación climática de Köppen*. UNAM. Serie de libros. 5ª. Edición. México. 90 pp.

Gailey, F. A. y O. Ll. Lloyd. 1985. Grass and surface soils as monitors of atmospheric metal pollution in central Scotland. *Water, Air and Soil Pollution*. 24:1-18

González-Chávez, M. C. 2004. Recuperación de suelos contaminados con metales pesados utilizando plantas y microorganismos rizosféricos. *Terra Latinoamericana*. 23:29-37.

González-Chávez, M. C. y M. A. Rodríguez-Elizalde. 2005. La micorriza arbuscular en suelos contaminados con residuos de minas. 61-80. En González-Chávez, M. C, Pérez-Moreno, J. y Carrillo González, R. (eds). 2005. El sistema planta-microorganismo-suelo en áreas contaminadas con residuos de minas. Colegio de Postgraduados. Montecillo, Estado de México. 161 p.

González-Chávez, M. C. 2009. Bio-recuperación de suelos contaminados con elementos potencialmente tóxicos: Uso de hongos arbusculares. 305-317 p. En Álvarez Sánchez, F. C. (editor). 2009. Ecología de micorrizas arbusculares y restauración de ecosistemas. Universidad Autónoma de México, Facultad de Ciencias. México, D.F.

González-Chávez, M. C., R. Carrillo-González y M. C. Gutiérrez-Castorena. 2009. Natural attenuation in slag heap contaminated with cadmium: The role of plants and arbuscular mycorrhizal fungi. *Journal of Hazardous Material*. 161:1288-1298.

González, E. A., E. Cedillo, P., L. Díaz, G. 2010. Morfología y anatomía de las plantas con flores. Universidad Autónoma Chapingo. 276 p.

Guerra, S. B. E. 2008. Micorriza arbuscular. Recurso microbiológico en la agricultura sostenible. *Tecnología en Marcha*. 21:191-201.

Gunes, A., D. J. Pilbean, A. Inal. 2009. Effect of arsenic-phosphorus interaction on arsenic induced oxidative stress in chickpea plants. *Plant Soil*. 314:211-220.

Hall, J. L. 2002. Cellular mechanisms for heavy metal detoxification and tolerance. *Journal of Experiment Botany*. 53:1-11.

Hernández-Acosta, E., E. Mondragón-Romero, D. Cristobal-Acevedo, J. E. Rubiños-Panta y E. Robledo-Santoyo. 2009. Vegetación, residuos de mina y elementos potencialmente tóxicos en un jal de Pachuca, Hidalgo, México. *Revista Chapingo. Serie Ciencias Forestales y del Ambiente*. 15:190-114.

Hernández-Cuevas, L. V., P. Guadarrama-Chávez, I. Sánchez-Gallen y J. Ramos Zapata. 2008. Micorriza arbuscular. Colonización intrarradical y extracción de esporas del suelo. 1-15 p. En Álvarez- Sánchez, J. y A. Monroy-Ata (eds). 2008. Técnicas de estudio de las asociaciones micorrízicas y sus implicaciones en la restauración. Universidad Autónoma de México, Facultad de Ciencias. México, D.F.

Henrickson, J. y M. C. Johnston. En revision. A flora of the Chihuahuan Desert Region. Published by James Henrickson. Los Angeles, California.

Herrera, T. y M. Ulloa. 2004. El reino de los hongos. *Micología básica y aplicada*. Fondo de Cultura Económica. Universidad Autónoma de México. México, D.F. 552 p.

Huang, J. W., y S. D. Cunningham. 1996. Lead phytoextraction: species variation in lead uptake and translocation. *New Phytologist*. 134:75-84.

INEGI. 2009. Prontuario de información geográfica municipal de los Estados Unidos Mexicanos Cerro de San Pedro, San Luis Potosí.

Ishii, R. 1998. Leaf/canopy photosynthesis and crop productivity. In: Raghavendra, A.S. (ed.). Photosynthesis, a comprehensive treatise. Cambridge University Press. pp. 215-225

Jones, D. L. 1998. Organic acids in the rhizosphere – a critical review. Plant and Soil. 205:25-44.

Kabata-Pendias, A. 2011. Trace Elements in Soils and Plants. 4th ed. CRC Press Inc. Boca Raton, FL, USA. 505 p.

Küpper, H., I. Šetlík, M. Spiller, F. C. Küpper y O. Prášil. 2002. Heavy metal-induced inhibition of photosynthesis: Targets of *in vivo* heavy metal chlorophyll formation. Journal of Phycology. 38:429-441.

Llugany, M., M. Tolrá., C. Poschnieder y J. Barceló. 2007. Hiperacumulación de metales: ¿Una ventaja para la planta y para el hombre? Ecosistema Revista Científica y Técnica de Ecología y Medio Ambiente. 16-56-68.

Lorda, L. M. 2010. El complejo *Asphodellus fistulosus* – *A. Ayardii* (Asphodelaceae) en el Valle Medio del Ebro. Flora Mediterránea. 45:21-41.

Luković, J., Lj. Merkulov., S. Pajević., L. Zoric., N. Nikolic y M. Borisev. 2012. Quantitative assessment of effects of cadmium on the histological structure of poplar and willow leaves. *Journal Water Air and Soil Pollution*. 223:2979-2993.

Maksimović, I., R. Kastori, L. Krstić, y J. Luković. 2007. Steady presence of cadmium and nickel affects root anatomy, accumulation and distribution of essential ions maize seedlings. *Biologia Plantarum*. 51:589-592.

Martínez, Ch. P. A. 2012. Historia ambiental del municipio de Cerro de San Pedro, San Luis Potosí, México (Siglo XX). Tesis presentada como requisito parcia para obtener el grado de Doctor en Ciencias. San Luis Potosí, S. L. P.

Maruthi, S. B. B., F. X. Han, S. V. Dich, D. L. Monts y Yi Su. 2007. Effects of Zn and Cd accumulation on structural and physiology characteristics of barley plants. *Brazilian Journal of Plant Physiology*. 19:15-22.

Meharg A. A. 2005. Mechanisms of plant resistance to metal and metalloïd ions and potential biotechnological applications. *Plant and Soil*. 274:163-174.

Méndez, H. C. A. 2010. Efecto de Cd disuelto en la germinación de semillas y crecimiento de plántulas de *Agave lechuguilla* provenientes de zonas con diferente nivel de contaminación por metales. Tesis presentada como requisito parcia para obtener el grado de Maestro en Ciencias Aplicadas. San Luis Potosí, S. L. P.

Metcalf, C. R., L. Chalk. 1957. Anatomy of the dicotyledons leaves, stem and wood in relation to taxonomy with notes on economic uses. Oxford at the Oxford Clarendon Press. Oxford University Press, Amen House, London.

Molist, P., M. A. Pombal y M. Megías. 2011. Atlas de histología vegetal y animal. Departamento de Biología Funcional y Ciencias de la Salud. Facultad de biología. Universidad de Vigo. [En línea]. Disponible en <http://webs.uvigo.es/inicio.html>.

Navarro, B. S., y G. Navarro, G. 2003. Química Agrícola. El suelo y los elementos químicos esenciales para la vida vegetal. 2ª Ed. Ediciones Mundi-Prensa. Barcelona, España. 487 p.

Navarro, A. J. P., I. Aguilar y J. R. López-Moya. 2007. Aspectos bioquímicos y genéticos de la tolerancia y acumulación de metales pesados en plantas. Ecosistemas. 2007/2.

Nelson, D. L. y M. M. Cox. 2006. Lehninger Principios de bioquímica. 4ª Ed. Omega. 1119 p.

Pérez-Cálix, E. y E. Carranza, G. 2005. Flora del Bajío y Regiones Adyacentes. Fascículo. 139, 48 p.

Pietrini, F., M. A. Iannelli, S. Pasqualini y A. Massacci. 2003. Interaction of cadmium with glutathione and photosynthesis in developing leaves and chloroplasts of *Phragmites australis* (Cav.) Trin. ex. Steudel. Plant Physiology. 133:829-837.

Ortega, M. N. B. 2012. Asociación entre la fracción bioaccesible y la bioacumulación en algunas especies vegetales que crecen en el cauce del arroyo de San Pedro. Tesis presentada como requisito parcial para obtener el grado de Maestro en Ciencias. San Luis Potosí, S. L. P.

Raven, P. H., R. F. Evert y S. E. Eichhorn. 1992. Biology of plants. 5ª. Ed. Worth Pub.

Razo, S. I. 2002. Evaluación de la contaminación por metales y del riesgo en salud en un sitio minero de Sulfuros Polimetálicos: caso de Villa de la Paz-Matehuala, S. L. P. (México). Tesis presentada como requisito parcial para obtener el grado de Maestro en Ciencias. San Luis Potosí, S. L. P.

Razo, S. I. 2006. Identificación de áreas prioritarias de restauración de suelos contaminados por arsénico y metales pesados en el sitio minero y metalúrgico de Villa de la Paz-Matehuala, S. L. P. (México). Tesis presentada como requisito parcia para obtener el grado de Doctor en Ciencias. San Luis Potosí, S. L. P.

Razo, S. I., R. Muñoz, C. Cepeda y M. Monroy. 2007. Caracterización ambiental de residuos mineros históricos del Distrito Minero Cerro de San Pedro, (San Luis Potosí, México). En J.C. Salinas Prieto (Ed). Memoria de la XXVII Convención Internacional de Minería de la Asociación de Ingenieros de Minas, Metalurgistas y Geólogos de México. Veracruz, Ver (México). 352-357.

Rodríguez-Elizalde, M. A. 2006. Adaptación y desarrollo de tres especies ornamentales para crecer en suelos contaminados con residuos mineros. Tesis presentada como requisito parcial para obtener el grado de Maestro en Ciencias. Montecillo, Texcoco, Estado de México.

Rodríguez, O. J. C., H. Rodríguez, F., G. de Lira, R., J. Martínez, C. y J. L. Lara, M. 2006. Capacidad de seis especies vegetales para acumular plomo en suelos contaminados. Revista Fitotecnia Mexicana. 29:239-245.

Rodríguez-Serrano, M., M. C. Romero-Puertas, A. Zabalza, F. J. Corpas, M. Gómez, L. A. Del Río y L. M. Sandalio. 2006. Cadmium effect on oxidative metabolism of pea (*Pisum sativum* L.) roots. Imaging of reactive oxygen species and nitric oxide accumulation *in vivo*. Plant, Cell and Environment. 29:1532-1544.

Rodríguez-Serrano, M., N. Martínez-de la Casa, M. C. Romero-Puertas y L. A. Sandalio. 2008. Toxicidad del cadmio en plantas. Ecosistemas. 17:139-146.

Sadeque, A. F. R., K. Killham y I. Alexander. 2006. Influences of arbuscular mycorrhizal fungus *Glomus mosseae* on growth and nutrition of lentil irrigated with arsenic contaminated water. Plant and Soil. 258:33-41.

SAS Institute, 1999. User's Guide: Statistics. SAS Institute INC., Cary, N.C. 1028 p.

Schnek, A. y G. Flores. 2008. Curtis Biología. 7ª Ed. Medica panamericana. 1160 p.

Schreiber, L. y R. B. Franke. 2011. Endodermis and exodermis in roots. Plant Science. John Wiley y Sons. 1-7.

Seregin, I. V., L. K. Shpigun y V. B. Ivanov. 2004. Distribution and toxic effect of cadmium and lead on maize roots. *Russian Journal of Plant Physiology*. 51: 582-591.

SGM. 2011. Panorama Minero del Estado de San Luis Potosí. Servicio Geológico Mexicano.

Sharma, P. y R. Shanker, D. 2005. Lead toxicity in plants. *Brazilian Journal of Plant Physiology*. 17:35-52.

Shreve, F. y I. L. Wiggins. 1964. *Vegetation and flora of Sonoran Desert*. Stanford University, Stanford California, U. S. A. 1740 p.

Silva, G. M. I., Q. Ma. L. y Santos, J. A. G. 2007. Effects of plant age on arsenic hyperaccumulation by *Pteris vittata* L. *Water, Air and Soil Pollution*. 186:289-295.

Smith, S. E. y D. Read. 2000. *Mycorrhizal symbiosis*. 2ª. Edición. Academic press, San Diego California, U.S.A. 605 p.

Site, P., E. W. Weiler, J. W. Kaderit, A. Bresinky y C. Körner. 2004. *Tratado de botánica*. 35ª Ed. Omega, Barcelona. 1131 p.

Sparks, D. L. 2005. *Methods of soil analysis. Part 3, Chemical methods*. Soil Science Society of America, American Society of Agronomy. Fourth printing. Madison, Wisconsin, U.S.A. 1390 p.

Sriprang, R. y Y. Murooka. 2007. Accumulation and detoxification of metals by plants and microbes. In Environmental Bioremediation Technologies.

Stewart, C. D. y M. Corning, J. 1970. Manual of the vascular plants of Texas. Texas Research Foundation.

Stoláriková, M., M. Vaculík, A. Lux, D. Di Baccio, A. Minnocci, A. Andreucci y L. Sebastiani. 2012. Anatomical differences of poplar (*Populus x euroamericana* clone I-214) roots exposed to zinc excess. *Biologia*. 67:483-489.

Volke, S. T., J. A. Velasco, T. y D. A. De la Rosa, P. 2005. Suelos contaminados por metales y metaloides: Muestro y alternativas para su remediación. Secretaría de Medio Ambiente y Recursos Naturales e Instituto Nacional de Ecología. México, D.F. 144 p.

Web1. Universidad Politécnica de Valencia. Sitio Web “Parte III. Tema 13: Transporte en el floema” entrada Septiembre de 2003, consultado el 8 de Julio de 2013. URL: http://etsmre.upv.es/varios /biologia/Temas/tema_13.htm

Wierzbicka, M. 1987. Lead accumulation and its translocation barriers in roots of *Allium cepa* L. - autoradiographic and ultrastructural studies. *Plant, Cells and Environment*. 10:17-26.

Xiao-Quan, S., Z. Wang, W. Wang, S. Zhang y B. Wen. 2003. Labile rhizosphere soil solution fraction for prediction of bioavailability of heavy metals and rare earth elements to plants. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*. 375:400-407.

