



universidad  
de león



**FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS Y AMBIENTALES**

**LÍQUENES COMO  
BIOACUMULADORES DE METALES  
PESADOS  
LICHENS AS HEAVY METALS  
BIOACUMULATORS**

Andrea González Rueda

**GRADO EN BIOLOGÍA**

**Septiembre, 2021**

## ÍNDICE

1. INTRODUCCIÓN.....	1
1.1. Líquenes .....	2
1.1.1. Tipos de líquenes.....	3
1.2. Componentes de la simbiosis liquénica.....	4
1.2.1. Tipo de asociación.....	4
1.3. Bioacumulación.....	5
1.4. Briofitos.....	6
1.5. Metales pesados.....	7
2. OBJETIVOS.....	10
3. MATERIALES Y MÉTODOS .....	11
4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	11
4.1. Líquenes como bioacumuladores .....	11
4.1.1. Principales metales pesados acumulados .....	13
4.1.2. Factores que afectan a la bioacumulación .....	14
4.1.3. Bioacumulación de metales pesados .....	15
4.2. Bioacumulación de metales pesados en briofitas .....	18
4.3. Comparación entre líquenes y briofitas.....	19
5. CONCLUSIONES.....	23
6. REFERENCIAS .....	24

## RESUMEN

Este trabajo de fin de grado se centra en el estudio de algunas de las generalidades más relevantes de los líquenes, ya que al ser organismos muy dependientes de la atmósfera y del sustrato para la adquisición de compuestos esenciales y no esenciales, van a llevar a cabo un proceso denominado bioacumulación. Por ello, el objetivo de este trabajo es el estudio de las formas que tienen los líquenes de acumular ciertos compuestos no esenciales, como los metales pesados. Además, también se mencionan los mecanismos de resistencia que han desarrollado estos organismos, para combatir los efectos que producen las altas concentraciones de metales pesados. Por otro lado, se realiza una comparación de las diferentes formas de acumular los metales pesados que realizan los líquenes y las briofitas, que corresponden con dos grupos biológicos que presentan características en común. Todo ello, es llevado a cabo mediante la búsqueda en algunas de las bases de datos más conocidas de artículos científicos publicados en la última década. Una vez que se han realizado los objetivos marcados, se puede concluir que los líquenes no son los únicos organismos capaces de acumular metales pesados eficientemente y que los mecanismos que utilizan para llevarlo a cabo son muy similares en las briofitas.

**Palabras clave:** Bioacumulación, briofitas, líquenes, metales pesados, resistencia.

## ABSTRACT

This final degree project focuses on the study of some of the most relevant generalities of lichens, since being organisms very dependent on the atmosphere and the substrate for the acquisition of essential and non-essential compounds, they will carry out a process called bioaccumulation. Therefore, the objective of this work is the study of the ways that lichens accumulate certain non-essential compounds, such as heavy metals. In addition, the resistance mechanisms that these organisms have developed are also mentioned, to combat the effects produced by high concentrations of heavy metals. On the other hand, a comparison is made of the different ways of accumulating heavy metals made by lichens and bryophytes, which correspond to two biological groups that have characteristics in common. All this is carried out by searching some of the best-known databases of scientific articles published in the last decade. Once the objectives set have been realized, it can be concluded that lichens are not the only organisms capable of accumulating heavy metals efficiently and that the mechanisms they use to carry it out are very similar in bryophytes.

**Key words:** Bioaccumulation, bryophytes, lichens, heavy metals, resistance.

## 1. INTRODUCCIÓN

En la actualidad, se ha producido una gran expansión del sector industrial como consecuencia del aumento en la demanda de productos derivados de este ámbito. Esto ha supuesto una liberación masiva al medio ambiente de productos químicos tóxicos generados por las industrias y que ha resultado altamente perjudicial para los ecosistema, como consecuencia de su lenta biodegradación. A estos compuestos químicos liberados se les denomina contaminantes, siendo los más comunes y los que más problemas están generando en el medio ambiente: el dióxido de carbono, dióxido de azufre, ácidos nítricos, ácidos sulfúricos, el ozono y los metales pesados (Aryal *et al.*, 2020).

Todo ello está contribuyendo a agravar uno de los problemas ambientales más extendidos en el mundo, como es el cambio climático. La liberación masiva de contaminantes a la atmósfera resulta muy perjudicial para la calidad del aire y, además, produce alteraciones en el entorno que repercuten directamente sobre los seres vivos. Para poder solventar estos problemas, se ha comenzado a introducir el uso de técnicas de biomonitoreo, que tienen como finalidad la localización de diferentes zonas geográficas que puedan estar contaminadas, mediante el uso de organismos vivos (Ministerio de agricultura, alimentación y medio ambiente., 2014). Algunos de los organismos que más beneficios están aportando en estas técnicas de biomonitoreo son las briofitas y los líquenes, al presentar ciertas características morfológicas y fisiológicas que hacen que necesiten adquirir agua y nutrientes de la atmósfera o del sustrato en el que habiten (Paoli *et al.*, 2019). Todo ello hace que estos organismos acumulen indirectamente otros compuestos no esenciales, por ello son considerados grupos bioacumuladores al presentar la capacidad de almacenar grandes cantidades de compuestos, incluidos aquellos que pueden resultar tóxicos en grandes concentraciones para muchos grupos biológicos, como los metales pesados (Nash, 2008; Chen *et al.*, 2015; Bargagli, 2016).

Como consecuencia del aumento en la emisión de metales pesados al medio, han aumentado los estudios centrados en la bioacumulación de estos compuestos en briofitas y líquenes, ya que muchas especies pertenecientes a estos grupos son capaces de actuar como recolectores a largo plazo de metales pesados sin llegar a presentar, en muchos casos, daños aparentes en sus estructuras, propiedades y sin verse alterada su distribución (Nash, 2008; Chen *et al.*, 2015; Ochoa-Jiménez *et al.*, 2015; Bargagli, 2016).

## 1.1. Líquenes

Los líquenes se corresponden con asociaciones simbióticas que se establecen entre un hongo, denominado micobionte y un simbiote fotosintético, denominado fotobionte, que generalmente corresponde a un alga verde, pero también pueden aparecer cianobacterias (Nabors, 2006; Rodríguez, 2006; Nash, 2008). Además, recientemente se ha observado que, en algunos casos, puede aparecer una levadura como tercer miembro (Lagarde *et al.*, 2018).

Con la asociación de estos componentes se origina un talo estable con una estructura y fisiología específica, que no están presentes en los hongos y algas de vida libre (Nabors, 2006; Nash, 2008), por lo tanto, son formas exclusivas presentes en la asociación. Cabe destacar, que el talo de los líquenes es un ambiente que puede ser ocupado por una gran variedad de organismos que buscan refugio como insectos, anfibios, moluscos... Por ello, los líquenes van a contribuir en gran medida a la biodiversidad del ecosistema (Nash, 2008; Martínez *et al.*, 2011). Además, también pueden habitar organismos exclusivos del talo liquénico, como hongos y bacterias endobiontes, si habitan en el interior del talo o epibiontes, si lo hacen en la superficie de este (Lagarde *et al.*, 2018).

Por otro lado, los líquenes pueden considerarse como organismos poiquilohídricos (Nash, 2008; Simijaca *et al.*, 2018) al carecer de mecanismos que regulen la captación y pérdida de agua y/o nutrientes, como cutículas cerosas gruesas, estomas, sistemas radiculares verdaderos u otras estructuras especializadas que realicen estas funciones (Bargagli, 2016). Por lo que, se puede decir que el estado hídrico de los líquenes varía pasivamente en función de las condiciones ambientales del entorno que habitan (Nash, 2008; Simijaca *et al.*, 2018). Como consecuencia de esta falta de mecanismos que regulen las funciones de captación y pérdida, los líquenes van a ser organismos muy dependientes de la disponibilidad de agua y nutrientes presentes en el entorno, ya sea en forma de deposiciones líquidas, como la lluvia y otras deposiciones como la niebla (Nash, 2008; Bargagli, 2016). Por otro lado, también son considerados ectohídricos al poder adquirir los nutrientes y agua necesarios de la atmósfera y del suelo a través de toda su superficie (Bačkor y Loppi, 2009; Simijaca *et al.*, 2018). Por ello se les considera uno de los organismos que más afectados se van a ver como consecuencia de las variaciones del entorno en el que habitan. Generalmente, estas perturbaciones son debidas a cambios ambientales o condiciones microclimáticas como son la temperatura, la luz y la humedad, además de por la presencia de contaminantes en la atmósfera (Łubek *et al.*, 2018; Simijaca *et al.*, 2018).

### 1.1.1. Tipos de líquenes

En general, la apariencia del líquen suele venir determinada por el componente micobionte y solo en algunos casos exclusivos, es el fotobionte el que determina la morfología de la asociación. Por ello se dice que las clasificaciones de los líquenes son muy variadas y dependen de los criterios que se hayan usado para establecer los diferentes tipos (Nash, 2008).

Por un lado, se pueden dividir a los líquenes en función del sustrato sobre el que se desarrollen, obteniéndose grupos capaces de crecer sobre las rocas, como son las formas saxícolas (Rodríguez, 2006; Nash, 2008; Ramzaev *et al.*, 2014). Dentro de este grupo se pueden distinguir formas cuyo desarrollo ocurre principalmente en la superficie de los sustratos rocosos, como son las formas epilíticas y grupos que pueden desarrollarse en el interior de las rocas, como son los líquenes endolíticos (Rodríguez, 2006). Además, existen líquenes capaces de desarrollarse sobre el suelo, son las denominadas formas epígeas o terrícolas (Ramzaev *et al.*, 2014; Nash, 2008) o sobre las estructuras de otras especies vegetales, siendo entonces formas epífitas dentro de las cuáles hay una gran variedad, como los líquenes folicolas que crecen en las hojas o los cortícolas, que se desarrollan en la corteza.

Por otro lado, se puede clasificar a los líquenes en función de la forma de crecimiento que presente el talo o estructura vegetativa de estos organismos. Siguiendo este criterio se obtiene una de las divisiones más clásicas de los líquenes, en la que se separa a estos simbioses en tres tipos: crustáceos, foliáceos y frutículosos (Nabors, 2006; Rodríguez, 2006; Nash, 2008). Los líquenes crustáceos se caracterizan por estar adheridos firmemente al sustrato y, por tanto, no van a poder ser separados sin destruirse. Este tipo de talo en función de la complejidad que presente se puede subdividir a su vez en talos pulverulentos, que presentan un talo carente de organización (Nabors, 2006; Nash, 2008); talos verrucosos y continuos, que presentan un talo más organizado (Rodríguez, 2006) o talos areolados, en los que el simbiote se organiza originando formas poligonales denominadas areolas (Nash, 2008). En segundo lugar, los talos foliáceos son aquellos que presentan forma de lámina u hoja, es decir, son planos y están fijados parcialmente al sustrato solo por unas zonas determinadas (Rodríguez, 2006; Nash, 2008). El último de los tipos de talos corresponde con los líquenes fruticosos, son aquellos que presentan una gran cantidad de ramificaciones y pocas zonas de contacto con el sustrato, ya que al crecer únicamente sobre un disco basal, suelen estar bastante separados de la superficie sobre la que se desarrollan (Nabors, 2006; Rodríguez, 2006; Nash, 2008).

## 1.2. Componentes de la simbiosis líquénica

La asociación líquénica está formada por un micobionte que principalmente corresponde a la división Ascomycota, donde aproximadamente el 50% de las especies fúngicas usan la liquenización para obtener los nutrientes necesarios para su desarrollo. En menor medida, el componente fúngico de la asociación pertenece a la división Basidiomycota como consecuencia de su escaso número de especies. El micobionte establece interacciones para obtener los nutrientes fotosintéticos producidos por el fotobionte, mediante el contacto entre las hifas del hongo y las células del alga (Rodríguez, 2006; Nash, 2008). Las interacciones suelen producirse por el enrollamiento de las hifas fúngicas alrededor del fotobionte o incluso, se pueden producir interacciones más agresivas en las que el hongo va a penetrar en el fotobionte mediante los haustorios, que son evaginaciones que sufre la pared fúngica y que permiten la transferencia de nutrientes, generalmente carbohidratos, desde el fotobionte hasta el hongo (Nash, 2008).

El segundo componente que forma parte de las asociaciones líquénicas es la parte fotobionte, que puede ser una cianobacteria denominada cianobionte, generalmente del género *Nostoc* y en menor medida *Scytonema* y *Gleocapsa* (Rodríguez, 2006). Todos estos géneros pueden encontrarse también en forma de vida libre (Nash, 2008). Muchos de los cianobiontes son capaces de fijar el nitrógeno atmosférico y permitir el flujo de este nutriente hacia el micobionte. Por otro lado, este componente de la asociación se puede denominar ficobionte cuando está formado por algas verdes, principalmente del género *Trebouxia*, que no suele estar presente como forma de vida libre (Rodríguez, 2006; Nash, 2008). Por el contrario, *Trentepoblia* puede asociarse con un micobionte para formar los líquenes, pero también puede encontrarse en forma de vida libre y que suelen habitar los mismos ambientes que sus formas liquenizadas (Nash, 2008).

### 1.2.1. Tipo de asociación

Hoy en día, sigue habiendo cierto debate sobre las características de la asociación que forman los líquenes (Martínez *et al.*, 2011). Algunos autores afirman que la relación que se establece entre el micobionte y el fotobionte corresponde con un parasitismo del hongo sobre el alga, donde solo se vería beneficiado el hongo e incluso, la parte fotobionte se podría ver perjudicada al presentar un crecimiento más lento que en sus formas libres (Rodríguez, 2006; Nash, 2008). Pero la mayoría de los autores explican la asociación como un mutualismo, donde cada uno de los componentes que conforman los líquenes se van a ver beneficiados con la formación de la asociación (Rodríguez, 2006; Nash, 2008; Molnár y Farkas, 2010). Por un lado, el micobionte

va a obtener carbono orgánico, sobre todo carbohidratos, e incluso nitrógeno cuando se encuentra en asociación con una cianobacteria fijadora de N<sub>2</sub> (Nabors, 2006). Este flujo de nutrientes que se produce entre los componentes de la asociación se ve beneficiado por la presencia de paredes celulares más permeables a la pérdida de carbohidratos en el fotobionte (Nash, 2008). Por otro lado, las hifas fúngicas van a aportar al fotobionte una protección frente a la luz UV (Nabors, 2006; Nash, 2008), que puede resultar un agente inhibitorio del proceso fotosintético. Esta protección frente a este tipo de luz es realizada por el micobionte, al aumentar la opacidad de la capa superior del líquen con la finalidad de reducir la incidencia de la luz UV sobre el fotobionte. También, se ha observado que ciertos metabolitos secundarios ofrecen resistencia frente a la luz UV y pueden actuar como filtros, permitiendo a los líquenes vivir en ambientes con alta intensidad lumínica (Molnár y Farkas, 2010). Por otro lado, los beneficios que va a obtener el fotobionte con la simbiosis son por ejemplo, una mayor resistencia a intensidades de luz y temperaturas altas, un aumento de la humedad debido a la absorción de agua por parte del micobionte (Nash, 2008). Cabe destacar, que en algunos casos pueden aparecer en el mismo habitat, algas en forma de vida libre y en forma de líquen, por lo que no están muy claros los beneficios que aporta la asociación en estos casos (Nabors, 2006).

La asociación en su conjunto también va a obtener ciertos beneficios, como son la ampliación de su rango ecológico (Martínez *et al.*, 2011) es decir, la capacidad de habitar en ambientes extremos que resultan inhóspitos para muchas otras formas de vida. Algunos ejemplos de estos tipos de ambientes extremos, son los hábitats polares, desérticos, tropicales (Nabors, 2006; Rodríguez, 2006; Nash, 2008) e incluso zonas de alta montaña (Molnár y Farkas, 2010).

### 1.3. Bioacumulación

Aunque los líquenes sean organismos que presentan utilidades muy variadas dentro de diferentes ámbitos como son el médico, farmacéutico y estético, una de las cualidades más importantes es su capacidad de bioacumulación, que está directamente relacionada con la ausencia de cutículas gruesas y sistemas radiculares o foliáceos convencionales (Bargagli, 2016). Como consecuencia de estas características fisiológicas y morfológicas, los líquenes son considerados organismos capaces de acumular tanto compuestos esenciales como no esenciales, mediante un proceso denominado bioacumulación (Rola *et al.*, 2016). En este proceso va a intervenir toda la superficie del talo, por lo que se van a acumular compuestos presentes tanto en la atmósfera como en el sustrato sobre el que habitan (Rola *et al.*, 2016). Fundamentalmente, los compuestos no esenciales son radionucleidos, contaminantes orgánicos y principalmente los

metales pesados (Bargagli, 2016). El proceso de acumulación de los metales se va a producir mediante la interacción del metal con la superficie del organismo, por captación física de partículas o por procesos de intercambio iónico (Rola *et al.*, 2016). Además, este proceso va a depender de factores como son las características de la especie, la disponibilidad de los compuestos u otros parámetros como la temperatura, la humedad y las características del sustrato sobre el que se desarrollan (Conti y Cecchetti, 2001).

Una de las condiciones que determinan que los líquenes sean capaces de acumular metales pesados u otros tipos de contaminantes sin verse gravemente dañados, es la producción de metabolitos secundarios implicados en la tolerancia a la contaminación y el mantenimiento de la homeostasis de los metales (Molnár y Farkas, 2010). Los metabolitos secundarios son compuestos sintetizados por el micobionte y que son depositados en la superficie de las hifas fúngicas cuando el hongo se encuentra formando una asociación con un fotobionte (Nash, 2008). Todos los tipos de resistencia fisiológica que presenten ciertas especies de líquenes frente a los metales pesados, hace que sean considerados organismos tolerantes al estrés oxidativo generado por la acumulación de este compuesto (Rola *et al.*, 2016).

Cabe destacar, que la capacidad de bioacumulación de los metales pesados o de otros contaminantes no es exclusiva de determinadas especies de líquenes, sino que también puede llevarse a cabo por otros grupos biológicos como las briofitas. La división Bryophyta agrupa a los musgos, organismos capaces de acumular compuestos no esenciales presentes en la atmósfera o en el sustrato sobre el que habitan (Goffinet y Shaw, 2008; Chen *et al.*, 2015).

#### 1.4. Briofitos

Los briofitos representan uno de los grupos taxonómicos más amplio y que engloba a algunas de las plantas terrestres más antiguas, caracterizadas por presentar un rango ecológico muy diverso (He *et al.*, 2016; Chandra *et al.*, 2017; Mahapatra *et al.*, 2019). Por lo tanto, los briofitos se pueden definir como un grupo de plantas no vasculares, no productoras de lignina, que carecen de cutículas protectoras gruesas y de sistemas de transporte bien definidos, como el floema y el xilema. Por lo que se suele considerar que este grupo biológico no presenta raíces, tallo y hojas “verdaderos” (Bargagli, 2016; Budke *et al.*, 2018).

Atendiendo a la clasificación que se ha atribuido a los briofitos, este grupo está formado por tres divisiones: hepáticas (*Marchantiophyta*), antóceras (*Anthocerotophyta*) y musgos (*Bryophyta*) (Asakawa *et al.*, 2013). En el caso de las briofitas o musgos, esta división presenta

un cuerpo vegetativo organizado en caulidio o talos similares a los tallos que forman las plantas vasculares y que además, presentan estructuras que se asemejan a las hojas, pero que en estos organismos se denominan filidios (Budke *et al.*, 2018). Las raíces de las briofitas corresponden con rizoides filamentosos cuya función se limita al anclaje de las plantas al sustrato, ya que la absorción es realizada por cualquiera de las partes que se encuentren en contacto con los nutrientes y el agua presentes en la atmósfera o en el sustrato (Bargagli, 2016; Budke *et al.*, 2018).