ANEXOS

Anexo I. Porcentaje de fitoaccesibilidad de EPT en el suelo rizosférico respecto al contenido total.

Tabla A. 1. Porcentaje de fitoaccesibilidad de EPT con respecto a la concentración total en el suelo rizosférico de *Asphodellus fistulosus*. CTM = Concentración total de metales; CFM = Concentración fitoaccesible de metales; % = Porcentaje de fitoaccesibilidad

Puntos de muestreo	As (mg kg ⁻¹)			Cd (mg kg ⁻¹)			Fe (mg kg ⁻¹)			Pb (mg kg ⁻¹)			Zn (mg kg ⁻¹)		
	CTM	CFM	%	CTM	CFM	%	CTM	CFM	%	CTM	CFM	%	CTM	CFM	%
P ₂	850.23	6.56	0.76	70.05	37.25	53.2	20231	9.5	0.04	7027	275.5	3.91	4856	1299	26.75
P ₄	699	11.5	1.65	42.69	32.75	76.71	15812	5.06	0.03	4323	45.25	1.05	1457	1357	93.15

Tabla A. 2. Porcentaje de fitoaccesibilidad de EPT con respecto a la concentración total en el suelo rizosférico de *Nama* sp. CTM = Concentración total de metales; CFM = Concentración fitoaccesible de metales; % = Porcentaje de fitoaccesibilidad

Puntos de muestreo	As (mg kg ⁻¹)			Cd (mg kg ⁻¹)			Fe (mg kg ⁻¹)			Pb (mg kg ⁻¹)			Zn (mg kg ⁻¹)		
	CTM	CFM	%	CTM	CFM	%	CTM	CFM	%	CTM	CFM	%	CTM	CFM	%
P ₅	1285	4.43	0.34	58.4	1.75	2.99	18222	6.250	0.03	254.5	32.3	0.50	1555	149	9.57
P ₆	1146	1.56	0.13	59.5	0.8	1.35	16382	11.75	0.07	9225	18.81	0.20	1508	59.8	3.96
P ₇	914	1.18	0.19	56.1	0.6	1.06	15292	6.87	0.04	322.8	23	7.20	1551	75	4.83
P ₈	56.9	28	49.18	2.95	0.35	11.88	5425	3.25	0.06	382.07	7.5	1.96	246.6	1.2	0.49
P ₉	566.7	4.56	0.80	30.54	21.17	69.33	15510	10.75	0.07	2415	23.06	0.95	1369	38.8	2.83

Anexo II. Análisis de varianza (ANOVA) para un diseño aleatorio; procedimiento del modelo lineal general (GLM) del software estadístico SAS.

Tabla A. 3. ANOVA pH del suelo rizosférico de *Asphodellus fistulosus* para los puntos de muestreo P₁, P₂, P₃ y P₄

	N	Puntos de muestreo (pH)				R ²	Coeficiente de variación	Valor de F	Pr > F
		P ₁	P ₂	P ₃	P ₄				
pH	2	8.31 ± 0 ^a	8.27 ± 0 ^a	8.41 ± 0.0282 ^a	8.41 ± 0.02 ^a	0.93	0.16	9.28	0.0989

Diferentes letras indican diferencias estadísticamente significativas entre puntos de muestreo (P < 0.05)

Tabla A. 4. ANOVA concentración total de metales en el suelo rizosférico de *Asphodellus fistulosus* para los puntos de muestreo P₂ y P₄

	N	Puntos de muestreo (mg kg ⁻¹)		R ²	Coeficiente de variación	Valor de F	Pr > F
		P ₂	P ₄				
As	2	850.23 ± 52.23 ^a	699 ± 43.13 ^a	0.83	3.08	10.07	0.0866
Cd	2	70.055 ± 2.75 ^a	42.69 ± 0.09 ^b	0.99	1.56	248.93	0.0040
Fe	2	20231 ± 380.42 ^a	15812.5 ± 81.31 ^b	0.99	0.72	287.12	0.0035
Pb	2	7027.92 ± 247.59 ^a	4323 ± 122.32 ^b	0.99	1.65	214.60	0.0046
Zn	2	4856 ± 158.39 ^a	1457.75 ± 13.78 ^b	0.99	1.50	1498.45	0.0007

Diferentes letras indican diferencias estadísticamente significativas entre puntos de muestreo (P < 0.05)

Tabla A. 5. ANOVA concentración fitoaccesible de metales en el suelo rizosférico de *Asphodellus fistulosus* movilizados por una solución de ácidos orgánicos para los puntos de muestreo P₂ y P₄

	N	Puntos de muestreo (mg kg ⁻¹)		R ²	Coeficiente de variación	Valor de F	Pr > F
		P ₂	P ₄				
As	2	6.56 ± 1.5 ^b	11.5 ± 0.70 ^a	0.87	7.42	14.38	0.0500
Cd	2	37.25 ± 0.17 ^a	32.75 ± 1.06 ^b	0.94	1.12	32.98	0.0290
Fe	2	9.5 ± 380.42 ^a	5.06 ± 1.67 ^a	0.52	20.51	2.25	0.2727
Pb	2	275.5 ± 34.85 ^a	45.25 ± 13.43 ^b	0.97	8.83	92.70	0.0106
Zn	2	1299.375 ± 43.31 ^a	1357.5 ± 72.47 ^a	0.32	2.23	0.95	0.4330

Diferentes letras indican diferencias estadísticamente significativas entre puntos de muestreo (P < 0.05)

Tabla A. 6. ANOVA concentración de metales bioacumulados en hojas de *Asphodellus fistulosus* para los puntos de muestreo P₂ y P₄

	N	Puntos de muestreo (mg kg ⁻¹)		R ²	Coeficiente de variación	Valor de F	Pr > F
		P ₂	P ₄				
As	2	0.94 ± 0.20 ^a	1.26 ± 0.59 ^a	0.18	19.62	0.46	0.5670
Cd	2	15.53 ± 0.45 ^a	17.38 ± 0.41 ^a	0.90	1.32	18.05	0.0512
Fe	2	121.12 ± 26.76 ^a	79.10 ± 2.26 ^a	0.74	8.72	5.75	0.1387
Pb	2	6.19 ± 0.007 ^a	8.417 ± 2.28 ^a	0.50	10.38	2.04	0.2893
Zn	2	170.67 ± 0.95 ^b	301.37 ± 3.64 ^a	0.99	0.51	2991.92	0.0003

Tabla A. 7. ANOVA concentración de metales bioacumulados en los tallos de *Asphodellus fistulosus* para los puntos de muestreo P₂ y P₄

	N	Puntos de muestreo (mg kg ⁻¹)		R ²	Coeficiente de variación	Valor de F	Pr > F
		P ₂	P ₄				
As	2	3.15 ± 0.17 ^a	0.1 ± 0 ^b	0.99	3.36	1720.16	0.0006
Cd	2	3.28 ± 0.38 ^a	3.7 ± 0.11 ^a	0.51	4.14	2.16	0.2792
Fe	2	64.15 ± 11.36 ^a	99.77 ± 10.21 ^a	0.83	6.89	10.31	0.0849
Pb	2	26.15 ± 1.95 ^a	29.85 ± 3.36 ^a	0.47	4.85	1.83	0.3083
Zn	2	189.5 ± 19.09 ^a	128.95 ± 0.07 ^b	0.92	3.90	23.96	0.0393

Diferentes letras indican diferencias estadísticamente significativas entre puntos de muestreo (P < 0.05)

Tabla A. 8. ANOVA concentración de metales bioacumulados en las raíces de *Asphodellus fistulosus* para los puntos de muestreo P₂ y P₄

	N	Puntos de muestreo (mg kg ⁻¹)		R ²	Coeficiente de variación	Valor de F	Pr > F
		P ₂	P ₄				
As	2	29.51 ± 10.30 ^a	11.74 ± 0.70 ^a	0.80	15.417	8.35	0.1018
Cd	2	1.80 ± 0.02 ^a	1.96 ± 0.05 ^a	0.86	1.15	12.95	0.0693
Fe	2	1374.53 ± 101.07 ^a	618.75 ± 16.61 ^b	0.98	3.20	150.76	0.0066
Pb	2	76.40 ± 0.20 ^a	50.3 ± 5.23 ^b	0.95	3.29	40.09	0.0240
Zn	2	78.07 ± 2.51 ^a	46.62 ± 0.95 ^b	0.99	1.43	320.62	0.0031

Diferentes letras indican diferencias estadísticamente significativas entre puntos de muestreo (P < 0.05)

Tabla A. 9. ANOVA cuantificación de pigmentos fotosintéticos en *Asphodellus fistulosus* para los puntos de muestreo P₁, P₂, P₃ y P₄

	N	Puntos de muestreo ($\mu\text{g g}^{-1}$)				R ²	Coeficiente de variación	Valor de F	Pr > F
		P ₁	P ₂	P ₃	P ₄				
Clorofila a (Cl _a)	9	411.73 ± 50.91 ^a	130.79 ± 85.14 ^{cb}	72.56 ± 27.46 ^c	161.48 ± 36.79 ^b	0.80	17.87	43.70	< 0.0001
Clorofila b (Cl _b)	9	181.52 ± 35.72 ^a	50.68 ± 39.24 ^c	48.69 ± 9.29 ^c	89.91 ± 28.81 ^b	0.72	19.27	28.68	< 0.0001
Clorofila total (Cl _a +Cl _b)	9	595.17 ± 78.88 ^a	181.52 ± 122.32 ^{cb}	120.11 ± 36.06 ^b	252.44 ± 49.42 ^b	0.79	17.28	42.33	< 0.0001
Relación Cl _a /Cl _b	9	2.32 ± 0.35 ^{ba}	2.78 ± 0.49 ^a	1.44 ± 0.32 ^c	1.92 ± 0.59 ^{bc}	0.57	11.09	14.18	< 0.0001

Diferentes letras indican diferencias estadísticamente significativas entre puntos de muestreo (P < 0.05)

Tabla A. 10. ANOVA cortes longitudinales en hojas, tallos y raíces de *Asphodellus fistulosus* para los puntos de muestreo P₂ y P₄

	N	Puntos de muestreo		R ²	Coeficiente de variación	Valor de F	Pr > F
		P ₂	P ₄				
Longitud de vasos en hojas (μm)	5	54.32 ± 5.92 ^a	30.46 ± 5.35 ^b	0.84	6.96	42.94	0.0002
Longitud de vasos en tallos (μm)	5	25.21 ± 10.60 ^a	19.50 ± 4.94 ^a	0.11	18.20	1.04	0.3374
Longitud de vasos en raíces (μm)	5	51.50 ± 15.18 ^b	110.51 ± 28.41 ^a	0.70	13.64	19.32	0.0023

Diferentes letras indican diferencias estadísticamente significativas entre puntos de muestreo (P < 0.05)

Tabla A. 11. ANOVA cortes transversales en hojas de *Asphodellus fistulosus* para los puntos de muestreo P₂ y P₄

	N	Puntos de muestreo		R ²	Coeficiente de variación	Valor de F	Pr > F
		P ₂	P ₄				
Grosor cutícula (µm)	5	3.40 ± 1.12 ^a	5.26 ± 4.45 ^a	0.05	37.11	0.43	0.5312
Área haces vasculares (µm ²)	5	4919.3 ± 2161.10 ^a	2579.62 ± 1835.30 ^a	0.30	28.52	3.45	0.1004

Diferentes letras indican diferencias estadísticamente significativas entre puntos de muestreo (P < 0.05)

Tabla A. 12. ANOVA cortes transversales en tallos de *Asphodellus fistulosus* para los puntos de muestreo P₂ y P₄

	N	Puntos de muestreo		R ²	Coeficiente de variación	Valor de F	Pr > F
		P ₂	P ₄				
Diámetro tangencial de los vasos en tallos (µm)	5	11.65 ± 2.66 ^b	21.67 ± 5.55 ^a	0.63	13.03	13.78	0.0059
Diámetro radial de los vasos en tallos (µm)	5	18.76 ± 0.57 ^b	25.13 ± 4.46 ^a	0.55	7.19	9.78	0.0141
Área interior de los vasos en tallos (µm ²)	5	59.98 ± 18.16 ^b	251.60 ± 91.62 ^a	0.79	19.47	30.77	0.0005

Diferentes letras indican diferencias estadísticamente significativas entre puntos de muestreo (P < 0.05)

Tabla A. 13. ANOVA cortes transversales en raíces de *Asphodellus fistulosus* para los puntos de muestreo P₂ y P₄

	N	Puntos de muestreo		R ²	Coeficiente de variación	Valor de F	Pr > F
		P ₂	P ₄				
Diámetro tangencial de los vasos en raíces (µm)	5	27.55 ± 6.33 ^b	38.32 ± 4.42 ^a	0.54	8.69	9.40	0.0154
Diámetro radial de los vasos en raíces (µm)	5	36.44 ± 10.03 ^a	42.42 ± 4.55 ^a	0.16	10.53	1.54	0.2493
Área interior de los vasos en raíces (µm²)	5	577.72 ± 302.38 ^a	1015.84 ± 363.60 ^a	0.37	21.83	4.72	0.0615

Diferentes letras indican diferencias estadísticamente significativas entre puntos de muestreo (P < 0.05)

Tabla A. 14. ANOVA pH del suelo rizosférico de *Nama sp* para los puntos de muestreo P₅, P₆, P₇, P₈ y P₉

	N	Puntos de muestreo (pH)					R ²	Coeficiente de variación	Valor de F	Pr > F
		P ₅	P ₆	P ₇	P ₈	P ₉				
pH	2	7.77 ± 0 ^a	7.66 ± 0.03 ^a	7.72 ± 0.02 ^a	7.71 ± 0.01 ^a	7.1 ± 0 ^b	0.99	0.14	190.96	< 0.0001

Diferentes letras indican diferencias estadísticamente significativas entre puntos de muestreo (P < 0.05)

Tabla A. 15. ANOVA concentración total de metales en el suelo rizosférico de *Nama sp* para los puntos de muestreo P₅, P₆, P₇, P₈ y P₉

	N	Puntos de muestreo (mg kg ⁻¹)					R ²	Coeficiente de variación	Valor de F	Pr > F
		P ₅	P ₆	P ₇	P ₈	P ₉				
As	2	1285.25 ± 66.11 ^a	1146 ± 50.91 ^a	914 ± 40.30 ^b	56.92 ± 0.03 ^d	566.75 ± 0.35 ^c	0.99	2.32	700.67	< 0.0001
Cd	2	58.42 ± 2.08 ^a	59.52 ± 2.29 ^a	65.1 ± 14.70 ^a	2.95 ± 0.10 ^c	30.54 ± 0.25 ^b	0.98	6.83	80.47	0.0001
Fe	2	18222.5 ± 2506.69 ^a	16382.5 ± 17.67 ^a	15292.5 ± 38.89 ^a	5425 ± 77.78 ^b	15510 ± 523.25 ^a	0.98	3.65	66.35	0.0002
Pb	2	6465 ± 254.55 ^b	9225 ± 275.77 ^a	322.87 ± 84.95 ^d	382.07 ± 0.74 ^d	2415 ± 22.62 ^c	0.99	2.72	1210.92	< 0.0001
Zn	2	1555.75 ± 56.21 ^a	1508.5 ± 1.41 ^a	1551.5 ± 26.16 ^a	246.6 ± 18.38 ^c	1369 ± 3.53 ^b	0.99	1.28	1105.05	< 0.0001

Diferentes letras indican diferencias estadísticamente significativas entre puntos de muestreo (P < 0.05)

Tabla A. 16. ANOVA concentración fitoaccesible de metales en el suelo rizosférico de *Nama sp* movilizados por una solución de ácidos orgánicos para los puntos de muestreo P₅, P₆, P₇, P₈ y P₉

	N	Puntos de muestreo (mg kg ⁻¹)					R ²	Coeficiente de variación	Valor de F	Pr > F
		P ₅	P ₆	P ₇	P ₈	P ₉				
As	2	4.43 ± 0.26 ^b	1.56 ± 50.91 ^c	1.812 ± 0.44 ^{cb}	28 ± 0.53 ^a	4.56 ± 0.61 ^b	0.99	8.55	128.90	< 0.0001
Cd	2	1.75 ± 0.21 ^b	0.8 ± 0.28 ^c	0.6 ± 0.14 ^c	0.35 ± 0.07 ^c	21.17 ± 0.10 ^a	0.99	5.73	642.36	< 0.0001
Fe	2	6.25 ± 0.17 ^a	11.75 ± 8.66 ^a	6.87 ± 2.12 ^a	3.25 ± 0.53 ^a	10.75 ± 1.76 ^a	0.60	23.36	1.95	0.2407
Pb	2	32.37 ± 1.41 ^a	18.81 ± 0.97 ^b	23 ± 4.06 ^{ba}	7.5 ± 0 ^c	23.06 ± 3.09 ^{ba}	0.96	5.59	37.69	0.0006
Zn	2	149 ± 4.24 ^a	59.8 ± 0.42 ^{cb}	75 ± 5.65 ^b	1.2 ± 0.28 ^d	38.8 ± 13.57 ^c	0.98	7.27	120.91	< 0.0001

Diferentes letras indican diferencias estadísticamente significativas entre puntos de muestreo (P < 0.05)

Tabla A. 17. ANOVA concentración de metales bioacumulados en hojas de *Nama sp* para los puntos de muestreo P₅, P₆, P₇, P₈ y P₉

	N	Puntos de muestreo (mg kg ⁻¹)					R ²	Coeficiente de variación	Valor de F	Pr > F
		P ₅	P ₆	P ₇	P ₈	P ₉				
As	2	19.03 ± 5.25 ^a	9.68 ± 0.57 ^{cb}	13.34 ± 0.96 ^{ab}	4.69 ± 0.23 ^d	3.79 ± 0.04 ^{cd}	0.95	9.23	25.50	0.0016
Cd	2	5.67 ± 0.02 ^c	4.25 ± 0.01 ^d	6.69 ± 0.31 ^b	0.75 ± 0 ^e	11.56 ± 0.05 ^a	0.99	1.23	2186.50	< 0.0001
Fe	2	1847 ± 53.74 ^a	1238.25 ± 37.12 ^b	1774 ± 55.15 ^a	342.32 ± 29.45 ^c	430.2 ± 7.07 ^c	0.99	1.84	780.24	< 0.0001
Pb	2	95.07 ± 5.40 ^a	63.32 ± 0.31 ^c	75.57 ± 3.28 ^b	12.83 ± 1.52 ^e	23.04 ± 0.39 ^d	0.99	2.57	435.60	< 0.0001
Zn	2	354.3 ± 0.77 ^b	261.55 ± 0.42 ^c	269.02 ± 9.43 ^c	39.92 ± 1.82 ^d	543.5 ± 3.53 ^a	0.99	0.91	3523.49	< 0.0001

Diferentes letras indican diferencias estadísticamente significativas entre puntos de muestreo (P < 0.05)

Tabla A. 18. ANOVA concentración de metales bioacumulados en tallos de *Nama* sp para los puntos de muestreo P₅, P₆, P₇, P₈ y P₉

	N	Puntos de muestreo (mg kg ⁻¹)					R ²	Coeficiente de variación	Valor de F	Pr > F
		P ₅	P ₆	P ₇	P ₈	P ₉				
As	2	1.74 ± 0.13 ^{cb}	1.76 ± 0.15 ^b	6.56 ± 0.33 ^a	1.29 ± 0.007 ^c	6.9 ± 0.07 ^a	0.99	2.52	523.94	< 0.0001
Cd	2	0.90 ± 0.02 ^c	1.14 ± 0.03 ^c	2.97 ± 0.05 ^b	0.58 ± 0.05 ^d	6.98 ± 0.27 ^a	0.99	2.18	1212.64	< 0.0001
Fe	2	119.87 ± 7.24 ^c	137.07 ± 16.44 ^c	44450 ± 1343.5 ^a	23970 ± 410.12 ^b	238.5 ± 3.39 ^c	0.99	1.95	7248.78	< 0.0001
Pb	2	19.35 ± 1.23 ^d	24.31 ± 3.08 ^{dc}	202.05 ± 2.47 ^a	40.05 ± 0.91 ^b	29.53 ± 2.89 ^c	0.99	2.84	816.87	< 0.0001
Zn	2	45.95 ± 1. ^d	61.65 ± 2.12 ^c	373 ± 2.54 ^b	37.52 ± 0.11 ^d	641.3 ± 22.48 ^a	0.99	1.62	3374.14	< 0.0001

Diferentes letras indican diferencias estadísticamente significativas entre puntos de muestreo (P < 0.05)

Tabla A. 19. ANOVA concentración de metales bioacumulados en raíces de *Nama* sp para los puntos de muestreo P₅, P₆, P₇, P₈ y P₉

	N	Puntos de muestreo (mg kg ⁻¹)					R ²	Coeficiente de variación	Valor de F	Pr > F
		P ₅	P ₆	P ₇	P ₈	P ₉				
As	2	4.99 ± 0.31 ^b	5.1 ± 0.14 ^b	9.99 ± 1.98 ^a	0.1 ± 0 ^d	1.4 ± 0 ^c	0.98	7.93	114.15	< 0.0001
Cd	2	0.93 ± 0.05 ^c	0.84 ± 0.01 ^c	2.04 ± 0.11 ^a	0.64 ± 0.02 ^d	1.30 ± 0.02 ^b	0.99	2.24	214.73	< 0.0001
Fe	2	466.27 ± 32.98 ^e	3333 ± 41.01 ^b	28700 ± 282.84 ^a	1338 ± 65.05 ^d	2449 ± 46.66 ^c	0.99	1.03	14326.3	< 0.0001
Pb	2	54.32 ± 6.47 ^b	92.29 ± 1.15 ^a	78.57 ± 3.92 ^a	59.12 ± 0.50 ^b	32.55 ± 2.39 ^c	0.98	3.07	77.15	< 0.0001
Zn	2	43.02 ± 2.49 ^d	100.13 ± 8.30 ^c	127.39 ± 9.03 ^b	18.17 ± 0.43 ^e	175.97 ± 0.70 ^a	0.99	3.327	289.51	< 0.0001

Diferentes letras indican diferencias estadísticamente significativas entre puntos de muestreo (P < 0.05)

Tabla A. 20. ANOVA cuantificación de pigmentos fotosintéticos en *Nama sp* para los puntos de muestreo P₅, P₆, P₇, P₈ y P₉

	N	Puntos de muestreo ($\mu\text{g g}^{-1}$)					R ²	Coeficiente de variación	Valor de F	Pr > F
		P ₅	P ₆	P ₇	P ₈	P ₉				
Clorofila a (Cl_a)	9	49.02 ± 27.30 ^d	120.1 ± 70.85 ^c	176.79 ± 39.55 ^{ba}	155.6 ± 17.74 ^{bc}	247.44 ± 54.25 ^a	0.73	16.25	27.17	< 0.0001
Clorofila b (Cl_b)	9	15.52 ± 8.89 ^d	38.96 ± 24.8 ^c	60.21 ± 11.21 ^b	57.55 ± 6.6 ^{cb}	92.89 ± 25.72 ^a	0.74	17.20	29.57	< 0.0001
Clorofila total (Cl_a+Cl_b)	9	65.17 ± 36.73 ^d	161.5 ± 97.7 ^c	242.3 ± 51.9 ^b	218.3 ± 24.32 ^{cb}	348 ± 81.5 ^a	0.73	16.47	28.24	< 0.0001
Relación Cl_a/Cl_b	9	3.30 ± 0.74 ^a	3.16 ± 0.20 ^a	2.92 ± 0.14 ^{ba}	2.71 ± 0.09 ^b	2.7 ± 0.15 ^b	0.35	5.68	5.44	0.0014

Diferentes letras indican diferencias estadísticamente significativas entre puntos de muestreo (P < 0.05)

Tabla A. 21. ANOVA cortes longitudinales en hojas, tallos y raíces de *Nama sp* para los puntos de muestreo P₅ y P₈

	N	Puntos de muestreo		R ²	Coeficiente de variación	Valor de F	Pr > F
		P ₅	P ₈				
Longitud de vasos en hojas (μm)	5	17.82 ± 2.56 ^b	44.98 ± 6.45 ^a	0.92	7.18	100.33	< 0.0001
Longitud de vasos en tallo (μm)	5	70.66 ± 25.48 ^a	43.55 ± 2.99 ^b	0.46	13.84	6.87	0.0306
Longitud de vasos en raíz (μm)	5	72.89 ± 22.90 ^b	136.54 ± 26.73 ^a	0.67	12.48	16.26	0.0038

Diferentes letras indican diferencias estadísticamente significativas entre puntos de muestreo (P < 0.05)

Tabla A. 22. ANOVA cortes transversales en hojas de *Nama* sp para los puntos de muestreo P₅ y P₈

	N	Puntos de muestreo		R ²	Coeficiente de variación	Valor de F	Pr > F
		P ₅	P ₈				
Grosor cutícula (μm)	5	4.25 ± 0.83 ^a	5.16 ± 0.74 ^a	0.28	8.66	3.18	0.1125
Área haces vasculares (μm ²)	5	11677.66 ± 868.84 ^b	18027.87 ± 966.67 ^a	0.93	3.19	114.47	< 0.0001

Diferentes letras indican diferencias estadísticamente significativas entre puntos de muestreo (P < 0.05)

Tabla A. 23. ANOVA cortes transversales en tallos de *Nama* sp para los puntos de muestreo P₅ y P₈

	N	Puntos de muestreo		R ²	Coeficiente de variación	Valor de F	Pr > F
		P ₅	P ₈				
Diámetro tangencial de los vasos en tallos (μm)	5	16.69 ± 1.78 ^a	23.55 ± 8.74 ^a	0.26	14.82	2.88	0.1283
Diámetro radial de los vasos en tallos (μm)	5	22.47 ± 3.35 ^b	33.23 ± 7.51 ^a	0.53	9.98	9.27	0.0159
Área interior de los vasos en tallos(μm ²)	5	210.92 ± 18.62 ^b	737.60 ± 411.793 ^a	0.58	27.35	11.06	0.0104

Diferentes letras indican diferencias estadísticamente significativas entre puntos de muestreo (P < 0.05)

Tabla A. 24. ANOVA cortes transversales en raíces de *Nama sp* para los puntos de muestreo P₅ y P₈

	N	Puntos de muestreo		R ²	Coeficiente de variación	Valor de F	Pr > F
		P ₅	P ₈				
Diámetro tangencial de los vasos en raíces (µm)	5	33.82 ± 5.51 ^b	43.33 ± 5.95 ^a	0.47	7.37	7.13	0.0284
Diámetro radial de los vasos en raíces (µm)	5	38.66 ± 7.3 ^b	65.43 ± 4.18 ^a	0.83	6.54	40.92	0.0002
Área interior de los vasos en raíces (µm ²)	5	786.34 ± 224.29 ^b	2405.61 ± 366.78 ^a	0.89	10.30	71.65	< 0.0001

Diferentes letras indican diferencias estadísticamente significativas entre puntos de muestreo (P < 0.05)

Tabla A. 25. ANOVA cortes longitudinales en hojas, tallos y raíces de *Nama sp* para los puntos de muestreo P₅ y P₉

	N	Puntos de muestreo		R ²	Coeficiente de variación	Valor de F	Pr > F
		P ₅	P ₉				
Longitud de vasos en hojas (µm)	5	17.82 ± 2.56 ^a	21.94 ± 5.40 ^a	0.22	10.33	2.34	0.1646
Longitud de vasos en tallo (µm)	5	70.66 ± 25.48 ^b	140.32 ± 25.98 ^a	0.70	12.67	18.84	0.0025
Longitud de vasos en raíz (µm)	5	72.89 ± 22.90 ^a	96.49 ± 28.71 ^a	0.18	16.45	1.82	0.2142

Diferentes letras indican diferencias estadísticamente significativas entre puntos de muestreo (P < 0.05)

Tabla A. 26. ANOVA cortes transversales en hojas de *Nama* sp para los puntos de muestreo P₅ y P₉

	N	Puntos de muestreo		R ²	Coeficiente de variación	Valor de F	Pr > F
		P ₅	P ₉				
Grosor cutícula (µm)	5	4.25 ± 0.83 ^a	3.65 ± 0.74 ^a	0.15	9.91	1.48	0.2578
Área haces vasculares (µm ²)	5	11677.66 ± 868.84 ^a	4062.24 ± 2397.85 ^b	0.75	17.88	24.31	0.0011