Por otro lado, los musgos son organismos cuya distribución es amplia y diversa, aunque en general sus localizaciones más comunes son ambientes húmedos (Budke *et al.*, 2018; Mahapatra *et al.*, 2019; Xiao *et al.*, 2021), al ser la humedad uno de los principales factores necesarios para que la reproducción sexual se lleve a cabo. Por otro lado, muchas de las especies de musgos son consideradas grupos ectohídricos, al presentar espacios externos al cuerpo vegetativo, por los que el agua y los iones disueltos pueden absorberse y circular a lo largo de toda la superficie del organismo (Estébanez Pérez *et al.*, 2011; Bargagli, 2016; Sabovljević *et al.*, 2020). Todas estas características determinan que las briofitas sean muy dependientes de las deposiciones en el sustrato, de las precipitaciones como la lluvia, rocío, niebla... y de la composición atmosférica, para la obtención de los compuestos necesarios para su desarrollo (Sabovljević *et al.*, 2020; Xiao *et al.*, 2021). Todo ello hace que las briofitas, al igual que los líquenes, sean considerados organismos capaces de acumular determinados tipos de compuestos presentes en la atmósfera y en el caso de los musgos epigeos, la adquisición se produce a partir del sustrato mayoritariamente. Por lo tanto, estos organismos también pueden ser usados tanto para el biomonitoreo como para el estudio de los mecanismos de bioacumulación de metales pesados (Xiao *et al.*, 2021).

### 1.5. Metales pesados

Los metales pesados representan un amplio grupo de elementos químicos que tienen propiedades metálicas y que suelen presentar una densidad atómica superior a  $4 \text{ g/cm}^3$  (Liu *et al.*, 2020). Dentro de este grupo se incluyen a los metales de transición, determinados metaloides, lantánidos y actínicos, donde los más comunes son el cobre (Cu), hierro (Fe), cadmio (Cd), níquel (Ni), plomo (Pb), cromo (Cr), zinc (Zn), mercurio (Hg), (Liu *et al.*, 2020), aluminio (Al), arsénico (As), plata (Ag), manganeso (Mn), cobalto (Co), cesio (Cs)... (Singh *et al.*, 2011). Por un lado, dependiendo de la localización que suelen adquirir estos compuestos, se pueden distinguir metales pesados atmófilos, que suelen estar mayoritariamente en la

atmósfera, como por ejemplo Hg, Cd, Pb, Cu y Zn. Por el contrario, aquellos metales que suelen estar presentes en el sustrato son los denominados litófilos, como por ejemplo Al, Cr, Fe y Mn (Bargagli *et al.*, 2002). Por otro lado, se pueden distinguir metales pesados que actúan como oligoelementos, al ser muy necesarios para el metabolismo de determinados grupos biológicos, generalmente son el Fe, Co, Cu, Mn, Mg y Zn (Tchounwou *et al.*, 2012; Singh *et al.*, 2011). Otros metales se consideran oligoelementos no esenciales para los organismos, ya que no presentan beneficios ni funciones biológicas, por ejemplo el Hg, Pb, Cd, Ni, Ag... (Singh *et al.*, 2011; Tchounwou *et al.*, 2012). Cabe destacar que todos los metales pesados a determinadas concentraciones pueden llegar a ser altamente tóxicos para los organismos (Singh *et al.*, 2011). Por ejemplo, hay una serie de metales pesados cuya liberación es debida principalmente a la minería del carbón y a las emisiones de centrales térmicas, son los considerados Metales Potencialmente Tóxicos (PTM) como consecuencia, de su peligrosidad y persistencia en los ecosistemas. Los cinco metales pesados que forman parte de este grupo y cuya exposición representa la principal amenaza para la salud pública son el As, Cd, Cr, Hg y Pb (Zhou *et al.*, 2017; Raj y Maiti, 2020).

En la actualidad, los metales pesados son considerados uno de los contaminantes inorgánicos más abundantes (Singh *et al.*, 2011) como consecuencia del aumento de la actividad de industrias agrícolas, tecnológicas, domésticas... (Tchounwou *et al.*, 2012). Por ello, se considera que este aumento en la concentración de metales, tiene como principal origen las emisiones procedentes de fuentes antropogénicas, como la producción de abonos, pesticidas y fertilizantes, industrias farmacéuticas (Singh *et al.*, 2011; Tchounwou *et al.*, 2012; Raj y Maiti, 2020), lodos generados por la depuración de aguas residuales o incluso pueden ser productos obtenidos por la combustión del petróleo o desechos, minas metálicas o de carbón, centrales eléctricas y nucleares (Singh *et al.*, 2011; Raj y Maiti, 2020). Aunque minoritarias, las fuentes de metales pesados también pueden ser naturales (Raj y Maiti, 2020), como consecuencia de procesos geogénicos como las erupciones volcánicas o meteorizaciones (Tchounwou *et al.*, 2012).

La liberación de altas cantidades de metales pesados por procesos naturales o por actividades antropogénicas da como resultado la acumulación de los metales en los ecosistemas, generando graves daños a la flora, fauna y al resto de organismos presentes (Singh *et al.*, 2011). Cabe destacar, que posteriormente a la emisión de estos compuestos se puede producir la unión de los metales pesados a la matriz de partículas atmosféricas presentes en el ambiente, favoreciéndose de esta forma la dispersión de los iones metálicos (Shahid *et al.*, 2017). Por otro

lado, una vez que se han dispersado los metales pesados, la capacidad que presentan de acumularse en los ecosistemas es debida a su lenta tasa de eliminación o baja biodegradabilidad (Mahapatra *et al.*, 2019; Aprile y De Bellis, 2020). Además, estos compuestos son ubicuos lo que favorece su bioacumulación, pudiendo llegar a interrumpir muchas funciones vitales e incluso desplazar otros minerales nutricionales vitales (Singh *et al.*, 2011; Mahapatra *et al.*, 2019).

El efecto que van a presentar los organismos frente a la exposición de grandes concentraciones de metales pesados depende de la edad, especie y estado de salud previo (Conti y Cecchetti, 2001). Pero en general, la exposición a estos metales se caracterizan por la generación de peróxido de hidrógeno, radicales superóxido y radicales libres de hidroxilo, que corresponden con productos intermediarios denominados ROS o especies reactivas de oxígeno (Mahapatra *et al.*, 2019), que van a causar el desarrollo de un estrés oxidativo, resultando en daños a las células y en la alteración de la homeostasis iónica en organismos sensibles (Osyczka y Rola, 2019). Además, otros efectos que pueden producir los metales pesados se corresponden con una decoloración, un daño a la integridad de las membranas celulares que puede conllevar a una necrosis del talo, un aumento de la peroxidación de los lípidos de la membrana, una mayor degradación de la clorofila y con ello, una reducción en la fotosíntesis. La inducción de todas estas respuestas fisiológicas en los diferentes grupos biológicos, se utilizan como patrones que ayuden en la detección de zonas contaminadas por metales pesados (Sujetoviené *et al.*, 2019).

Como consecuencia de los daños que genera la exposición a grandes cantidades de metales, a lo largo de la evolución las plantas han desarrollado mecanismos de desintoxicación como la quelación y compartimentación celular, para evitar los daños producidos por la bioacumulación de los metales pesados (Singh *et al.*, 2011; Mahapatra *et al.*, 2019). Por otro lado, algunos organismos como los líquenes y los musgos tienen la necesidad de adquirir de la atmósfera los nutrientes y el agua necesarios para su desarrollo y supervivencia. Por lo que, si estos organismos habitan zonas en las cuales las concentraciones de metales pesados son altas, su tendencia va a ser la de adquirirlos y acumularlos, generalmente en el talo. Los efectos de la acumulación de estos compuestos en los líquenes y musgos varían en función del metal pesado y de la especie, siendo los más importantes la reducción de la supervivencia, el aumento de la pérdida de agua y la disminución en los niveles de azúcares y proteínas (Conti y Cecchetti, 2001).

Con todos los conceptos que se han expuesto anteriormente, se hace conveniente revisar el tema actual que corresponde con la capacidad que presentan los líquenes de bioacumular metales pesados, junto con los mecanismos que han adquirido para combatir los graves efectos que producen las altas concentraciones de estos compuestos. Todo ello se llevará acabo según la bibliografía actual que cumpla con los requisitos que serán expuestos más adelante.

## 2. OBJETIVOS

El principal objetivo que tiene este trabajo de fin de grado es la elaboración de una revisión bibliográfica, con el fin de conocer más en profundidad las principales características que presenta uno de los grupos biológicos más interesantes y utilizados en el análisis de la contaminación atmosférica, como son los líquenes. En este caso, la revisión se va a enfocar en la capacidad que presentan estos organismos para acumular metales pesados, que corresponden con un grupo de elementos químicos que está teniendo mucha problemática en la actualidad por su baja tasa de biodegradación y el aumento exponencial de su liberación, como consecuencia de diferentes actividades antropogénicas. Por todo ello, los objetivos parciales que permitirán dicha revisión en el presente trabajo de fin de grado son:

-En primer lugar, analizar los principales metales pesados que van a ser acumulados por parte de diferentes especies de líquenes y que más estudiados están siendo en las publicaciones usadas para realizar esta revisión.

-En segundo lugar, examinar algunos de los factores bióticos y abióticos que puedan afectar al proceso de bioacumulación de iones metálicos por parte de los líquenes.

-En tercer lugar, estudiar los mecanismos de captación de metales pesados y las resistencias fisiológicas que han desarrollado los líquenes para sobrellevar los daños que producen las altas concentraciones de metales pesados. Por otro lado, se van a estudiar los mecanismos por los cuales las briofitas son capaces de acumular metales pesados y las resistencias fisiológicas que han adquirido.

-Y, por último, realizar una comparación de las diferencias y semejanzas con las que los líquenes y las briofitas son capaces de bioacumular los metales pesados, que tan dañinos están resultando para los ecosistemas y para la salud pública.

### 3. MATERIALES Y MÉTODOS

La revisión bibliográfica sobre la capacidad que tienen los líquenes de acumular metales pesados se llevó a cabo mediante la búsqueda de artículos científicos que hayan sido publicados en la última década. Aunque también se han incluido artículos o libros con una fecha de publicación más antigua, que han aportado información sobre conceptos básicos sobre los líquenes para poder realizar una parte introductoria sobre el tema. Para la búsqueda de estos artículos o libros relacionados con los objetivos de la revisión, se han usado algunas de las bases de datos más conocidas como PubMed, Science Direct y SpringerLink, en las cuales se han introducido en el buscador palabras clave como: “lichens”, “heavy metal”, “moss”, “bioaccumulation” y “contamination”. Además, se han usado combinaciones entre estas palabras mediante el uso de operadores booleanos, como por ejemplo “lichens and moss”, “lichens and bioaccumulation”... Los métodos que se han usado para seleccionar las publicaciones se han basado en una primera lectura del título y del abstract de cada uno de los artículos, con el objetivo de observar si su contenido estaba relacionado con los temas que se han sido abordando en los apartados correspondientes. Una vez que se ha realizado la lectura inicial de los abstract, se ha revisado la introducción para corroborar que los contenidos de los artículos eran idóneos para ser usados como fuente para esta revisión.