Diferentes letras indican diferencias estadísticamente significativas entre puntos de muestreo (P < 0.05)

Tabla A. 27. ANOVA cortes transversales en tallos de *Nama* sp para los puntos de muestreo P₅ y P₉

	N	Puntos de muestreo		R ²	Coeficiente de variación	Valor de F	Pr > F
		P ₅	P ₉				
Diámetro tangencial de los vasos en tallos (µm)	5	16.69 ± 1.78 ^b	45.13 ± 5.94 ^a	0.94	6.55	138	< 0.0001
Diámetro radial de los vasos en tallos (µm)	5	22.47 ± 3.35 ^b	45.43 ± 8.63 ^a	0.82	8.89	38.13	0.0003
Área interior de los vasos en tallos(µm ²)	5	210.92 ± 18.62 ^b	1290.1 ± 351.88 ^a	0.927	13.15	102.74	< 0.0001

Diferentes letras indican diferencias estadísticamente significativas entre puntos de muestreo (P < 0.05)

Tabla A. 28. ANOVA cortes transversales en raíces de *Nama* sp para los puntos de muestreo P₅ y P₉

	N	Puntos de muestreo		R ²	Coeficiente de variación	Valor de F	Pr > F
		P ₅	P ₈				
Diámetro tangencial de los vasos en raíces (μm)	5	33.82 ± 5.51 ^a	33.62 ± 2.10 ^a	0.000037	6.20	0	0.9868
Diámetro radial de los vasos en raíces (μm)	5	38.66 ± 7.3 ^b	51.48 ± 3.71 ^a	0.57	7.001	10.90	0.0108
Área interior de los vasos en raíces (μm²)	5	786.34 ± 224.29 ^a	1024.4 ± 155.06 ^a	0.30	11.66	3.55	0.0961

Diferentes letras indican diferencias estadísticamente significativas entre puntos de muestreo (P < 0.05)

Anexo III. Correlación entre las variables del análisis químico (pH, contenido total y movilidad de EPT en el suelo rizosférico) y las variables del análisis ecofisiológico e histológico (cuantificación de pigmentos fotosintéticos, contenido total de EPT bioacumulados en el tejido vegetal e histología) de las especies vegetales bajo estudio, procedimiento CORR del software estadístico SAS.

Tabla A. 29. Valores del análisis de correlación para la determinación de la concentración total de metales en el suelo rizosférico

		As	Cd	Fe	Pb	Zn	
Cuantificación pigmentos fotosintéticos ($\mu\text{g g}^{-1}$)	Clorofila a	-0.54013 0.3474	-0.43735 0.4614	-0.29747 0.6269	-0.55482 0.3317	-0.22080 0.7212	
	Clorofila b	-0.45565 0.4406	-0.34531 0.5692	-0.22639 0.7142	-0.44819 0.4491	-0.19423 0.7543	
	Clorofila total	-0.52472 0.3640	-0.42147 0.4797	-0.28620 0.6406	-0.53538 0.3525	-0.22563 0.7152	
	Relación Cl_a/Cl_b		0.21526	0.10065	0.07575	0.13381	0.07897
			0.7281	0.8721	0.9036	0.8301	0.8996
	Concentración total de metales en el suelo rizosférico (mg kg^{-1})	As	1.00000	0.94604 0.0149	0.93849 0.0181	0.94593 0.0150	0.66958 0.2163
Cd		0.94604 0.0149	1.00000	0.98262 0.0027	0.98933 0.0013	0.86640 0.0574	
Fe		0.93849 0.0181	0.98262 0.0027	1.00000	0.94685 0.0146	0.84311 0.0728	
Pb		0.94593 0.0150	0.98933 0.0013	0.94685 0.0146	1.00000	0.83880 0.0758	
Zn		0.66958 0.2163	0.86640 0.0574	0.84311 0.0728	0.83880 0.0758	1.00000	

Concentración fitoaccesible en el suelo rizosférico (mg kg⁻¹)	As	-0.88747 0.0445	-0.84226 0.0734	-0.91117 0.0314	-0.78240 0.1178	-0.64802 0.2370
	Cd	0.37516 0.5338	0.59270 0.2922	0.64660 0.2384	0.50797 0.3822	0.72211 0.1683
	Fe	0.53032 0.3579	0.60915 0.2755	0.71959 0.1706	0.50017 0.3908	0.68080 0.2058
	Pb	0.45362 0.4429	0.70752 0.1813	0.65121 0.2339	0.69878 0.1892	0.95328 0.0120
	Zn	0.49248 0.3993	0.69045 0.1969	0.63292 0.2518	0.69419 0.1934	0.73152 0.1601
	Concentración de metales bioacumulados en hojas (mg kg⁻¹)	As	0.30271 0.6206	0.01843 0.9765	-0.00971 0.9876	0.08440 0.8927
Cd		0.62360 0.2610	0.76308 0.1334	0.81486 0.0929	0.69007 0.1972	0.73586 0.1563
Fe		0.38973 0.5166	0.11768 0.8505	0.10177 0.8707	0.17042 0.7841	-0.21666 0.7263
Pb		0.50243 0.3883	0.22224 0.7194	0.21221 0.7318	0.27053 0.6598	-0.16780 0.7874
Zn		0.66624 0.2195	0.54244 0.3449	0.67174 0.2143	0.45409 0.4424	0.24656 0.6893
Concentración de metales bioacumulados en tallos (mg kg⁻¹)		As	0.06503 0.9173	0.08217 0.8955	0.20265 0.7438	-0.01771 0.9774
	Cd	0.23902 0.6986	0.33755 0.5785	0.48774 0.4046	0.20068 0.7462	0.39287 0.5130
	Fe	-0.91166 0.0311	-0.92421 0.0248	-0.97119 0.0058	-0.87202 0.0539	-0.72539 0.1654
	Pb	-0.96816 0.0068	-0.86827 0.0562	-0.84812 0.0694	-0.88593 0.0455	-0.57337 0.3122
	Zn	0.11616 0.8524	0.17595 0.7771	0.34616 0.5682	0.03131 0.9601	0.26621 0.6651

Concentración de metales bioacumulados en raíces (mg kg⁻¹)	As	0.60032	0.81545	0.74982	0.81954	0.92294
		0.2844	0.0925	0.1444	0.0895	0.0254
	Cd	0.49299	0.67927	0.70443	0.62097	0.71584
		0.3987	0.2072	0.1841	0.2636	0.1739
	Fe	-0.42528	-0.31449	-0.18138	-0.43204	0.00637
		0.4753	0.6063	0.7703	0.4675	0.9919
	Pb	0.03291	-0.21842	0.05459	0.31159	0.45444
		0.9581	0.7241	0.9305	0.6098	0.4420
	Zn	0.31617	0.35388	0.51318	0.21814	0.39411
		0.6042	0.5590	0.3765	0.7245	0.5115
Cortes transversales en hojas (µm)	Grosor cutícula	-0.59669	-0.73855	-0.80191	-0.65395	-0.86671
		0.2881	0.1540	0.1026	0.2313	0.0572
	Área haces vasculares	-0.46811	-0.59150	-0.67990	-0.49558	-0.56761
		0.4265	0.2935	0.2066	0.3959	0.3182
Cortes longitudinales en hojas (µm)	Longitud de los vasos	-0.45844	-0.17154	-0.25783	-0.14849	0.28723
		0.4374	0.7827	0.6754	0.8116	0.6394
Cortes transversales en tallos (µm)	Diámetro tangencial vaso	-0.30936	-0.42385	-0.25100	-0.53274	-0.48607
		0.6125	0.4770	0.6838	0.3553	0.4064
	Diámetro tangencial vaso	-0.50295	-0.60384	-0.44712	-0.70004	-0.58809
		0.3878	0.2809	0.4503	0.1881	0.2970
	Área interior vasos	-0.52785	-0.65040	-0.50280	-0.73543	-0.65173
		0.3606	0.2347	0.3879	0.1567	0.2334
Cortes longitudinales en tallos (µm)	Longitud de los vasos	0.02865	-0.14914	-0.00413	-0.23222	-0.26847
		0.9635	0.8108	0.9947	0.7070	0.6623

Cortes transversales en raíces (μm)	Diámetro tangencial vaso	-0.71211	-0.84814	-0.85716	-0.80477	-0.94522
		0.1772	0.0694	0.0634	0.1005	0.0153
	Diámetro tangencial vaso	-0.92879	-0.98669	-0.94153	-0.99734	-0.84675
		0.0226	0.0018	0.0168	0.0002	0.0703
	Área interior vasos	-0.92104	-0.98834	-0.99491	-0.95697	-0.88952
	0.0263	0.0015	0.0004	0.0106	0.0433	
Cortes longitudinales en raíces (μm)	Longitud de los vasos	-0.78188	-0.88363	-0.85203	-0.87666	-0.92146
		0.1182	0.0468	0.0668	0.0500	0.0261
pH suelo rizosférico (pH)		0.22734	0.38660	0.25190	0.46117	0.42155
		0.7131	0.5203	0.6827	0.4344	0.4796

Tabla A. 30. Valores del análisis de correlación para la movilidad de EPT en presencia de una solución sintética de ácidos orgánicos de bajo peso molecular

		As	Cd	Fe	Pb	Zn
Cuantificación pigmentos fotosintéticos ($\mu\text{g g}^{-1}$)	Clorofila a	0.20120	0.38420	0.23334	-0.20190	-0.13275
		0.7456	0.5231	0.7056	0.7447	0.8315
	Clorofila b	0.22879	0.50426	0.10757	-0.17294	0.09870
		0.7113	0.3863	0.8633	0.7809	0.8745
	Clorofila total	0.21652	0.41674	0.19068	-0.20614	0.07140
		0.7265	0.4852	0.7587	0.7394	0.9092
	Relación Cl_a/Cl_b	-0.29795	-0.55961	0.23113	0.02328	0.53275
		0.6263	0.3267	0.7084	0.9704	0.3553
Concentración total de metales en el suelo rizosférico (mg kg^{-1})	As	-0.88747	0.37516	0.53032	0.45362	0.49248
		0.0445	0.5338	0.3579	0.4429	0.3993
	Cd	-0.84226	0.59270	0.60915	0.70752	0.69045
		0.0734	0.2922	0.2755	0.1813	0.1969
	Fe	-0.91117	0.64660	0.71959	0.65121	0.63292
		0.0314	0.2384	0.1706	0.2339	0.2518
	Pb	-0.78240	0.50797	0.50017	0.69878	0.69419
		0.1178	0.3822	0.3908	0.1892	0.1934
	Zn	-0.64802	0.72211	0.68080	0.95328	0.73152
		0.2370	0.1683	0.2058	0.0120	0.1601
Concentración fitoaccesible en el suelo rizosférico (mg kg^{-1})	As	1.00000	-0.44505	-0.83242	-0.39071	-0.26963
			0.4527	0.0802	0.5155	0.6609
	Cd	-0.44505	1.00000	0.59999	0.67008	0.79768
		0.4527		0.2848	0.2159	0.1059
	Fe	-0.83242	0.59999	1.00000	0.50304	0.18277
		0.0802	0.2848		0.3877	0.7686
	Pb	-0.39071	0.67008	0.50304	1.00000	0.74792
		0.5155	0.2159	0.3877		0.1460
	Zn	-0.26963	0.79768	0.18277	0.74792	1.00000
		0.6609	0.1059	0.7686	0.1460	

Concentración de metales bioacumulados en hojas (mg kg⁻¹)	As	-0.22231 0.7193	-0.75417 0.1408	-0.16098 0.7959	-0.46050 0.4351	-0.56366 0.3224
	Cd	-0.63995 0.2449	0.94759 0.0143	0.62412 0.2605	0.60782 0.2768	0.81037 0.0963
	Fe	-0.34779 0.5663	-0.67564 0.2106	-0.01536 0.9804	-0.37308 0.5362	-0.53524 0.3326
	Pb	-0.43724 0.4616	-0.57767 0.3077	0.01925 0.9755	-0.35606 0.5564	-0.42880 0.4713
	Zn	-0.84861 0.0691	0.39111 0.5150	0.68546 0.2015	-0.04883 0.9379	0.07855 0.9001
	Concentración de metales bioacumulados en tallos (mg kg⁻¹)	As	-0.48527 0.4073	0.09569 0.8764	0.79285 0.1096	0.13125 0.8334
Cd		-0.54204 0.3453	0.79848 0.1053	0.77022 0.1276	0.24221 0.6947	0.29821 0.6260
Fe		0.91247 0.0307	-0.68246 0.2043	-0.70679 0.1820	-0.50053 0.3904	-0.60472 0.2800
Pb		0.85508 0.0648	-0.14907 0.8109	-0.46818 0.4264	-0.36043 0.5512	-0.30258 0.6207
Zn		-0.52460 0.3641	0.57822 0.3072	0.82496 0.0856	0.11107 0.8589	-0.01889 0.9760
Concentración de metales bioacumulados en raíces (mg kg⁻¹)		As	-0.43037 0.4695	0.74336 0.1499	0.38683 0.5200	0.93277 0.0207
	Cd	-0.45231 0.4444	0.96672 0.0073	0.47135 0.4229	0.65390 0.2313	0.90067 0.0370
	Fe	-0.02223 0.9717	0.21522 0.7281	0.53812 0.3495	0.01458 0.9814	-0.36179 0.5496
	Pb	0.25329 0.6810	0.02095 0.9733	-0.25480 0.6791	0.65988 0.2256	0.45709 0.4390
	Zn	-0.70061 0.1876	0.56288 0.3232	0.92260 0.0255	0.20099 0.7458	0.01070 0.9864

Cortes transversales en hojas (μm)	Grosor cutícula	0.80174 0.1028	-0.68257 0.2042	-0.95283 0.0122	-0.73935 0.1533	-0.39844 0.5065
	Área haces vasculares	0.56013 0.3261	-0.94002 0.0175	-0.60985 0.2748	-0.43243 0.4671	-0.68826 0.1989
Cortes longitudinales en hojas (μm)	Longitud de los vasos	0.52138 0.3676	0.22793 0.7123	-0.16915 0.7857	0.55793 0.3284	0.33876 0.5771
Cortes transversales en tallos (μm)	Diámetro tangencial vaso	-0.06740 0.9142	-0.02175 0.9723	0.26798 0.6629	-0.61777 0.2668	-0.55843 0.3279
	Diámetro tangencial vaso	0.11803 0.8501	-0.17303 0.7808	0.15170 0.8076	-0.66036 0.2251	-0.69211 0.1953
	Área interior vasos	0.16057 0.7964	-0.27280 0.6570	0.08369 0.8936	-0.71803 0.1719	-0.75769 0.1379
	Longitud de los vasos	-0.40409 0.4999	-0.25353 0.6807	0.48731 0.4051	-0.46292 0.4324	-0.71554 0.1741
Cortes transversales en raíces (μm)	Diámetro tangencial vaso	0.79210 0.1102	-0.58551 0.2996	-0.83177 0.0807	-0.84126 0.0741	-0.48674 0.4057
	Diámetro tangencial vaso	0.75263 0.1421	-0.54931 0.3376	-0.47782 0.4156	-0.71730 0.1726	-0.74437 0.1491
	Área interior vasos	0.88744 0.0446	-0.65010 0.2350	-0.72106 0.1693	-0.71920 0.1709	-0.65346 0.2317
	Longitud de los vasos	0.75954 0.1363	-0.43470 0.4645	-0.68401 0.2028	-0.82796 0.0834	-0.48872 0.4035
	pH suelo rizosférico (pH)	0.16091 0.7690	0.38531 0.5218	-0.33220 0.5849	0.54780 0.3392	0.84573 0.0710

Tabla A. 31. Valores del análisis de correlación para la concentración de metales bioacumulados en las hojas de las especies vegetales bajo estudio

		As	Cd	Fe	Pb	Zn
Cuantificación pigmentos fotosintéticos ($\mu\text{g g}^{-1}$)	Clorofila a	-0.65690	0.18694	-0.64701	-0.65392	0.13793
		0.2284	0.7634	0.2380	0.2313	0.8249
	Clorofila b	-0.74427	0.33745	-0.75507	-0.72012	0.14651
		0.1491	0.5786	0.1400	0.1701	0.8141
	Clorofila total	-0.68467	0.22759	-0.68208	-0.67648	0.14169
		0.2022	0.7127	0.2046	0.2098	0.8202
	Relación Cl_a/Cl_b	0.72361	-0.47697	0.77852	0.68631	0.00077
	0.1670	0.4166	0.1209	0.2007	0.9990	
Concentración total de metales en el suelo rizosférico (mg kg^{-1})	As	0.30271	0.62360	0.38973	0.50243	0.66624
		0.6206	0.2610	0.5166	0.3883	0.2195
	Cd	0.01843	0.76308	0.11768	0.22224	0.54244
		0.9765	0.1334	0.8505	0.7194	0.3449
	Fe	-0.00971	0.81486	0.10177	0.21221	0.67174
		0.9876	0.0929	0.8707	0.7318	0.2143
	Pb	0.08440	0.69007	0.17042	0.27053	0.45409
	0.8927	0.1972	0.7841	0.6598	0.4424	
	Zn	-0.32812	0.73586	-0.21666	-0.16780	0.24656
		0.5898	0.1563	0.7263	0.7874	0.6893
Concentración fitoaccesible en el suelo rizosférico (mg kg^{-1})	As	-0.22231	-0.63995	-0.34779	-0.43724	-0.84861
		0.7193	0.2449	0.5663	0.4616	0.0691
	Cd	-0.75417	0.94759	-0.67564	-0.57767	0.39111
		0.1408	0.0143	0.2106	0.3077	0.5150
	Fe	-0.16098	0.62412	-0.01536	0.01925	0.68546
		0.7959	0.2605	0.9804	0.9755	0.2015
	Pb	-0.46050	0.60782	-0.37308	-0.35606	-0.04883
	0.4351	0.2768	0.5362	0.5564	0.9379	
	Zn	-0.56366	0.81037	-0.53524	-0.42880	0.07855
		0.3224	0.0963	0.3326	0.4713	0.9001

Concentración de metales bioacumulados en hojas (mg kg⁻¹)	As	1.00000	-0.52102 0.3680	0.98897 0.0014	0.97119 0.0058	0.18799 0.7621
	Cd	-0.52102 0.3680	1.00000	-0.43745 0.4613	-0.30592 0.6167	0.59143 0.2935
	Fe	0.98897 0.0014	-0.43745 0.4613	1.00000	0.98534 0.0021	0.27747 0.6513
	Pb	0.97119 0.0058	-0.30592 0.6167	0.98534 0.0021	1.00000	0.39292 0.5129
	Zn	0.18799 0.7621	0.59143 0.2935	0.27747 0.6513	0.39292 0.5129	1.00000
	Concentración de metales bioacumulados en tallos (mg kg⁻¹)	As	0.05757 0.9267	0.04207 0.9465	0.17420 0.7793	0.11378 0.8554
	Cd	-0.53685 0.3509	0.76632 0.1307	-0.44229 0.4558	-0.36196 0.5494	0.69619 0.1916
	Fe	0.03544 0.9549	-0.86657 0.0573	-0.06766 0.9139	-0.20082 0.7460	-0.79786 0.1057
	Pb	-0.50959 0.3805	-0.41429 0.4880	-0.59189 0.2930	-0.67642 0.2099	-0.59901 0.2858
	Zn	-0.36946 0.5405	0.52743 0.3610	-0.26485 0.6668	-0.23089 0.7087	0.67321 0.2129
Concentración de metales bioacumulados en raíces (mg kg⁻¹)	As	-0.44040 0.4580	0.75295 0.1418	-0.37349 0.5358	-0.30235 0.6210	0.06940 0.9117
	Cd	-0.66146 0.2241	0.97110 0.0059	-0.60012 0.2846	-0.47694 0.4166	0.39359 0.5121
	Fe	-0.40642 0.4971	0.00965 0.9877	-0.33842 0.5775	-0.41327 0.4892	0.11134 0.8585
	Pb	-0.16947 0.7853	-0.06670 0.9151	-0.18457 0.7663	-0.23688 0.7012	-0.69962 0.1885
	Zn	-0.22206 0.7196	0.56582 0.3201	-0.09822 0.8751	-0.05717 0.9273	0.76398 0.1327

Cortes transversales en hojas (μm)	Grosor cutícula	0.25104	-0.69021	0.10656	0.07290	-0.52500
		0.6838	0.1971	0.8646	0.9073	0.3637
	Área haces vasculares	0.58577	-0.96589	0.51110	0.38072	-0.64057
		0.2994	0.0075	0.3788	0.5272	0.2443
Cortes longitudinales en hojas (μm)	Longitud de los vasos	-0.66520	-0.04000	-0.68205	-0.76543	-0.77750
		0.2205	0.9491	0.2046	0.1315	0.1217
Cortes transversales en tallos (μm)	Diámetro tangencial vaso	-0.02033	-0.04638	-0.00395	0.00023	0.49773
		0.9741	0.9410	0.9950	0.9997	0.3935
	Diámetro tangencial vaso	-0.01331	-0.24989	-0.01156	-0.04790	0.28735
		0.9831	0.6852	0.9853	0.9390	0.6392
	Área interior vasos	0.06713	-0.34080	0.06028	0.01560	0.24341
		0.9146	0.5746	0.9233	0.9801	0.6932
Cortes longitudinales en tallos (μm)	Longitud de los vasos	0.43804	-0.18378	0.50187	0.47571	0.59055
		0.4607	0.7673	0.3889	0.4180	0.2944
Cortes transversales en raíces (μm)	Diámetro tangencial vaso	0.11944	-0.63017	-0.01509	-0.04643	-0.39756
		0.8483	0.2545	0.9808	0.9409	0.5075
	Diámetro tangencial vaso	-0.02529	-0.72163	-0.10717	-0.21181	-0.43231
		0.9678	0.1688	0.8638	0.7323	0.4672
	Área interior vasos	0.03773	-0.79963	-0.07600	-0.17570	-0.60258
		0.9520	0.1044	0.9033	0.7775	0.2821
Cortes longitudinales en raíces (μm)	Longitud de los vasos	-0.05201	-0.52315	-0.17031	-0.19979	-0.30704
		0.9338	0.3657	0.7842	0.7473	0.6153
pH suelo rizosférico (pH)		-0.38609	0.38206	-0.42710	-0.36342	-0.36623
		0.5209	0.5257	0.4732	0.5477	0.5444

Tabla A. 32. Valores del análisis de correlación para la concentración de metales bioacumulados en los tallos de las especies vegetales bajo estudio

		As	Cd	Fe	Pb	Zn
Cuantificación pigmentos fotosintéticos ($\mu\text{g g}^{-1}$)	Clorofila a	0.33623	0.68335	0.15889	0.67051	0.71458
		0.5801	0.2034	0.7986	0.2155	0.1750
	Clorofila b	0.05813	0.68084	0.06130	0.63673	0.60215
		0.9260	0.2058	0.9220	0.2480	0.2826
	Clorofila total	0.25212	0.68561	0.13658	0.67077	0.68486
		0.6824	0.2013	0.8266	0.2152	0.2020
	Relación Cl_a/Cl_b	0.59933	-0.39452	0.06997	-0.43431	-0.12562
		0.3482	0.5110	0.9110	0.4649	0.8405
Concentración total de metales en el suelo rizosférico (mg kg^{-1})	As	0.06503	0.23902	-0.91166	-0.96816	0.11616
		0.9173	0.6986	0.0311	0.0068	0.8524
	Cd	0.08217	0.33755	-0.92421	-0.86827	0.17595
		0.8955	0.5785	0.0248	0.0562	0.7771
	Fe	0.20265	0.48774	-0.97119	-0.84812	0.34616
		0.7438	0.4046	0.0058	0.0694	0.5682
Pb	-0.01771	0.20068	-0.87202	-0.88593	0.03131	
	0.9774	0.7462	0.0539	0.0455	0.9601	
Zn	0.24220	0.39287	-0.72539	-0.57337	0.26621	
	0.6947	0.5130	0.1654	0.3122	0.6651	
Concentración fitoaccesible en el suelo rizosférico (mg kg^{-1})	As	-0.48527	-0.54204	0.91247	0.85508	-0.52460
		0.4073	0.3453	0.0307	0.0648	0.3641
	Cd	0.09569	0.79848	-0.68246	-0.14907	0.57822
		0.8764	0.1053	0.2043	0.8109	0.3072
	Fe	0.79285	0.77022	-0.70679	-0.46818	0.82496
		0.1096	0.1276	0.1820	0.4264	0.0856
Pb	0.13125	0.24221	-0.50053	-0.36043	0.11107	
	0.8334	0.6947	0.3904	0.5512	0.8589	
Zn	-0.40657	0.29821	-0.60472	-0.30258	-0.01889	
	0.4970	0.6260	0.2800	0.6207	0.9760	

Concentración de metales bioacumulados en hojas (mg kg ⁻¹)	As	0.05757	-0.53685	0.03544	-0.50959	-0.36946
		0.9267	0.3509	0.9549	0.3805	0.5405
	Cd	0.04207	0.76632	-0.86657	-0.41429	0.52743
		0.9465	0.1307	0.0573	0.4880	0.3610
	Fe	0.17420	-0.44229	-0.06766	-0.59189	-0.26485
		0.7793	0.4558	0.9139	0.2930	0.6668
	Pb	0.11378	-0.36196	-0.20082	-0.67642	-0.23089
	0.8554	0.5494	0.7460	0.2099	0.7087	
	Zn	0.39992	0.69619	-0.79786	-0.59901	0.67321
		0.5047	0.1916	0.1057	0.2858	0.2129
Concentración de metales bioacumulados en tallos (mg kg ⁻¹)	As	1.00000	0.48871	-0.17073	-0.12155	0.74130
			0.4035	0.7037	0.8456	0.1517
	Cd	0.48871	1.00000	-0.60419	-0.06168	0.93651
		0.4035		0.2805	0.9215	0.0190
	Fe	-0.17073	-0.60419	1.00000	0.79463	-0.44416
		0.7037	0.2805		0.1082	0.4537
	Pb	-0.12155	-0.06168	0.79463	1.00000	-0.00811
	0.8456	0.9215	0.1082		0.9897	
	Zn	0.74130	0.93651	-0.44416	-0.00811	1.00000
		0.1517	0.0190	0.4537	0.9897	
Concentración de metales bioacumulados en raíces (mg kg ⁻¹)	As	-0.13937	0.25176	-0.64739	-0.46570	0.01831
		0.8231	0.6829	0.2376	0.4292	0.9767
	Cd	-0.11510	0.68105	-0.74407	-0.26514	0.40289
		0.8538	0.2056	0.1493	0.6664	0.5013
	Fe	0.80472	0.57900	0.15808	0.44882	0.77686
		0.1005	0.3064	0.7996	0.4490	0.1222
	Pb	-0.34721	-0.53361	0.14971	-0.05722	-0.62452
	0.5670	0.3544	0.8101	0.9272	0.2601	
	Zn	0.79488	0.90020	-0.58338	-0.23201	0.97169
		0.1080	0.0373	0.3018	0.7073	0.0057

Cortes transversales en hojas (μm)	Grosor cutícula	-0.66018 0.2253	-0.66410 0.2215	0.73610 0.1561	0.52207 0.3669	-0.66293 0.2227
	Área haces vasculares	-0.09127 0.8839	-0.87785 0.0500	0.78158 0.1184	0.24399 0.6925	-0.66055 0.2249
Cortes longitudinales en hojas (μm)	Longitud de los vasos	-0.12829 0.8371	-0.16385 0.7923	0.39635 0.5089	0.50906 0.3810	-0.21524 0.7281
Cortes transversales en tallos (μm)	Diámetro tangencial vaso	0.49435 0.3972	0.55832 0.3280	0.07119 0.9094	0.33036 0.5872	0.70764 0.1812
	Diámetro tangencial vaso	0.51040 0.3796	0.40787 0.4955	0.29653 0.6281	0.48814 0.4041	0.60832 0.2763
	Área interior vasos	0.48437 0.4083	0.31584 0.6046	0.35817 0.5539	0.49043 0.4016	0.53312 0.3549
	Longitud de los vasos	0.77764 0.1216	0.34817 0.5658	-0.07462 0.9051	-0.12457 0.8418	0.61305 0.2715
Cortes transversales en raíces (μm)	Diámetro tangencial vaso	-0.50241 0.3884	-0.42613 0.4743	0.74013 0.1527	0.66853 0.2173	-0.39913 0.5056
	Diámetro tangencial vaso	0.06334 0.9194	-0.21482 0.7286	0.87090 0.0546	0.85380 0.0656	-0.02443 0.9689
	Área interior vasos	-0.21344 0.7303	-0.45432 0.4421	0.94407 0.0157	0.83530 0.0782	-0.31720 0.6030
	Longitud de los vasos	-0.35551 0.5571	-0.19924 0.7480	0.70671 0.1821	0.77512 0.1236	-0.16276 0.7937
	pH suelo rizosférico (pH)	0.75652 0.1388	-0.22517 0.7157	-0.18515 0.7656	-0.11017 0.8600	-0.52928 0.3590