Todos estos pasos han hecho que la cantidad de artículos que han sido usados para elaborar el apartado de resultados y discusión se han reducido a 23 publicaciones que corresponden con la última década. En concreto, 12 de estos artículos tienen como tema principal los líquenes, 5 están relacionados con las briofitas, 4 publicaciones corresponden a líquenes y musgos en conjunto, los 2 artículos restantes tienen como tema la bioacumulación en diversos organismos, donde también estas incluidos los líquenes y las briofitas.

### 4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

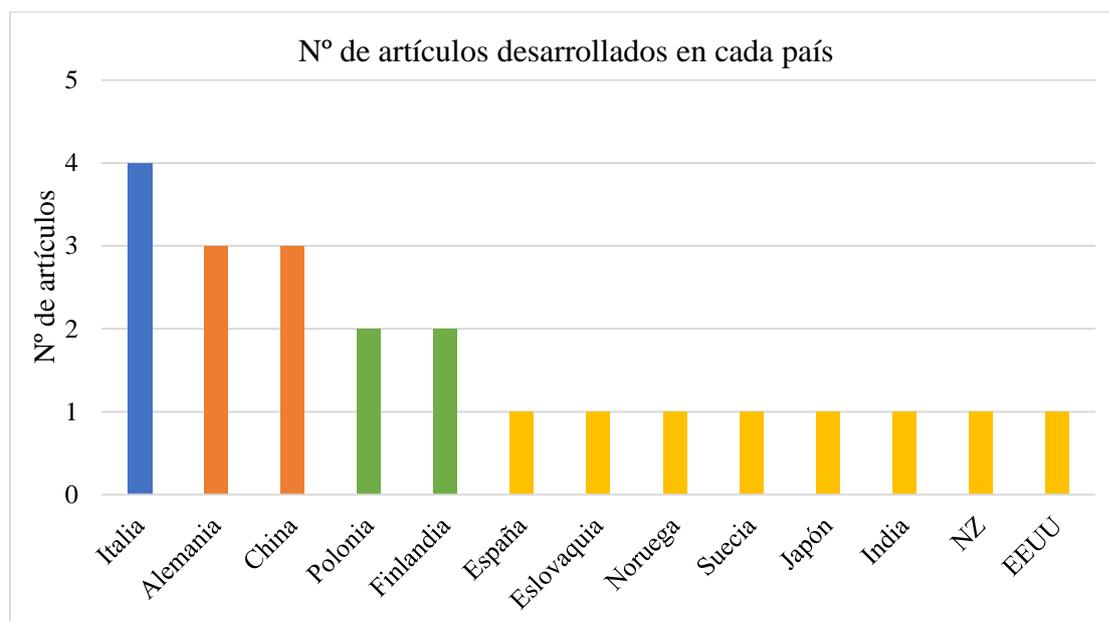
#### 4.1. Líquenes como bioacumuladores

En la actualidad, la expansión de las actividades antropogénicas como la depuración de aguas residuales (Singh *et al.*, 2011; Raj y Maiti, 2020), el aumento de la producción de abonos y pesticidas (Singh *et al.*, 2011; Tchounwou *et al.*, 2012; Raj y Maiti, 2020), han ocasionado un aumento en la liberación de contaminantes y otros compuestos altamente perjudiciales como son los metales pesados (Singh *et al.*, 2011). Por ello, han surgido multitud de estudios enfocados en la problemática ocasionada por el aumento exponencial de estos iones metálicos y que están basados en el uso de determinados grupos biológicos tolerantes a altas

concentraciones de metales pesados. Generalmente, destaca el uso de los líquenes y las briofitas como consecuencia de la capacidad que presentan de actuar como recolectores a largo plazo de metales pesados, al no presentar cutículas gruesas, estomas y sistemas radiculares verdaderos (Bargagli, 2016; Fortuna *et al.*, 2021). En concreto, los líquenes foliosos nativos son uno de los organismos más usados como recolectores de metales pesados a largo plazo, al poder estimarse fácilmente su crecimiento anual y determinar así los metales pesados acumulados en un tiempo determinado (Fortuna *et al.*, 2021).

Todos estos estudios tienen como finalidad el análisis y la evaluación de la presencia de metales pesados en zonas que puedan estar siendo contaminadas por estos compuestos, con el objetivo de identificar la fuente de estas emisiones (Kłos *et al.*, 2018). Por otro lado, también se trata de comprender los mecanismos por los que estos organismos son capaces de acumular los metales pesados sin presentar los efectos característicos producidos por las altas concentraciones de estos compuestos (Rola *et al.*, 2016).

Atendiendo a las ubicaciones en las que se han realizado los artículos usados para desarrollar esta revisión, destacan 4 artículos ubicados en Italia, 3 en Alemania y China, 2 en Polonia y Finlandia, 1 en España, Eslovaquia, Noruega, Suecia, Japón, India, Nueva Zelanda y Estados Unidos, datos que quedan ilustrados en el gráfico de la figura 1. Cabe destacar, que uno de las publicaciones utilizadas es una “review” que hace referencia a la contaminación de metales pesados en muchas zonas de Europa.

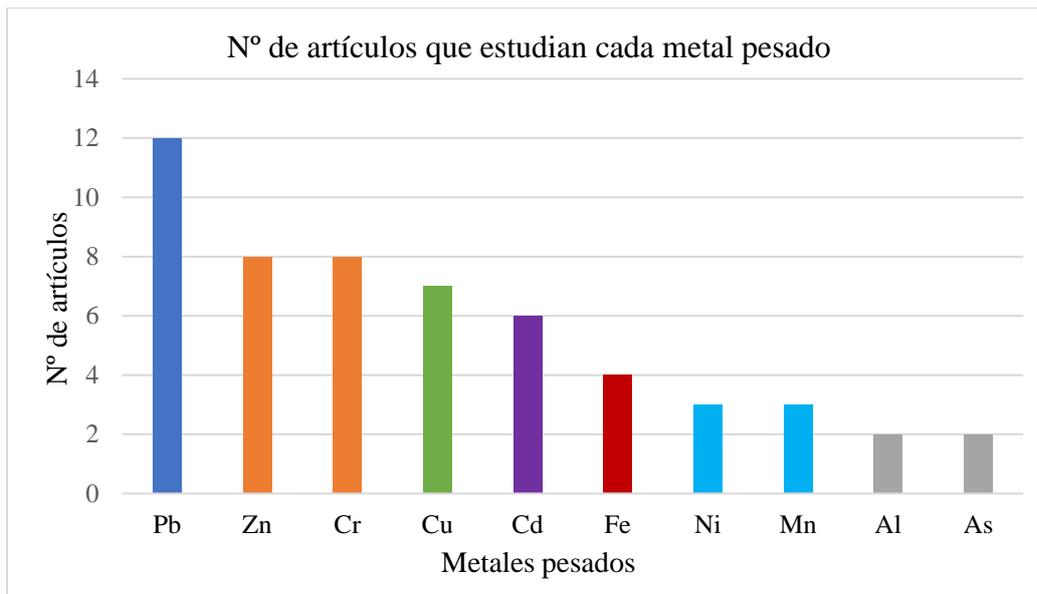


**Figura 1.** Gráfico que representa el número de artículos que han sido realizados en cada país, observándose que Italia es el país que más estudios ha realizado sobre bioacumulación de metales pesados.

#### 4.1.1. Principales metales pesados acumulados

Para el estudio de la contaminación por metales pesados en áreas con altas presiones antropogénicas, se suelen usar especies de líquenes que presenten la capacidad de desarrollarse en zonas urbanas, donde la contaminación es mayor (Bargagli, 2016; Jiang *et al.*, 2018). Aunque en ciertos estudios se usan trasplantes, que corresponden con grupos biológicos que se han desplazado de una zona no contaminada a una contaminada, con el objetivo de observar sus respuestas a la contaminación (Lodenius, 2013). En general, para la obtención de resultados sobre los metales que han sido acumulados, se analizan las especies seleccionadas que estén creciendo en las zonas contaminadas, pero también en ambientes libres de contaminación a las que determinados autores denominan “zonas verdes” (Vitali *et al.*, 2019). Para poder determinar los tipos de metales pesados que han ido acumulando estos líquenes, se realizan numerosas técnicas entre las que se incluyen la espectrometría y la microscopía de fluorescencia (Kováčik *et al.*, 2018). Por ello, se ha podido observar que *Xanthoria parietina* es una especie de líquen foliáceo que presenta una gran superficie de contacto con la atmósfera, lo que hace que presente una mayor capacidad de acumular metales pesados como Co, Cd, Cr, Ni, Pb (Vitali *et al.*, 2019). Otro líquen foliáceo como es *Pyxine coccinea* es usado mayoritariamente para la detección de As, Al, Cd y Pb (Bajpai y Upreti, 2012). Por otro lado, *Hypogymnia physodes* es una especie epífita que presenta la capacidad de acumular Cu y Mn (Hauck *et al.*, 2013; Kularatne y De Freitas, 2013), mientras que *Usnea aciculifera* y *Usnea luridorufa* han sido usadas para la detección de Fe, Cr, Pb y Zn que podrían ser altamente perjudiciales para la fauna autóctona de una reserva natural de China (Huang *et al.*, 2019).

Atendiendo a los 12 artículos sobre líquenes que han sido usados para esta revisión, se puede observar que hay una serie de metales pesados cuya acumulación se estudia en la mayoría de estas publicaciones, como es el caso del Pb y del Cr. Por ello, en el gráfico representado en la figura 2, quedan ilustrados los metales pesados más estudiados en los artículos en los que se ha basado el apartado relacionado con los líquenes.