Tabla A. 33. Valores del análisis de correlación para la concentración de metales bioacumulados en las raíces de las especies vegetales bajo estudio

		As	Cd	Fe	Pb	Zn	
Cuantificación pigmentos fotosintéticos ($\mu\text{g g}^{-1}$)	Clorofila a	-0.27954 0.6488	0.20593 0.7397	0.78461 0.1160	-0.54673 0.3403	0.52942 0.3589	
	Clorofila b	-0.14256 0.8191	0.39130 0.5148	0.55683 0.3296	-0.49716 0.3941	0.40626 0.4973	
	Clorofila total	-0.25064 0.6843	0.25708 0.6763	0.72158 0.1688	-0.54350 0.3438	0.49364 0.3980	
	Relación Cl_a/Cl_b		-0.19029 0.7592	-0.60653 0.2781	0.06619 0.9158	0.14408 0.8172	0.03858 0.9509
	Concentración total de metales en el suelo rizosférico (mg kg^{-1})	As	0.60032 0.2844	0.49299 0.3987	-0.42528 0.4753	0.03291 0.9581	0.31617 0.6042
Cd		0.81545 0.0925	0.67927 0.2072	-0.31449 0.6063	-0.21842 0.7241	0.35388 0.5590	
Fe		0.74982 0.1444	0.70443 0.1841	-0.18138 0.7703	0.05459 0.9305	0.51318 0.3765	
Pb		0.81954 0.0895	0.62097 0.2636	-0.43204 0.4675	0.31159 0.6098	0.21814 0.7245	
Zn		0.92294 0.0254	0.71584 0.1739	0.00637 0.9919	0.45444 0.4420	0.39411 0.5115	
Concentración fitoaccesible en el suelo rizosférico (mg kg^{-1})	As	-0.43037 0.4695	-0.45231 0.4444	-0.02223 0.9717	0.25329 0.6810	-0.70061 0.1876	
	Cd	0.74336 0.1499	0.96672 0.0073	0.21522 0.7281	0.02095 0.9733	0.56288 0.3232	
	Fe	0.38683 0.5200	0.47135 0.4229	0.53812 0.3495	-0.25480 0.6791	0.92260 0.0255	
	Pb	0.93277 0.0207	0.65390 0.2313	0.01458 0.9814	0.65988 0.2256	0.20099 0.7458	
	Zn	0.92211 0.0258	0.90067 0.0370	-0.36179 0.5496	0.45709 0.4390	0.01070 0.9864	

Concentración de metales bioacumulados en hojas (mg kg ⁻¹)	As	-0.44040 0.4580	-0.66146 0.2241	-0.40642 0.4971	-0.16947 0.7853	-0.22206 0.7196
	Cd	0.75295 0.1418	0.97110 0.0059	0.00965 0.9877	-0.06670 0.9151	0.56582 0.3201
	Fe	-0.37349 0.5358	-0.60012 0.2846	-0.33842 0.5775	-0.18457 0.7663	-0.09822 0.8751
	Pb	-0.30235 0.6210	-0.47694 0.4166	-0.41327 0.4892	-0.23688 0.7012	-0.05717 0.9273
	Zn	0.06940 0.9117	0.39359 0.5121	0.11134 0.8585	-0.69962 0.1885	0.76398 0.1327
	Concentración de metales bioacumulados en tallos (mg kg ⁻¹)	As	-0.13937 0.8231	-0.11510 0.8538	0.80472 0.1005	-0.34721 0.5670
Cd		0.25176 0.6829	0.68105 0.2056	0.57900 0.3064	-0.53361 0.3544	0.90020 0.0373
Fe		-0.64739 0.2376	-0.74407 0.1493	0.15808 0.7996	0.14971 0.8101	-0.58338 0.3018
Pb		-0.46570 0.4292	-0.26514 0.6664	0.44882 0.4490	-0.05722 0.9272	-0.23201 0.7073
Zn		0.01831 0.9767	0.40289 0.5013	0.77686 0.1222	-0.62452 0.2601	0.97169 0.0057
Concentración de metales bioacumulados en raíces (mg kg ⁻¹)		As	1.00000	0.80611 0.0995	-0.25276 0.6816	0.59614 0.2887
	Cd	0.80611 0.0995	1.00000	-0.03894 0.9504	0.08362 0.8937	0.40784 0.4955
	Fe	-0.25276 0.6816	-0.03894 0.9504	1.00000	-0.37213 0.5374	0.68547 0.2015
	Pb	0.59614 0.2887	0.08362 0.8937	-0.37213 0.5374	1.00000	-0.57122 0.3145
	Zn	0.10953 0.8608	0.40784 0.4955	0.68547 0.2015	-0.57122 0.3145	1.00000

Cortes transversales en hojas (μm)	Grosor cutícula	-0.62830 0.2563	-0.58269 0.3025	-0.39876 0.5061	-0.03798 0.9516	-0.77861 0.1208
	Área haces vasculares	-0.57522 0.3103	-0.93204 0.0211	-0.15888 0.7986	0.27308 0.6567	-0.65172 0.2334
Cortes longitudinales en hojas (μm)	Longitud de los vasos	0.39883 0.5060	0.15344 0.8054	0.19855 0.7489	0.75167 0.1429	-0.30249 0.6208
Cortes transversales en tallos (μm)	Diámetro tangencial vaso	-0.66193 0.2236	-0.16211 0.7945	0.64969 0.2354	-0.93361 0.0203	0.60541 0.2793
	Diámetro tangencial vaso	-0.76722 0.1300	-0.33871 0.5771	0.71562 0.1741	-0.83565 0.0780	0.48604 0.4065
	Área interior vasos	-0.82751 0.0837	-0.42980 0.4701	0.67224 0.2138	-0.82178 0.0879	0.41525 0.4869
	Longitud de los vasos	-0.59693 0.2879	-0.38855 0.5180	0.56231 0.3238	-0.77439 0.1242	0.64909 0.2360
Cortes transversales en raíces (μm)	Diámetro tangencial vaso	-0.75209 0.1425	-0.54152 0.3459	-0.14740 0.8130	-0.28072 0.6473	-0.55894 0.3274
	Diámetro tangencial vaso	-0.84999 0.0682	-0.66634 0.2194	0.44333 0.4546	-0.33057 0.5869	-0.20059 0.7463
	Área interior vasos	-0.79464 0.1082	-0.70097 0.1872	0.16884 0.7861	-0.14201 0.8198	-0.48699 0.4054
	Longitud de los vasos	-0.76728 0.1300	-0.44264 0.4554	0.07804 0.9007	-0.41738 0.4844	-0.35498 0.5577
pH suelo rizosférico (pH)		0.73297 0.1588	0.54816 0.3388	-0.64817 0.2368	0.71366 0.1758	-0.52290 0.3659

Tabla A. 34. Valores del análisis de correlación para la cuantificación de pigmentos fotosintéticos

		Clorofila a (Cl a)	Clorofila b (Cl b)	Clorofila total (Cl a + Cl b)	Relación Cl_a/Cl_b
Cuantificación pigmentos fotosintéticos ($\mu\text{g g}^{-1}$)	Clorofila a	1.0000	0.94728	0.99515	-0.53237
			0.0144	0.0004	0.3557
	Clorofila b	0.94728	1.00000	0.97400	-0.77271
		0.0144		0.0050	0.1256
	Clorofila total	0.99515	0.97400	1.00000	-0.61133
	0.0004	0.0050		0.2733	
	Relación Cl_a/Cl_b	-0.53237	-0.77271	-0.61133	1.0000
		0.3557	0.1256	0.2733	
Concentración total de metales en el suelo rizosférico (mg kg^{-1})	As	-0.54013	-0.45565	-0.52472	0.21526
		0.3474	0.4406	0.3640	0.7281
	Cd	-0.43735	-0.34531	-0.42147	0.10065
		0.4614	0.5692	0.4797	0.8721
	Fe	-0.29747	-0.22639	-0.28620	0.07575
		0.6269	0.7142	0.6406	0.9036
	Pb	-0.55482	-0.44819	-0.53538	0.13381
		0.3317	0.4491	0.3525	0.8301
	Zn	-0.22080	-0.19423	-0.22563	0.07897
		0.7212	0.7543	0.7152	0.8996
Concentración fitoaccesible en el suelo rizosférico (mg kg^{-1})	As	0.20120	0.22879	0.21652	-0.29795
		0.7456	0.7113	0.7265	0.6263
	Cd	0.38420	0.50426	0.41674	-0.55961
		0.5231	0.3863	0.4852	0.3267
	Fe	0.23334	0.10757	0.19068	0.23113
		0.7056	0.8633	0.7587	0.7084
	Pb	-0.20190	-0.17294	-0.20614	0.02328
		0.7447	0.7809	0.7394	0.9704
	Zn	-0.13275	0.09870	0.07140	0.53275
		0.8315	0.8745	0.9092	0.3553

Concentración de metales bioacumulados en hojas (mg kg⁻¹)	As	-0.65690 0.2284	-0.74427 0.1491	-0.68467 0.2022	0.72361 0.1670
	Cd	0.18694 0.7634	0.33745 0.5786	0.22759 0.7127	-0.47697 0.4166
	Fe	-0.64701 0.2380	-0.75507 0.1400	-0.68208 0.2046	0.77852 0.1209
	Pb	-0.65392 0.2313	-0.72012 0.1701	-0.67648 0.2098	0.68631 0.2007
	Zn	0.13793 0.8249	0.14651 0.8141	0.14169 0.8202	0.00077 0.9990
	Concentración de metales bioacumulados en tallos (mg kg⁻¹)	As	0.33623 0.5801	0.05813 0.9260	0.25212 0.6824
Cd		0.68335 0.2034	0.68084 0.2058	0.68561 0.2013	-0.39452 0.5110
Fe		0.15889 0.7986	0.06130 0.9220	0.13658 0.8266	0.06997 0.9110
Pb		0.67051 0.2155	0.63673 0.2480	0.67077 0.2152	-0.43431 0.4649
Zn		0.71458 0.1750	0.60215 0.2826	0.68486 0.2020	-0.12562 0.8405
Concentración de metales bioacumulados en raíces (mg kg⁻¹)		As	-0.27954 0.6488	-0.14256 0.8191	-0.25064 0.6843
	Cd	0.20593 0.7397	0.39130 0.5148	0.25708 0.6763	-0.60653 0.2781
	Fe	0.78461 0.1160	0.55683 0.3296	0.72158 0.1688	0.06619 0.9158
	Pb	-0.54673 0.3403	-0.49716 0.3941	-0.54350 0.3438	0.14408 0.8172
	Zn	0.52942 0.3589	0.40626 0.4973	0.49364 0.3980	0.03858 0.9509

Cortes transversales en hojas (µm)	Grosor cutícula	-0.07534	0.01284	-0.04021	-0.21497
		0.9042	0.9836	0.9488	0.7284
	Área haces vasculares	-0.41120	-0.54946	-0.45209	0.58855
		0.4916	0.3374	0.4446	0.2965
Cortes longitudinales en hojas (µm)	Longitud de los vasos	0.13348	0.12794	0.12721	-0.18886
		0.8306	0.8376	0.8385	0.7610
Cortes transversales en tallos (µm)	Diámetro tangencial vaso	0.75495	0.63813	0.73264	-0.13715
		0.1401	0.2466	0.1591	0.8259
	Diámetro tangencial vaso	0.76074	0.60149	0.72607	-0.05291
		0.1353	0.2832	0.1649	0.9327
	Área interior vasos	0.70231	0.53600	0.66562	0.00306
		0.1860	0.3518	0.2201	0.9961
Cortes longitudinales en tallos (µm)	Longitud de los vasos	0.29994	0.07268	0.23772	0.47420
		0.6239	0.9075	0.7002	0.4197
Cortes transversales en raíces (µm)	Diámetro tangencial vaso	0.22238	0.28220	0.25259	-0.32861
		0.7192	0.6455	0.6818	0.5893
	Diámetro tangencial vaso	0.52966	0.40544	0.50478	-0.06695
		0.3586	0.4983	0.3857	0.9148
	Área interior vasos	0.32172	0.26032	0.31437	-0.10751
		0.5976	0.6723	0.6064	0.8634
Cortes longitudinales en raíces (µm)	Longitud de los vasos	0.46773	0.50538	0.49316	-0.43053
		0.4270	0.3851	0.3986	0.4693
pH suelo rizosférico (pH)		-0.38013	-0.12352	-0.31074	-0.47229
		0.5279	0.8431	0.6108	0.4218

Tabla A. 35. Valores del análisis de correlación para los cortes histológicos en las hojas de las especies vegetales bajo estudio

		Cortes transversales		Cortes longitudinales
		Grosor cutícula	Área haces vasculares	Longitud de los vasos
Cuantificación pigmentos fotosintéticos ($\mu\text{g g}^{-1}$)	Clorofila a	-0.07534	-0.41120	0.13348
		0.9042	0.4916	0.8306
	Clorofila b	0.01284	-0.54946	0.12794
		0.9836	0.3374	0.8376
	Clorofila total	-0.04021	-0.45209	0.12721
		0.9488	0.4446	0.8385
	Relación Cl_a/Cl_b	-0.21497	0.58855	-0.18886
		0.7284	0.2965	0.7610
Concentración total de metales en el suelo rizosférico (mg kg^{-1})	As	-0.59669	-0.46811	-0.45844
		0.2881	0.4265	0.4374
	Cd	-0.73855	-0.59150	-0.17154
		0.1540	0.2935	0.7827
	Fe	-0.80191	-0.67990	-0.25783
		0.1026	0.2066	0.6754
	Pb	-0.65395	-0.49558	-0.14849
		0.2313	0.3959	0.8116
	Zn	-0.86671	-0.56761	0.28723
		0.0572	0.3182	0.6394

Concentración fitoaccesible en el suelo rizosférico (mg kg⁻¹)	As	0.80174 0.1028	0.56013 0.3261	0.52138 0.3676
	Cd	-0.68257 0.2042	-0.94002 0.0175	0.22793 0.7123
	Fe	-0.95283 0.0122	-0.60985 0.2748	-0.16915 0.7857
	Pb	-0.73935 0.1533	-0.43243 0.4671	0.55793 0.3284
	Zn	-0.39844 0.5065	-0.68826 0.1989	0.33876 0.5771
	Concentración de metales bioacumulados en hojas (mg kg⁻¹)	As	0.25104 0.6838	0.58577 0.2994
Cd		-0.69021 0.1971	-0.96589 0.0075	-0.04000 0.9491
Fe		0.10656 0.8646	0.51110 0.3788	-0.68205 0.2046
Pb		0.07290 0.9073	0.38072 0.5272	-0.76543 0.1315
Zn		-0.52500 0.3637	-0.64057 0.2443	-0.77750 0.1217
Concentración de metales bioacumulados en tallos (mg kg⁻¹)		As	-0.66018 0.2253	-0.09127 0.8839
	Cd	-0.66410 0.2215	-0.87785 0.0500	-0.16385 0.7923
	Fe	0.73610 0.1561	0.78158 0.1184	0.39635 0.5089
	Pb	0.52207 0.3669	0.24399 0.6925	0.50906 0.3810
	Zn	-0.66293 0.2227	-0.66055 0.2249	-0.21524 0.7281

Concentración de metales bioacumulados en raíces (mg kg⁻¹)	As	-0.62830 0.2563	-0.57522 0.3103	0.39883 0.5060	
	Cd	-0.58269 0.3025	-0.93204 0.0211	0.15344 0.8054	
	Fe	-0.39876 0.5061	-0.15888 0.7986	0.19855 0.7489	
	Pb	-0.03798 0.9516	0.27308 0.6567	0.75167 0.1429	
	Zn	0.77861 0.1208	-0.65172 0.2334	-0.30249 0.6208	
	Cortes transversales en hojas (µm)	Grosor cutícula	1.00000	0.61117 0.2734	-0.04247 0.9459
		Área haces vasculares	0.61117 0.2734	1.00000	0.10161 0.8709
Cortes longitudinales en hojas (µm)	Longitud de los vasos	-0.04247 0.9459	0.101161 0.8709	1.00000	
Cortes transversales en tallos (µm)	Diámetro tangencial vaso	0.02308 0.9706	-0.19073 0.7586	-0.49160 0.4003	
	Diámetro tangencial vaso	0.13030 0.8346	0.00986 0.9874	-0.34793 0.5661	
	Área interior vasos	0.20097 0.7458	0.10517 0.8663	-0.36847 0.5417	
	Longitud de los vasos	-0.22273 0.7188	0.05724 0.9272	-0.64376 0.2411	
Cortes transversales en raíces (µm)	Diámetro tangencial vaso	0.95018 0.0132	0.47759 0.4159	-0.09691 0.8768	
	Diámetro tangencial vaso	0.64114 0.2437	0.52953 0.3588	0.11037 0.8598	
	Área interior vasos	0.82649 0.0845	0.64947 0.2356	0.17149 0.7827	

Cortes longitudinales en raíces (μm)	Longitud de los vasos	0.83882	0.32336	-0.07258
		0.0758	0.5956	0.9077
pH suelo rizosférico		0.06735	-0.23229	0.48639
(pH)		0.9143	0.7069	0.4061

Tabla A. 36. Valores del análisis de correlación para los cortes histológicos en los tallos de las especies vegetales bajo estudio

		Cortes transversales			Cortes longitudinales
		Diámetro tangencial vaso	Diámetro radial vaso	Área interior vasos	Longitud de los vasos
Cuantificación pigmentos fotosintéticos ($\mu\text{g g}^{-1}$)	Clorofila a	0.75495	0.76074	0.70231	0.29994
		0.1401	0.1353	0.1860	0.6239
	Clorofila b	0.63813	0.60149	0.53600	0.07268
		0.2466	0.2832	0.3518	0.9075
	Clorofila total	0.73264	0.72607	0.66562	0.23772
		0.1591	0.1649	0.2201	0.7002
	Relación Cl_a/Cl_b	-0.13715	-0.05291	0.00306	0.47420
		0.8259	0.9327	0.9961	0.4197
Concentración total de metales en el suelo rizosférico (mg kg^{-1})	As	-0.30936	-0.50295	-0.52785	0.02865
		0.6125	0.3878	0.3606	0.9635
	Cd	-0.42385	-0.60384	-0.65040	-0.14914
		0.4770	0.2809	0.2347	0.8108
	Fe	-0.25100	-0.44712	-0.50280	-0.00413
		0.6838	0.4503	0.3879	0.9947
	Pb	-0.53274	-0.70004	-0.73543	-0.23222
		0.3553	0.1881	0.1567	0.7070
	Zn	-0.48607	-0.58809	-0.65173	-0.26847
		0.4064	0.2970	0.2334	0.6623

Concentración fitoaccesible en el suelo rizosférico (mg kg⁻¹)	As	-0.06740 0.9142	0.11803 0.8501	0.16057 0.7964	-0.40409 0.4999
	Cd	-0.02175 0.9723	-0.17303 0.7808	-0.27280 0.6570	-0.25353 0.6807
	Fe	0.26798 0.6629	0.15170 0.8076	0.08369 0.8936	0.48731 0.4051
	Pb	0.61777 0.2668	-0.66036 0.2251	-0.71803 0.1719	-0.46292 0.4324
	Zn	-0.55843 0.3279	-0.69211 0.1953	-0.75764 0.1379	-0.71554 0.1741
	Concentración de metales bioacumulados en hojas (mg kg⁻¹)	As	-0.02033 0.9741	-0.01331 0.9831	0.06713 0.9146
Cd		-0.04638 0.9410	-0.24989 0.6852	-0.34080 0.5746	-0.18378 0.7673
Fe		-0.00395 0.9950	-0.01156 0.9853	0.06028 0.9233	0.50187 0.3889
Pb		0.00023 0.9997	-0.04790 0.9390	0.01560 0.9801	0.47571 0.4180
Zn		0.49773 0.3935	0.28735 0.6392	0.24341 0.6932	0.59055 0.2944
Concentración de metales bioacumulados en tallos (mg kg⁻¹)		As	0.49435 0.3972	0.51040 0.3796	0.48437 0.4083
	Cd	0.55832 0.3280	0.40787 0.4955	0.31584 0.6046	0.34817 0.5658
	Fe	0.07119 0.9094	0.29653 0.6281	0.35817 0.5539	-0.07462 0.9051
	Pb	0.33036 0.5872	0.48814 0.4041	0.49043 0.4016	-0.12457 0.8418
	Zn	0.70764 0.1812	0.60832 0.2763	0.53312 0.3549	0.61305 0.2715

Concentración de metales bioacumulados en raíces (mg kg ⁻¹)	As	-0.66193	-0.76722	-0.82751	-0.59693
		0.2236	0.1300	0.0837	0.2879
	Cd	-0.16211	-0.33871	-0.42980	-0.38855
		0.7945	0.5771	0.4701	0.5180
	Fe	0.64969	0.71562	0.67224	0.56231
		0.2354	0.1741	0.2138	0.3238
	Pb	-0.93361	-0.83565	-0.82178	-0.77439
		0.0203	0.0780	0.0879	0.1242
	Zn	0.60541	0.48604	0.41525	0.64909
		0.2793	0.4065	0.4869	0.2360
Cortes transversales en hojas (µm)	Grosor cutícula	0.02308	0.13030	0.20097	-0.22273
		0.9706	0.8346	0.7458	0.7188
	Área haces vasculares	-0.19073	0.00986	0.10517	0.05724
		0.7586	0.9874	0.8663	0.9272
Cortes longitudinales en hojas (µm)	Longitud de los vasos	-0.49160	-0.34793	-0.36847	-0.64376
		0.4003	0.5661	0.5417	0.2411
Cortes transversales en tallos (µm)	Diámetro tangencial vaso	1.00000	0.96414	0.95009	0.78821
			0.0065	0.0133	0.1132
	Diámetro tangencial vaso	0.96414	1.00000	0.99474	0.76929
		0.0065		0.0005	0.1283
	Área interior vasos	0.95009	0.99474	1.00000	0.77738
		0.0133	0.0005	0.1218	
Cortes longitudinales en tallos (µm)	Longitud de los vasos	0.78821	0.76929	0.77738	1.00000
		0.1132	0.1283	0.1218	
Cortes transversales en raíces (µm)	Diámetro tangencial vaso	0.31124	0.40842	0.46253	0.04111
		0.6102	0.4948	0.4328	0.9477
	Diámetro tangencial vaso	0.54864	0.71845	0.75760	0.28755
		0.3383	0.1716	0.1379	0.6390
	Área interior vasos	0.31702	0.49795	0.55344	0.05026
		0.6032	0.3933	0.3332	0.9360

Cortes longitudinales en raíces (μm)	Longitud de los vasos	0.49700	0.58455	0.61848	0.06817
		0.3943	0.3006	0.2661	0.9213
pH suelo rizosférico (pH)		-0.80397	-0.84708	-0.86609	-0.96377
		0.1011	0.0701	0.0576	0.0082

Tabla A. 37. Valores del análisis de correlación para los cortes histológicos en las raíces de las especies vegetales bajo estudio

		Cortes transversales			Cortes longitudinales
		Diámetro tangencial vaso	Diámetro radial vaso	Área interior vasos	Longitud de los vasos
Cuantificación pigmentos fotosintéticos ($\mu\text{g g}^{-1}$)	Clorofila a	0.22238	0.52966	0.32172	0.46773
		0.7192	0.3586	0.5976	0.4270
	Clorofila b	0.28220	0.40544	0.26032	0.50538
		0.6455	0.4983	0.6723	0.3851
	Clorofila total	0.25259	0.50478	0.31437	0.49316
		0.6818	0.3857	0.6064	0.3986
	Relación Cl_a/Cl_b	-0.32861	-0.06695	-0.10751	-0.43053
		0.5893	0.9148	0.8634	0.4693
Concentración total de metales en el suelo rizosférico (mg kg^{-1})	As	-0.71211	-0.92879	-0.92104	-0.78188
		0.1772	0.0226	0.0263	0.1182
	Cd	-0.84814	-0.98669	-0.98834	-0.88363
		0.0694	0.0018	0.0015	0.0468
	Fe	-0.85716	-0.94153	-0.99491	-0.85203
		0.0634	0.0168	0.0004	0.0668
	Pb	-0.80477	-0.99734	-0.95697	-0.87666
		0.1005	0.0002	0.0106	0.0500
	Zn	-0.94522	-0.84675	-0.88952	-0.92146
		0.0153	0.0703	0.0433	0.0261

Concentración fitoaccesible en el suelo rizosférico (mg kg⁻¹)	As	0.79210 0.1102	0.75263 0.1421	0.88744 0.0446	0.75954 0.1363	
	Cd	-0.58551 0.2996	-0.54931 0.3376	-0.65010 0.2350	-0.43470 0.4645	
	Fe	-0.83177 0.0807	-0.47782 0.4156	-0.72106 0.1693	-0.68401 0.2028	
	Pb	-0.84126 0.0741	-0.71730 0.1726	-0.71920 0.1709	-0.82796 0.0834	
	Zn	-0.48674 0.4057	-0.74437 0.1491	-0.65346 0.2317	-0.48872 0.4035	
	Concentración de metales bioacumulados en hojas (mg kg⁻¹)	As	0.11944 0.8483	-0.02529 0.9678	0.03773 0.9520	-0.05201 0.9338
		Cd	-0.63017 0.2545	-0.72163 0.1688	-0.79963 0.1044	-0.52315 0.3657
Fe		-0.01509 0.9808	-0.10717 0.8638	-0.07600 0.9033	-0.17031 0.7842	
Pb		-0.04643 0.9409	-0.21181 0.7323	-0.17570 0.7775	-0.19979 0.7473	
Zn		-0.39756 0.5075	-0.43231 0.4672	-0.60258 0.2821	-0.30704 0.6153	
Concentración de metales bioacumulados en tallos (mg kg⁻¹)		As	-0.50241 0.3884	0.06334 0.9194	-0.21344 0.7303	-0.35551 0.5571
		Cd	-0.42613 0.4743	-0.21482 0.7286	-0.45432 0.4421	-0.19924 0.7480
	Fe	0.74013 0.1527	0.87090 0.0546	0.94407 0.0157	0.70671 0.1821	
	Pb	0.66853 0.2173	0.85380 0.0656	0.83530 0.0782	0.77512 0.1236	
	Zn	-0.39913 0.5056	-0.02443 0.9689	-0.31720 0.6030	-0.16276 0.7937	