**Figura 2.** Gráfico que representa el número de artículos que tienen como tema principal los líquenes y que estudian cada tipo de metal pesado representando.

#### 4.1.2. Factores que afectan a la bioacumulación

Una vez comentados los principales metales pesados que acumulan algunas especies de líquenes, es importante tener en cuenta que el proceso de bioacumulación está sujeto a multitud de factores que van a hacer que la acumulación de estos compuestos sea muy variable. Por un lado, se ha demostrado experimentalmente que el tipo de crecimiento que presentan los líquenes es uno de los factores que más influye en la acumulación de metales pesados. Por ello, se ha observado que los líquenes crustáceos que se encuentran más adheridos al sustrato sobre el que se desarrollan, presentan una mayor absorción de los compuestos localizados en el sustrato, entre los que se pueden incluir a los metales pesados. Por el contrario, los líquenes fruticosos son aquellos que se desarrollan de forma menos adherida al sustrato, por lo que van a presentar una absorción menor de metales pesados (Osyczka y Rola, 2019). También se ha observado que el uso de especies de líquenes foliosos como recolectores de metales pesados a largo plazo es mucho más efectivo que el uso de otros tipos de talos. Esto es debido a que el crecimiento de este tipo de líquen al año es muy reducido, por lo que se puede estimar su crecimiento de una manera más sencilla (Fortuna *et al.*, 2021).

Por otro lado, la capacidad acumulativa también puede ser altamente dependiente de factores abióticos como el sustrato, la temperatura y la humedad. En primer lugar, las características del sustrato sobre el que se desarrollan los líquenes influye en la acumulación de los metales pesados, por lo que aquellos sustratos que presenten una mayor estabilidad permitirán una

mayor acumulación de estos compuestos a lo largo del tiempo y por ello, una mayor bioacumulación por parte de las especies de líquenes ubicadas en estas zonas (Węgrzyn *et al.*, 2016). En segundo lugar, se ha observado que la bioacumulación también depende de la temperatura, viéndose incrementada en verano cuando las temperaturas son más cálidas (Kularatne y De Freitas, 2013). Por último, los líquenes que habiten en ambientes más húmedos o con mayores precipitaciones van a presentar una menor acumulación de metales pesados. Por ello, se puede decir que la acumulación de metales pesados sigue patrones estacionales al ser mayor durante estaciones más secas y cálidas como el verano (Kularatne y De Freitas, 2013). En algunos casos la acumulación de un determinado tipo de metal pesado puede afectar negativamente a la adquisición de otro tipo de ion metálico, al producirse una competencia entre ellos. Por lo tanto, la acumulación de aquellos metales pesados que puedan actuar como micronutrientes para los líquenes suele ser mayor, como es el caso del Cu y del Fe (Goth *et al.*, 2019).

#### 4.1.3. Bioacumulación de metales pesados

Como ya se ha mencionado anteriormente, los líquenes y las briofitas son algunos de los grupos biológicos que presentan la capacidad de acumular multitud de compuestos ubicados en el sustrato o en la atmósfera, como consecuencia de sus características fisiológicas y morfológicas (Rola *et al.*, 2016). Además, pueden ser usados para el biomonitoreo de los contaminantes, al ser capaces de captarlos a partir de emisiones gaseosas, deposiciones e incluso de precipitaciones, como la lluvia o la niebla (Shahid *et al.*, 2017). Esta revisión está centrada en la capacidad que presentan los líquenes de acumular uno de los compuestos tóxicos que más se está extendiendo en la actualidad, como son los metales pesados (Bargagli, 2016).

El proceso de bioacumulación ejercido por los líquenes se puede producir a través de tres mecanismos principales como son la captación de partículas, el intercambio iónico extracelular y la acumulación intracelular (Kularatne y De Freitas, 2013; Rola *et al.*, 2016). Para la comprensión del primero de los métodos, hay que tener en cuenta que la superficie del talo corresponde con una zona de contacto entre la atmósfera y las partes internas del líquen (Kularatne y De Freitas, 2013). Además, la captación de partículas también está relacionada con la ausencia de cutículas gruesas y sistemas radiculares, por lo que los líquenes van a ser capaces de captar las partículas presentes en el ambiente de una manera pasiva a través de toda su superficie. Después de la emisión de los metales pesados, estos van a poder unirse e integrarse en la matriz de las partículas atmosféricas, de esta forma los líquenes cuando captan

partículas atmosféricas también están adquiriendo iones metálicos, que serán acumulados por aquellas especies tolerantes (Shahid *et al.*, 2017). El segundo de los mecanismos que presentan los líquenes para la adquisición de metales pesados es la captación por transporte iónico. Este proceso está basado en las afinidades químicas entre los sitios aniónicos de la pared celular, como los grupos carboxílicos e hidroxycarboxílicos por los iones metálicos que actúan como cationes solubles. Cuando los grupos aniónicos están unidos con elementos con una menor afinidad, la presencia de metales pesados con una mayor afinidad por estos ligandos hace que puedan desplazar a estos elementos permitiendo la formación de complejos metálicos más estables. Una vez formados los complejos, los iones metálicos pueden permanecer anclados en la pared celular o pueden penetrar y acumularse en el interior de las células de los líquenes (Paoli *et al.*, 2018). Cabe destacar, que existen diferentes tipos de metales pesados que se diferencian entre sí en la afinidad que presentan por los sitios aniónicos de la pared celular, por lo que se puede producir una competencia iónica entre los metales pesados e incluso un desplazamiento entre ellos (Paoli *et al.*, 2018). En el caso de los metales pesados no esenciales y con una alta toxicidad, van a presentar una fuerte afinidad por los sitios de unión de la pared celular, lo que hace que no sean capaces de penetrar dentro de las células y producir estrés oxidativo (Osyczka y Rola, 2019). En determinadas especies de líquenes, el estrés provocado por los metales pesados se relaciona con una reducción de la fotosíntesis y el metabolismo de carbono y/o energía, que genera una disminución de los niveles de carbohidratos (Nakajima *et al.*, 2019). Por otro lado, en el caso de aquellos metales pesados esenciales y con una toxicidad reducida, van a actuar como micronutrientes que pueden penetrar la membrana plasmática fácilmente. Con ello, se puede decir que la pared celular de estos grupos biológicos actúa como una barrera selectiva frente a los metales pesados u otros elementos presentes en la atmósfera o en el sustrato (Antreich *et al.*, 2016; Osyczka y Rola, 2019).

Una vez que se ha producido el intercambio extracelular de los iones metálicos en la pared celular, los metales pesados seleccionados van a poder traspasar la membrana plasmática a través de transportadores proteicos o sitios de unión intracelulares de alta afinidad, lo que representa la tercera forma de acumulación (Osyczka y Rola, 2019). Todos estos métodos de acumulación de metales pesados que se han mencionado, van a estar controlados por el proceso de equilibrio de contaminantes, por lo que los líquenes van a acumular metales pesados hasta que se alcanza el estado de equilibrio, que corresponde con el momento en el cual la tasa de acumulación es igual a la tasa de liberación (Kularatne y De Freitas, 2013).

Aquellas especies de líquenes con la capacidad de acumular metales pesados por cualquiera de los métodos ya mencionados, deberán presentar cierta tolerancia o resistencia fisiológica frente a los daños producidos por las altas concentraciones de metales (Pawlik-Skowrońska y Bačkor, 2011; Rola *et al.*, 2016). En general, esta resistencia está directamente relacionada con un aumento en la producción de metabolitos secundarios por parte del micobionte. Además, cabe destacar que estos mecanismos de resistencia también son denominados “líneas de defensa” existiendo de este modo dos líneas de defensa frente a los metales pesados. La primera línea de defensa corresponde con la inmovilización y compartimentalización de los metales pesados, además de la síntesis de glutatión y fitoquelatinas (Álvarez *et al.*, 2012). En primer lugar, los compuestos secundarios generados por el líquen van a actuar como agentes quelantes extracelulares produciendo la inmovilización de los metales pesados en la superficie del talo (Pawlik-Skowrońska y Bačkor, 2011; Rola *et al.*, 2016). En segundo lugar, esta línea de defensa también incluye la compartimentalización de los iones metálicos, que se corresponde con un proceso que se pone en marcha cuando los metales pesados atraviesan la membrana plasmática y se caracteriza por el almacenamiento de los iones metálicos en orgánulos de desintoxicación, como por ejemplo la vacuola, con el objetivo de evitar su presencia en el citoplasma (Álvarez *et al.*, 2012). En tercer lugar, los iones metálicos usualmente pueden alcanzar al componente fotobionte de la asociación desencadenando un aumento de la cantidad del precursor glutatión, que derivará en un aumento en la concentración de determinados tipos de péptidos, como las fitoquelatinas. Estos péptidos van a actuar como agentes quelantes secuestrando los iones metálicos que hayan podido llegar al fotobionte y evitando de esta forma daños por estrés oxidativo (Pawlik-Skowrońska y Bačkor, 2011). Por otro lado, la segunda “línea de defensa” se activa cuando se alcanzan altos niveles de metales pesados y está relacionado con la síntesis de proteínas de estrés y enzimas antioxidantes como la glutatión reductasa, superóxido dismutasa y peroxidasas, que van a actuar como agentes quelantes de iones metálicos (Álvarez *et al.*, 2012).

En todos estos estudios hay que tener en cuenta que los líquenes no son los únicos grupos biológicos capaces de bioacumular metales pesados, ya que, las briofitas también son considerados grandes recolectores de iones metálicos a largo plazo (Mahapatra *et al.*, 2019; Sabovljević *et al.*, 2020). Por ello, es necesario analizar cuáles son los mecanismos que utilizan las briofitas para acumular estos compuestos y realizar comparaciones con los mecanismos usados por los líquenes, para observar cuales son los organismos que más efectivamente

acumulan los metales pesados y que más beneficios van a aportar en los estudios de biomonitoreo (Jiang *et al.*, 2018; Xiao *et al.*, 2021).

#### 4.2. Bioacumulación de metales pesados en briofitas

Las briofitas o musgos son organismos que al igual que los líquenes, pueden ser usados como bioindicadores de la contaminación por metales pesados. Esto es debido a que este grupo va a presentar ciertas características morfológicas y fisiológicas, como la ausencia de un verdadero sistema radicular o de cutículas gruesas (Bargagli, 2016; Wu *et al.*, 2020), que en este caso van a ser permeables a los nutrientes y al agua, pero también a contaminantes gaseosos y metales pesados (Mahapatra *et al.*, 2019). Todo ello hace que las briofitas puedan actuar como recolectores de multitud de compuestos, mayoritariamente de metales pesados presentes en el sustrato (Kłos *et al.*, 2018), que van a ser acumulados en el caulidio y en los filidios (Wu *et al.*, 2020). Por todo ello, se puede decir que la capacidad que presentan los musgos de acumular metales pesados radica en la ausencia de cutículas gruesas, en el proceso de intercambio catiónico y en la organización tan simplificada de sus estructuras, que no van a poder evitar la captación y acumulación de estos compuestos (Sabovljević *et al.*, 2020).

Generalmente, los mecanismos que van a usar las briofitas para absorber y acumular los metales pesados se basan en el intercambio catiónico (CEC) producido a través de su pared celular. Este proceso es considerado un mecanismo extracelular de adquisición de iones metálicos (Mahapatra *et al.*, 2019) en el cuál la pared celular actúa como una barrera selectiva (Antreich *et al.*, 2016). En aquellas especies de briofitas tolerantes a altas concentraciones de metales pesados, la tasa de CEC va a ser baja y, por tanto, van a presentar menos sitios de unión y menor adquisición de iones metálicos en las partes superior del organismos. Pero, aunque la capacidad de intercambio catiónico este reducida en ciertas partes de los organismos tolerantes, la adquisición de metales pesados se va a seguir produciendo (Antreich *et al.*, 2016), ya que la pared celular de las briofitas está formada por grupos aniónicos o cargados negativamente, como el ácido poligalacturónico, compuestos fenólicos y carboxilo (Gonzalez *et al.*, 2016). Estos grupos aniónicos van a ser capaces de unirse a los iones metálicos que actúan como grupos catiónicos, e inmovilizarlos en la pared celular. Todo ello se produce mediante un aumento del pH del medio, que conduce al reemplazo de los protones o desprotonización de los compuestos presentes en los sitios aniónicos, por los metales pesados del ambiente (Mahapatra *et al.*, 2019). Por lo que el proceso de acumulación de metales en las briofitas depende del pH, viéndose aumentado conforme los niveles de pH son más básicos (Gonzalez *et al.*, 2016).

Por otro lado, las briofitas también presentan mecanismos intracelulares de toma de metales pesados, basados en la difusión de los iones metálicos hacia el interior de las células y su transporte a través de canales proteicos (Mahapatra *et al.*, 2019). Una vez que los metales pesados han penetrado en las células de las briofitas tolerantes o se encuentran anclados en la pared celular, estos grupos biológicos deben desarrollar mecanismos de resistencia frente al estrés oxidativo que genera la acumulación de estos compuestos. La principal finalidad que tienen los mecanismos de resistencia es la disminución de la concentración de metales pesados en el citoplasma. En primer lugar, las briofitas presentan la capacidad de evitar la entrada de iones metálicos al protoplasma, lo que está relacionado con el mecanismo extracelular de toma de metales en el que los iones se mantienen adheridos a la pared celular del organismo (Basile *et al.*, 2012; Mahapatra *et al.*, 2019). En segundo lugar, los musgos van a presentar una tolerancia a la acumulación de metales pesados al presentar células capaces de reducir el estrés oxidativo que generan los iones metálicos. La tolerancia de las briofitas está relacionada con el aumento en la concentración de glutatión, que va a ser capaz de unirse a los iones metálicos y transportarlos hacia la vacuola o a vesículas del citoplasma, para reducir la concentración de metales pesados en el citoplasma. Por otro lado, el aumento de glutatión va a servir como sustrato para la síntesis de péptidos de alta afinidad como las metalotioneínas y fitoquelatinas (Basile *et al.*, 2012; Mahapatra *et al.*, 2019), cuyo mecanismo de acción es el secuestro de los metales pesados y consiguiente transporte hacia la vacuola. En tercer lugar, los musgos van a presentar una defensa antioxidante frente al estrés oxidativo, al presentar células capaces de generar enzimas defensivas, como la superóxido dismutasa y moléculas antioxidantes no enzimáticas como la prolina, el ácido ascórbico o el glutatión. Estos compuestos van a transformar las especies reactivas de oxígeno (ROS) más dañinas que han sido generadas por el estrés oxidativo, en productos menos tóxicos como el peróxido de hidrógeno, que podrá ser eliminado fácilmente por las enzimas defensivas sintetizadas por las células, como la catalasa o la peroxidasa (Mahapatra *et al.*, 2019).

#### 4.3. Comparación entre líquenes y briofitas

Como se ha podido observar a lo largo de la revisión, tanto los líquenes como las briofitas son formas biológicas con una alta sensibilidad a la contaminación atmosférica y con la capacidad de acumular metales pesados, como consecuencia de sus características fisiológicas y morfológicas. Todo ello hace que estos organismos sean utilizados en estudios sobre el biomonitoreo de metales pesados en diferentes zonas geográficas e incluso en zonas urbanas (Bargagli, 2016; Jiang *et al.*, 2018).

Aunque los líquenes y los musgos son organismos que se encuentran bastante alejados evolutivamente (Bargagli, 2016), en muchas ocasiones se desarrollan en zonas cercanas e incluso pueden llegar a competir por la luz, el agua y los nutrientes (Nakajima *et al.*, 2012). Además, ambos grupos biológicos van a presentar una serie de características en común que están directamente relacionadas con su capacidad de actuar como recolectores de metales. Por ejemplo, ambos grupos tienen una alta relación superficie-volumen (Bargagli, 2016), la mayoría de sus especies son ectohídricas, carecen de un sistema de raíces y de cutículas gruesas que regulen la absorción de nutrientes, agua y contaminantes (Bargagli, 2016; Budke *et al.*, 2018; Wu *et al.*, 2020). Además, estos organismos pueden tolerar condiciones extremas y, por tanto, van a habitar zonas geográficas variadas que aportan diferentes perspectivas a los estudios de bioacumulación y permiten la elaboración de redes de biomonitoreo de contaminantes. Por otro lado, también son muy sensibles a las variaciones del ambiente en el que se desarrollan, como consecuencia de su alta dependencia de la atmósfera y del sustrato para el suministro de agua y nutrientes (Bargagli, 2016; Budke *et al.*, 2018; Mahapatra *et al.*, 2019; Xiao *et al.*, 2021). Con lo referido a la bioacumulación, tanto las hifas fúngicas de los líquenes como los musgos presentan una alta capacidad de intercambio catiónico que se va a producir a través de mecanismos extracelulares e intracelulares muy similares (Bargagli, 2016).

Por otro lado, aunque las similitudes entre los líquenes y las briofitas son considerables, estos grupos van a presentar multitud de diferencias tanto morfológicas como funcionales, al formar parte de grupos de criptogramas muy alejados evolutivamente. Por ejemplo, se ha observado que los musgos epilíticos están más influenciados por las precipitaciones y, por tanto, van a atrapar y acumular mayores cantidades de partículas y metales pesados que los líquenes epífitos (Bargagli, 2016). Además, la mayoría de las especies de briofitas van a estar mucho más afectadas por la composición de los sustratos que los líquenes. Por ello, los musgos van a poder acumular mayores concentraciones de aquellos metales pesados ubicados en los sustratos y los líquenes mayores cantidades de metales presentes localizados en la atmósfera (Bargagli, 2016; Kłos *et al.*, 2018). Por ello, teniendo en cuenta las 3 de las 4 publicaciones que hacen referencia a los líquenes y a las briofitas, se pueden analizar las diferencias que existen en la acumulación de diferentes tipos de metales pesados entre estos organismos (Shahid *et al.*, 2017; Kłos *et al.*, 2018; Goth *et al.*, 2019).

**Tabla 1.** Se muestran las diferencias entre los líquenes y las briofitas en la acumulación de algunos de los tipos de metales pesados. En la tabla aparece representando el grupo biológico que más acumula cada tipo de metal pesado (símbolo +) y el organismo que menos acumula estos metales (símbolo -), según los artículos analizados.

	<b>Líquenes</b>	<b>Briofitas</b>
<b>Fe</b>	-	+
<b>Mn</b>	-	+
<b>Cr</b>	-	+
<b>Cu</b>	+	-
<b>Pb</b>	+	-
<b>Hg</b>	+	-
<b>Cd</b>	+	-

Atendiendo a la distribución geográfica de ambos grupos biológicos, las ubicaciones de los musgos son mucho más amplia que la de los líquenes, incluso en las zonas urbanas donde la contaminación por metales pesados es mayor y el desarrollo de estos organismos es reducido (Salo *et al.*, 2012), las briofitas suelen ser un poco más abundantes en estas zonas (Jiang *et al.*, 2018; Sabovljević *et al.*, 2020). Esto hace que en la actualidad, el uso de las briofitas para el biomonitoreo de este tipo de contaminante sea más efectivo a la hora de conocer la presencia de estos compuestos en determinadas zonas geográficas y en zonas urbanas (Bargagli, 2016; Jiang *et al.*, 2018; Sabovljević *et al.*, 2020). Cabe destacar, que en un estudio se ha observado que es más beneficioso el uso de líquenes epífitos para el estudio de la bioacumulación de metales pesados en zonas donde nieva frecuentemente, ya que estos organismos se van a ver menos afectados por las capas de nieve (Lodénius, 2013).

Por otro lado, los líquenes y las briofitas van a presentar características únicas que van a aportar diferentes ventajas a la hora de realizar estudios para la determinación de la presencia de metales pesados en diversas zonas. Por ejemplo, en algunas especies de musgo como *Hylocomium splendens*, es posible conocer las edades de las diferentes partes del brote. Esto hace que, los análisis químicos sobre las concentraciones de metales pesados sean más fiables, al poder usarse muestras que sean de la misma edad y que presenten el mismo tiempo de exposición a la deposición de metales. Por ello, en estos casos se puede establecer la

regla de que cuanto más antiguo sea un organismos mayores concentraciones de metales habrán sido capaces de acumular (Bargagli, 2016).