Concentración de metales bioacumulados en raíces (mg kg ⁻¹)	As	-0.75209 0.1425	-0.84999 0.0682	-0.79464 0.1082	-0.76728 0.1300	
	Cd	-0.54152 0.3459	-0.66634 0.2194	-0.70097 0.1872	-0.44264 0.4554	
	Fe	-0.14740 0.8130	0.44333 0.4546	0.16884 0.7861	0.07804 0.9007	
	Pb	-0.28072 0.6473	-0.33057 0.5869	-0.14201 0.8198	-0.41738 0.4844	
	Zn	-0.55894 0.3274	-0.20059 0.7463	-0.48699 0.4054	-0.35498 0.5577	
	Cortes transversales en hojas (µm)	Grosor cutícula	0.95018 0.0132	0.64114 0.2437	0.82649 0.0845	0.83882 0.0758
Área haces vasculares		0.47759 0.4159	0.52953 0.3588	0.64947 0.2356	0.32336 0.5956	
Cortes longitudinales en hojas (µm)		Longitud de los vasos	-0.09691 0.8768	0.11037 0.8598	0.17149 0.7827	-0.07258 0.9077
			Cortes transversales en tallos (µm)	Diámetro tangencial vaso	0.31124 0.6102	0.54864 0.3383
Diámetro tangencial vaso	0.40842 0.4948	0.71845 0.1716		0.49795 0.3933	0.58455 0.3006	
Área interior vasos	0.46253 0.4328	0.75760 0.1379		0.55344 0.3332	0.61848 0.2661	
Cortes longitudinales en tallos (µm)	Longitud de los vasos	0.04111 0.9477		0.28755 0.6390	0.05026 0.9360	0.06817 0.9213
		Cortes transversales en raíces (µm)	Diámetro tangencial vaso	1.00000 0.79011	0.79011 1.0000	0.89588 0.0397
Diámetro tangencial vaso	0.79011 0.1117		1.0000 0.1117	0.95216 0.0125	0.85786 0.0629	
Área interior vasos	0.89588 0.0397		0.95216 0.0125	1.00000 0.0125	-0.51388 0.3758	

Cortes longitudinales en raíces (μm)	Longitud de los vasos	0.96549	0.85786	0.89514	1.00000
		0.0077	0.0629	0.0401	
pH suelo rizosférico (pH)		-0.12307	-0.51388	-0.28676	-0.22942
		0.8437	0.3758	0.6400	0.7105

Tabla A. 38. Valores del análisis de correlación para el pH del suelo rizosférico

		pH suelo rizosférico (pH)
Cuantificación pigmentos fotosintéticos ($\mu\text{g g}^{-1}$)	Clorofila a	-0.38013
		0.5279
	Clorofila b	-0.12352
		0.8431
	Clorofila total	-0.31074
		0.6108
	Relación Cl_a/Cl_b	-0.47229
		0.4218
Concentración total de metales en el suelo rizosférico (mg kg^{-1})	As	0.22734
		0.7131
	Cd	0.38660
		0.5203
	Fe	0.25190
		0.6827
	Pb	0.46117
		0.4344
	Zn	0.42155
		0.4796
Concentración fitoaccesible en el suelo rizosférico (mg kg^{-1})	As	0.16091
		0.7960
	Cd	0.38531
		0.5218
	Fe	-0.33220
		0.5849
	Pb	0.54780
		0.3392
	Zn	0.84573
		0.0710

Concentración de metales bioacumulados en hojas (mg kg⁻¹)	As	-0.38609 0.5209
	Cd	0.8206 0.5257
	Fe	-0.42710 0.4732
	Pb	-0.36342 0.5477
	Zn	-0.36623 0.5444
	Concentración de metales bioacumulados en tallos (mg kg⁻¹)	As
Cd		-0.22517 0.7157
Fe		-0.18515 0.7656
Pb		-0.11017 0.8600
Zn		-0.52928 0.3590
Concentración de metales bioacumulados en raíces (mg kg⁻¹)		As
	Cd	0.54816 0.3388
	Fe	-0.64817 0.2368
	Pb	0.71366 0.1758
	Zn	-0.52290 0.3659

Cortes transversales en hojas (μm)	Grosor cutícula	0.06735
	Área haces vasculares	0.9143 -0.23229 0.7069
Cortes longitudinales en hojas (μm)	Longitud de los vasos	0.48639 0.4061
Cortes transversales en tallos (μm)	Diámetro tangencial vaso	-0.80397 0.1011
	Diámetro tangencial vaso	-0.84708 0.0701
	Área interior vasos	-0.86609 0.0576
Cortes longitudinales en tallos (μm)	Longitud de los vasos	-0.96377 0.0082
Cortes transversales en raíces (μm)	Diámetro tangencial vaso	-0.12307 0.8437
	Diámetro tangencial vaso	-0.51388 0.3758
	Área interior vasos	-0.28676 0.6400
Cortes longitudinales en raíces (μm)	Longitud de los vasos	-0.22942 0.7105
pH suelo rizosférico (pH)		1.0000

Anexo IV. Variaciones anatómicas en *Asphodelus fistulosus* y *Nama* sp.

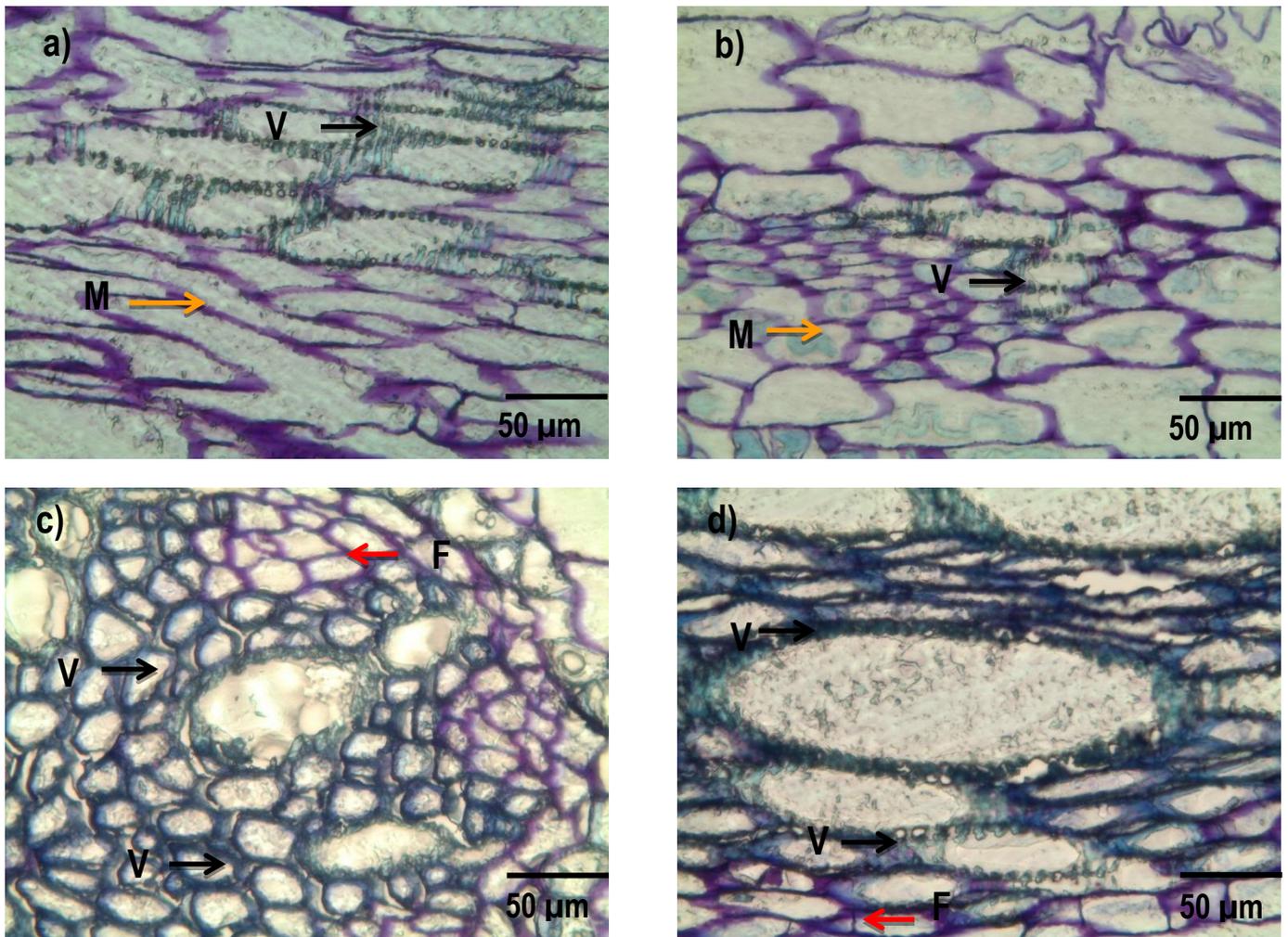


Figura A. 1. Variaciones anatómicas en *Asphodelus fistulosus*. para los puntos de muestreo P₂ y P₄; Floema (flecha roja); Mesófilo (flecha naranja) y Vasos (flecha negra). (a) Corte longitudinal en hoja para P₂; (b) Corte longitudinal en hoja para P₄; (c) Corte transversal en raíz para P₂ y (d) Corte transversal en raíz para P₄

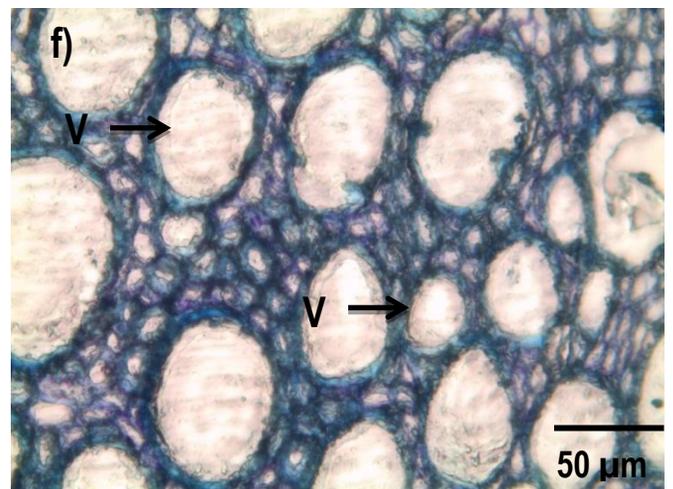
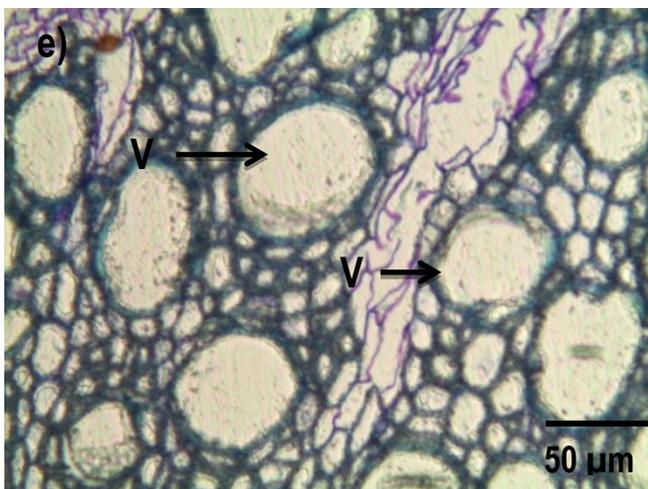
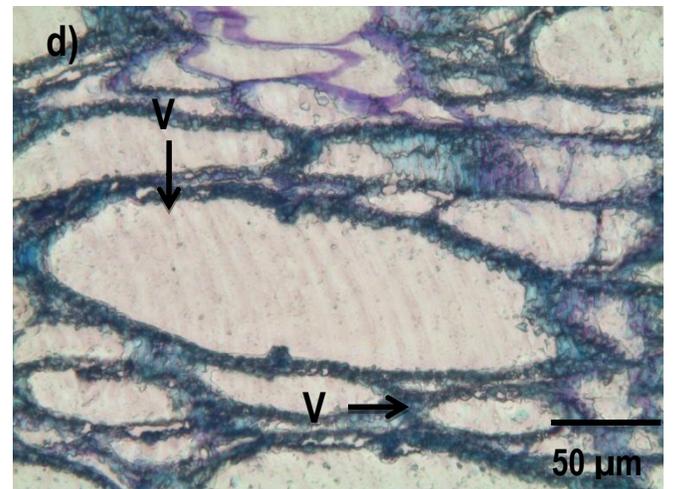
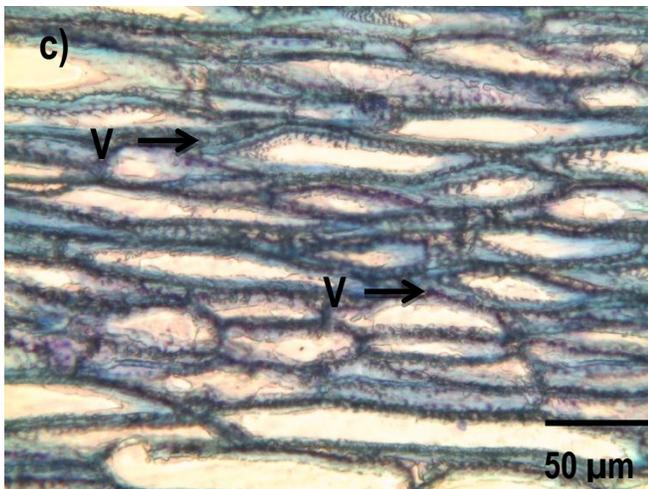
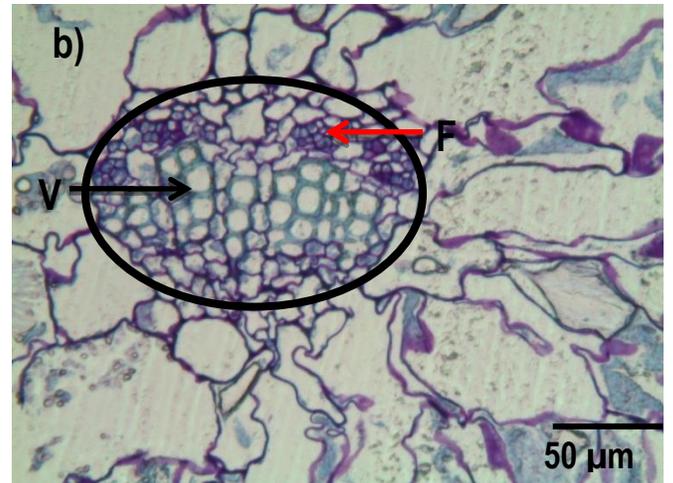


Figura A. 2. Variaciones anatómicas en *Nama* sp. para los puntos de muestreo P₅ y P₉; Floema (flecha roja); Haz vascular (elipse) y Vasos (flecha negra). (a) Corte transversal en hoja para P₅; (b) Corte transversal en hoja para P₉; (c) Corte longitudinal en tallo para P₅; (d) Corte longitudinal en tallo para P₉; (e) Corte transversal en raíz para P₅ y (f) Corte transversal en raíz para P₉