Estos grupos biológicos también van a diferenciarse en los mecanismos de resistencia fisiológica que desarrollan frente al estrés oxidativo generado por la acumulación de metales pesados. En el caso de las briofitas, la resistencia fisiológica frente a estos compuestos se basa fundamentalmente, en un aumento de las concentraciones de agentes antioxidantes no enzimáticos, como por ejemplo el glutatión. Como se ha mencionado anteriormente, este compuesto actúa como sustrato para la síntesis de fitoquelatinas, que son péptidos que intervienen en el secuestro de metales pesados con el fin de reducir su concentración en el citosol (Basile *et al.*, 2012; Mahapatra *et al.*, 2019). Pero en el caso de los líquenes, el principal mecanismo de resistencia que se va a manifestar frente al estrés es un aumento en la síntesis de metabolitos secundarios por parte del micobionte, que interviene con la inmovilización en la pared celular y en la compartimentalización (Álvarez *et al.*, 2012). En la mayoría de los casos, estos compuestos secundarios junto con los otros mecanismos van a ser suficientes para proteger al fotobionte frente a las altas concentraciones de metales pesados, que pueden resultar tóxicas para este componente de la asociación. Por ello, en los líquenes no se suele producir un aumento en la síntesis de fitoquelatinas como respuesta a la exposición de metales (Pawlik-Skowrońska y Bačkor, 2011).

En esta revisión se ha descrito la capacidad que presentan los líquenes y las briofitas a la hora de acumular metales pesados y los mecanismos por los cuales son capaces de llevar a cabo este proceso. Pero hay que mencionar que la mayoría de las especies de plantas vasculares también son capaces de acumular metales pesados junto con el agua y los minerales, principalmente del suelo (Mahapatra *et al.*, 2019). Aunque su uso para el biomonitorio no está tan extendido como en el caso de líquenes o briofitas, las plantas vasculares son los principales organismos que habitan en las zonas urbanas donde la contaminación por metales es mayor y los otros grupos biológicos no suelen desarrollarse (Jiang *et al.*, 2018). Por ello, en los últimos años se ha extendido el uso de plantas vasculares para controlar las concentraciones de metales pesados en zonas urbanas y para el estudio de los mecanismos por los que estos organismos son capaces de bioacumular los iones metálicos (Jiang *et al.*, 2018; Mahapatra *et al.*, 2019). Por lo general, en estos estudios junto con las técnicas de fitorremediación basadas en la eliminación de metales pesados de zonas altamente contaminadas, suelen usarse ciertas partes de las plantas perennes como la corteza, las hojas y las agujas, donde la acumulación de metales pesados es mayor (Mahapatra *et al.*, 2019; Sharma *et al.*, 2021). Por ello, se ha observado que algunos de los

mecanismos de resistencia que usan las plantas vasculares para soportar el estrés oxidativo causado por los metales, están basados en un aumento de la síntesis de carotenoides, que son pigmentos fotosintéticos con una gran capacidad antioxidante. Además, las plantas superiores van a sintetizar enzimas antioxidantes para combatir la presencia de especies reactivas de oxígeno, al igual que los líquenes y los musgos (Sharma *et al.*, 2021). Sin embargo, siempre hay que tener en cuenta que la tasa de absorción que realizan estas plantas es inferior, en comparación con la acumulación producida en plantas inferiores como los musgos y los líquenes (Jiang *et al.*, 2018; Mahapatra *et al.*, 2019).

## 5. CONCLUSIONES

1. La bioacumulación de los metales pesados no es una cualidad exclusiva de los líquenes, ya que hay multitud de grupos biológicos capaces de acumular estos compuestos, como es el caso de las briofitas y determinadas plantas superiores. Por ello, en función de la zona geográfica en la que se estén realizando los estudios sobre las concentraciones de contaminantes, será más beneficioso usar un determinado grupo biológico que presente la capacidad de acumular iones metálicos.
2. Por otro lado, el proceso de bioacumulación de los metales pesados se produce, en gran medida, como consecuencia de las características fisiológicas y morfológicas que presentan tanto los líquenes como las briofitas. Además, en ambos organismos los mecanismos por los cuales la bioacumulación es llevada a cabo son muy similares, como por ejemplo el intercambio iónico extracelular y la captación intracelular.
3. En general, los líquenes son organismos que van a acumular una mayor cantidad de metales pesados atmosféricos que las briofitas. Por otro lado, los musgos van a acumular, en mayor medida, metales pesados localizados en el sustrato en el que habitan.
4. Algunos de los mecanismos de resistencia que presentan los líquenes y las briofitas son muy similares, como por ejemplo la compartimentalización de los iones metálicos en la vacuola y la síntesis de enzimas antioxidantes. Este último, también es un mecanismo que utilizan las plantas superiores para soportar el estrés oxidativo.

## 6. REFERENCIAS

- Álvarez, R., del Hoyo, A., García-Breijo, F., Reig-Armiñana, J., del Campo, E. M., Guéra, A., Barreno, E. y Casano, L. M. (2012) "Different strategies to achieve Pb-tolerance by the two Trebouxia algae coexisting in the lichen Ramalina farinacea", *Journal of Plant Physiology*, 169(18), pp. 1797–1806.
- Antreich, S., Sassmann, S. y Lang, I. (2016) "Limited accumulation of copper in heavy metal adapted mosses", *Plant Physiology and Biochemistry*, 101, pp. 141–148.
- Aprile, A. y De Bellis, L. (2020) "Editorial for special issue "heavy metals accumulation, toxicity, y detoxification in plants"", *International Journal of Molecular Sciences*, pp. 1–5.
- Aryal, N., Wood, J., Rijal, I., Deng, D., Jha, M. K. y Ofori-Boadu, A. (2020) "Fate of environmental pollutants: A review", *Water Environment Research*, 92(10), pp. 1587–1594.
- Asakawa, Y., Ludwiczuk, A. y Nagashima, F. (2013) "Phytochemical and biological studies of bryophytes", *Phytochemistry*, 91, pp. 52–80.
- Bačkor, M. y Loppi, S. (2009) "Interactions of lichens with heavy metals", *Biologia Plantarum*, 53(2), pp. 214–222.
- Bajpai, R. y Upreti, D. K. (2012) "Accumulation and toxic effect of arsenic and other heavy metals in a contaminated area of West Bengal, India, in the lichen Pyxine cocomes (Sw.) Nyl.", *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 83, pp. 63–70.
- Bargagli, R. (2016) "Moss and lichen biomonitoring of atmospheric mercury: A review", *Science of the Total Environment*, pp. 216–231.
- Bargagli, R., Monaci, F., Borghini, F., Bravi, F. y Agnorelli, C. (2002) "Mosses and lichens as biomonitors of trace metals. A comparison study on Hypnum cupressiforme and Parmelia caperata in a former mining district in Italy", *Environmental Pollution*, 116(2), pp. 279–287.
- Basile, A., Sorbo, S., Pisani, T., Paoli, L., Munzi, S. y Loppi, S. (2012) "Bioaccumulation and ultrastructural effects of Cd, Cu, Pb and Zn in the moss Scorpiurum circinatum (Brid.) Fleisch. & Loeske", *Environmental Pollution*, 166, pp. 208–211.
- Budke, J. M., Bernard, E. C., Gray, D. J., Huttunen, S., Piechulla, B. y Trigiano, R. N. (2018) "Introduction to the Special Issue on Bryophytes", *Critical Reviews in Plant Sciences*, pp. 102–112.
- Chandra, S., Chandra, D., Barh, A., Pankaj, Pandey, R. K. y Sharma, I. P. (2017) "Bryophytes: Hoard of remedies, an ethno-medicinal review", *Journal of Traditional and Complementary Medicine*, 7(1), pp. 94–98.
- Chen, Y. E., Cui, J. M., Yang, J. C., Zhang, Z. W., Yuan, M., Song, C., Yang, H., Liu, H. M., Wang, C. Q., Zhang, H. Y., Zeng, X. Y. y Yuan, S. (2015) "Biomonitoring heavy metal contaminations by moss visible parameters", *Journal of Hazardous Materials*, 296, pp. 201–209.
- Conti, M. E. y Cecchetti, G. (2001) "Biological monitoring: lichens as bioindicators of air pollution assessment - A review", *Environmental Pollution*, pp. 471–492.
- Estébanez Pérez, B., Draper Y Díaz De Atauri, I. y Medina Bujalance, R. (2011) "Briófitos: una aproximación a las plantas terrestres más sencillas", *Memorias R. Soc. Esp. Hist. Nat*, 9, pp. 19-73.
- Fortuna, L., Adami, G., Princivale, F. y Tretiach, M. (2021) "New insight on element bioaccumulation performance of two lichen biomonitors: When morpho-chemical details mark the difference", *Science of The Total Environment*, 782.
- Goffinet, B. y Shaw, J. (2008) *Bryophyte Biology*. 2.<sup>a</sup> ed. Cambridge: Cambridge University Press.
- Gonzalez, A. G., Pokrovsky, O. S., Beike, A. K., Reski, R., Di Palma, A., Adamo, P., Giordano, S. y Angel Fernandez, J. (2016) "Metal and proton adsorption capacities of natural and cloned Sphagnum mosses", *Journal of Colloid and Interface Science*, 461, pp. 326–334.

- Goth, A., Michelsen, A. y Rousk, K. (2019) "Railroad derived nitrogen and heavy metal pollution does not affect nitrogen fixation associated with mosses and lichens at a tundra site in Northern Sweden", *Environmental Pollution*, 247, pp. 857–865.
- Hauck, M., Böning, J., Jacob, M., Dittrich, S., Feussner, I. y Leuschner, C. (2013) "Lichen substance concentrations in the lichen *Hypogymnia physodes* are correlated with heavy metal concentrations in the substratum", *Environmental and Experimental Botany*, 85, pp. 58–63.
- He, X., He, K. S. y Hyvönen, J. (2016) "Will bryophytes survive in a warming world?", *Perspectives in Plant Ecology, Evolution and Systematics*, 19, pp. 49–60.
- Huang, Y. ping, Xiang, J. tao, Wang, C. hua, Ren, D., JohnsonDavid y Xu, T. (2019) "Lichen as a Biomonitor for Vehicular Emission of Metals: A Risk Assessment of Lichen Consumption by the Sichuan Snub-Nosed Monkey (*Rhinopithecus roxellana*)", *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 180, pp. 679–685.
- Jiang, Y., Fan, M., Hu, R., Zhao, J. y Wu, Y. (2018) "Mosses are better than leaves of vascular plants in monitoring atmospheric heavy metal pollution in urban areas", *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 15(6).
- Kłos, A., Ziembik, Z., Rajfur, M., Dołhańczuk-Śródka, A., Bochenek, Z., Bjerke, J. W., Tømmervik, H., Zagajewski, B., Ziółkowski, D., Jerz, D., Zielińska, M., Krems, P., Godyń, P., Marciniak, M. y Świsłowski, P. (2018) "Using moss and lichens in biomonitoring of heavy-metal contamination of forest areas in southern and north-eastern Poland", *Science of The Total Environment*, 627, pp. 438–449.
- Kováčik, J., Dresler, S., Peterková, V. y Babula, P. (2018) "Metal-induced oxidative stress in terrestrial macrolichens", *Chemosphere*, 203, pp. 402–409.
- Kularatne, K. I. A. y De Freitas, C. R. (2013) "Epiphytic lichens as biomonitors of airborne heavy metal pollution", *Environmental and Experimental Botany*, 88, pp. 24–32.
- Lagarde, A., Jargeat, P., Roy, M., Girardot, M., Imbert, C., Millot, M. y Mambu, L. (2018) "Fungal communities associated with *Evernia prunastri*, *Ramalina fastigiata* and *Pleurosticta acetabulum*: Three epiphytic lichens potentially active against *Candida* biofilms", *Microbiological Research*, 211, pp. 1–12.
- Liu, Z., Wang, L. ao, Xiao, H., Guo, X., Urbanovich, O., Nagorskaya, L. y Li, X. (2020) "A review on control factors of pyrolysis technology for plants containing heavy metals", *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 191.
- Lodenius, M. (2013) "Use of plants for biomonitoring of airborne mercury in contaminated areas", *Environmental Research*, 125, pp. 113–123.
- Lubek, A., Kukwa, M., Jaroszewicz, B. y Czortek, P. (2018) "Changes in the epiphytic lichen biota of Białowieża Primeval Forest are not explained by climate warming", *Science of the Total Environment*, 643, pp. 468–478.
- Mahapatra, B., Dhal, N. K., Dash, A. K., Panda, B. P., Panigrahi, K. C. S. y Pradhan, A. (2019) "Perspective of mitigating atmospheric heavy metal pollution: using mosses as biomonitoring and indicator organism", *Environmental Science and Pollution Research*, 26, pp. 29620–29638.
- Martínez, I., Belinchón, R., Otárola, M. G., Aragón, G., Prieto, M. y Escudero, A. (2011) "Efectos de la fragmentación de los bosques sobre los líquenes epífitos en la Región Mediterránea", *Ecosistemas*, 20(2), pp. 54–67.
- Ministerio de agricultura alimentación y medio ambiente (2014) *Análisis de la calidad del aire en España*. Disponible en: [https://www.miteco.gob.es/es/calidad-y-evaluacion-ambiental/publicaciones/analisisdelcalidaddelaireenespanaevolucion2001-2012web\\_tcm30-185073.pdf](https://www.miteco.gob.es/es/calidad-y-evaluacion-ambiental/publicaciones/analisisdelcalidaddelaireenespanaevolucion2001-2012web_tcm30-185073.pdf) (Accedido: 4 de Mayo de 2021).
- Molnár, K. y Farkas, E. (2010) "Current results on biological activities of lichen secondary metabolites: A review", *Zeitschrift für Naturforschung - Section C Journal of Biosciences*, pp. 157–173.
- Nabors, M. W. (2006) *Introducción a la Botánica*. Madrid: Pearson Educación, S.A.
- Nakajima, H., Fujimoto, K., Yoshitani, A., Yamamoto, Y., Sakurai, H. y Itoh, K. (2012) "Effect of copper stress on cup lichens *Cladonia humilis* and *C. subconistea* growing on copper-hyperaccumulating moss *Scopelophila*

cataractae at copper-polluted sites in Japan", *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 84, pp. 341–346.

Nakajima, H., Fujimoto, N., Yamamoto, Y., Amemiya, T. y Itoh, K. (2019) "Response of secondary metabolites to Cu in the Cu-hyperaccumulator lichen *Stereocaulon japonicum*", *Environmental Science and Pollution Research*, 26(1), pp. 905–912.

Nash, T. H. (2008) *Lichen Biology*. 2.<sup>a</sup> ed. Cambridge: Cambridge University Press.

Ochoa-Jiménez, D. A., Cueva-Agila, A., Prieto, M., Aragón, G. y Benitez, Á. (2015) "Cambios en la composición de líquenes epífitos relacionados con la calidad del aire en la ciudad de Loja (Ecuador)", *Caldasia*, 37(2), pp. 333–343.

Osyczka, P. y Rola, K. (2019) "Integrity of lichen cell membranes as an indicator of heavy-metal pollution levels in soil", *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 174, pp. 26–34.

Paoli, L., Fačkovcová, Z., Guttová, A., Maccelli, C., Kresáňová, K. y Loppi, S. (2019) "Evernia goes to school: Bioaccumulation of heavy metals and photosynthetic performance in lichen transplanted indoors and outdoors in public and private environments", *Plants*, 8(5), pp. 2–11.

Paoli, L., Vannini, A., Monaci, F. y Loppi, S. (2018) "Competition between heavy metal ions for binding sites in lichens: Implications for biomonitoring studies", *Chemosphere*, 199, pp. 655–660.

Pawlik-Skowrońska, B. y Bačkor, M. (2011) "Zn/Pb-tolerant lichens with higher content of secondary metabolites produce less phytochelatins than specimens living in unpolluted habitats", *Environmental and Experimental Botany*, 72(1), pp. 64–70.

Raj, D. y Maiti, S. K. (2020) "Sources, bioaccumulation, health risks and remediation of potentially toxic metal(loid)s (As, Cd, Cr, Pb and Hg): an epitomised review", *Environmental Monitoring and Assessment*, pp. 1–20.

Ramzaev, V., Barkovsky, A., Gromov, A., Ivanov, S. y Kaduka, M. (2014) "Epiphytic fruticose lichens as biomonitors for retrospective evaluation of the <sup>134</sup>Cs/<sup>137</sup>Cs ratio in Fukushima fallout", *Journal of Environmental Radioactivity*, 138, pp. 177–185.

Rodríguez, F. (2006) "Introducción a los Líquenes", en Carballal, R., Casares Porcel, M., Gutiérrez, I., y García Rowe, J. (eds.) *Proyecto Andalucía*. España: SUB Hamburg, pp. 158–188.

Rola, K., Osyczka, P. y Kafel, A. (2016) "Different Heavy Metal Accumulation Strategies of Epilithic Lichens Colonising Artificial Post-Smelting Wastes", *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*, 70(2), pp. 418–428.

Sabovljević, M. S., Weidinger, M., Sabovljević, A. D., Stanković, J., Adlassnig, W. y Lang, I. (2020) "Metal accumulation in the acrocarp moss *Atrichum undulatum* under controlled conditions", *Environmental Pollution*, 256.

Salo, H., Bučko, M. S., Vaahtovuori, E., Limo, J., Mäkinen, J. y Pesonen, L. J. (2012) "Biomonitoring of air pollution in SW Finland by magnetic and chemical measurements of moss bags and lichens", *Journal of Geochemical Exploration*, 115, pp. 69–81.

Shahid, M., Dumat, C., Khalid, S., Schreck, E., Xiong, T. y Niazi, N. K. (2017) "Foliar heavy metal uptake, toxicity and detoxification in plants: A comparison of foliar and root metal uptake", *Journal of Hazardous Materials*, pp. 36–58.

Sharma, P., Tripathi, S., Sirohi, R., Kim, S. H., Ngo, H. H. y Pandey, A. (2021) "Uptake and mobilization of heavy metals through phytoremediation process from native plants species growing on complex pollutants: Antioxidant enzymes and photosynthetic pigments response", *Environmental Technology & Innovation*, 23.

Simijaca, D., Moncada, B. y Lücking, R. (2018) "Oak forest or conifer plantation, what do epiphytic lichens prefer?", *Colombia Forestal*, 21(2), pp. 123–141.

Singh, R., Gautam, N., Mishra, A. y Gupta, R. (2011) "Heavy metals and living systems: An overview", *Indian*

*Journal of Pharmacology*, pp. 246–253.

Sujetovienė, G., Smilgaitis, P., Dagiliūtė, R. y Žaltauskaitė, J. (2019) "Metal accumulation and physiological response of the lichens transplanted near a landfill in central Lithuania", *Waste Management*, 85, pp. 60–65.

Tchounwou, P. B., Yedjou, C. G., Patlolla, A. K. y Sutton, D. J. (2012) "Heavy metal toxicity and the environment", *EXS*, pp. 133–164.

Vitali, M., Antonucci, A., Owczarek, M., Guidotti, M., Astolfi, M. L., Manigrasso, M., Avino, P., Bhattacharya, B. y Protano, C. (2019) "Air quality assessment in different environmental scenarios by the determination of typical heavy metals and Persistent Organic Pollutants in native lichen *Xanthoria parietina*", *Environmental Pollution*, 254.

Węgrzyn, M., Wietrzyk, P., Lisowska, M., Klimek, B. y Nicia, P. (2016) "What influences heavy metals accumulation in arctic lichen *Cetrariella delisei* in Svalbard?", *Polar Science*, 10(4), pp. 532–540.

Wu, L., Fu, S., Wang, X. y Chang, X. (2020) "Mapping of atmospheric heavy metal deposition in Guangzhou city, southern China using archived bryophytes", *Environmental Pollution*, 265.

Xiao, J., Han, X., Sun, S., Wang, L. y Rinklebe, J. (2021) "Heavy metals in different moss species in alpine ecosystems of Mountain Gongga, China: Geochemical characteristics and controlling factors", *Environmental Pollution*, 272.

Zhou, X., Chen, Q., Liu, C. y Fang, Y. (2017) "Using moss to assess airborne heavy metal pollution in Taizhou, China", *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 14(4).