



---

---

# BENEMÉRITA UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE PUEBLA

FACULTAD DE INGENIERÍA QUÍMICA

TESIS PROFESIONAL

“EVALUACIÓN DE UN SISTEMA DE FITORREMEDIACIÓN DE JALES  
DE MINAS CON *HELIANTHUS ANNUUS* ASISTIDA CON CONSORCIOS DE  
BPCV”

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:

LUNCENCIATURA EN INGENIERÍA AMBIENTAL

PRESENTA:

PEDRO ORTIZ PACHECO

DIRECTOR DE TESIS:

DR. JOSÉ CARLOS MENDÓZA HERNÁNDEZ

ASESORA DE TESIS:

MTRA. MAYTÉ JUÁREZ MENESES

PUEBLA, PUE. JUNIO 2023

## Contenido

INTRODUCCIÓN.....	4
PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA.....	5
JUSTIFICACIÓN .....	6
OBJETIVO.....	7
OBJETIVOS ESPECÍFICOS .....	7
HIPÓTESIS.....	8
CAPÍTULO I .....	9
1. ANTECEDENTES.....	9
1.1 Minería.....	9
1.2 Minería en México .....	9
1.3 Efectos negativos de la minería .....	10
1.4 Consecuencias ambientales por la minería en México.....	11
1.5 Jales de mina.....	12
1.6 Dispersión de los contaminantes.....	13
1.7 Fitorremediación.....	14
1.8 Bacterias promotoras del crecimiento vegetal (BPCV).....	16
1.9 Fitorremediación asistida con BPCV .....	17
CAPÍTULO II .....	20
2. METODOLOGÍA .....	20
2.1 Selección del consorcio de BPCV para los tratamientos.....	20

2.2	Preparación del inóculo .....	20
2.3	Preparación de las macetas. ....	21
2.4	Siembra en macetas.....	22
2.5	Monitoreo de crecimiento .....	23
2.6	Medición de raíces .....	24
2.7	Determinación de metales.....	25
2.8	Análisis de los factores de translocación, transferencia y bioacumulación.....	27
2.9	Análisis estadístico .....	28
CAPÍTULO III .....		29
3. RESULTADOS Y DISCUSIONES.....		29
3.1	Crecimiento de las plantas.....	29
3.2	Concentración de metales presentes en la muestra de Jal de mina .....	31
3.3	Concentración de metales en las plantas. ....	32
3.4	Factor de translocación.....	39
3.5	Factor de bioacumulación.....	40
3.6	Factores de transferencia. ....	41
DISCUSIÓN DE RESULTADOS.....		42
CONCLUSIONES.....		45
BIBLIOGRAFÍA.....		46

## INTRODUCCIÓN

Los minerales son altamente apreciados por la sociedad y diversos sectores industriales debido a que muchos son utilizados como materias primas en la fabricación de productos esenciales. Para aprovechar estos minerales, es necesario extraerlos de las rocas o suelo mediante los procesos de minería. Sin embargo, estos procesos generan residuos conocidos como jales de mina, que contienen los restos de minerales que no pudieron ser extraídos, así como residuos de los reactivos empleados en la extracción.

Los jales de mina cuentan con características tóxicas como gran acidez y altas concentraciones de metales pesados, lo que puede resultar en graves consecuencias para el medio ambiente y la salud humana. La disposición inadecuada de los jales puede contaminar cuerpos de agua cercanos, afectar la calidad del aire y del suelo, así como poner en peligro la salud de las comunidades cercanas.

Por lo tanto, es crucial adoptar prácticas más responsables y sostenibles en la gestión de los jales de mina. Además de implementar tecnologías avanzadas para el tratamiento de los residuos. De igual manera se pueden utilizar técnicas de fitorremediación para reducir el impacto de los jales en el medio ambiente. La fitorremediación es una técnica que se basa en los procesos metabólicos de las plantas para controlar la contaminación del suelo y agua. Al cultivar ciertas especies vegetales en los jales de mina, se puede reducir la acidez y la concentración de metales pesados, así como restaurar la calidad del suelo y del agua. La fitorremediación no solo es efectiva en la eliminación de contaminantes, sino que también es una solución sostenible y económicamente viable para la gestión de los residuos de la minería. Al incorporar técnicas de fitorremediación

en las prácticas mineras, se puede minimizar el impacto ambiental y promover la recuperación de los ecosistemas afectados.

## **PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA**

Los jales de mina son un problema ambiental global, especialmente cuando han sido abandonados y se encuentran expuestos, debido a la liberación de metales pesados en el medio ambiente y su toxicidad. Los metales pesados presentes en los jales de mina pueden infiltrarse llegando a cuerpos de agua o dispersarse manera eólica afectando ecosistemas cercanos, lo que genera un impacto negativo en la calidad de los recursos naturales y puede afectar a la agricultura y la producción de alimentos (Reyes *et al.*, 2007).

Es importante considerar el peligro que ocasiona la presencia y, en primer lugar, las altas concentraciones de metales pesados en los ecosistemas ya que presenta un efecto sumamente negativo para los organismos, especialmente cuando los metales se encuentran de una forma más biodisponible. Entre mayor sea su biodisponibilidad, existirá más probabilidad que puedan introducirse a la cadena trófica, afectar a otros seres vivos e incluso dar lugar a la bioacumulación o biomagnificación.

Por su parte, la exposición aguda o crónica de los humanos a los metales pesados provocan daños a la salud como problemas hepáticos, daño gastrointestinal, daños renales, daños al sistema nervioso, enfermedad de Parkinson, daños al sistema reproductivo, daño neuronal, cáncer, etc. (Briffa *et al.*, 2020). Mientras que algunas de las principales formas por los que los metales interfieren con los procesos celulares son

el estrés oxidativo, la interferencia con calcio y unión a proteínas por medio de los grupos sulfhidrilos, llevando a las células procesos de muerte celular (necrosis o apoptosis) en el sistema nervioso central y periférico (Nava-Ruíz y Méndez-Armenta, 2010).

Por otra parte, la contaminación por metales pesados provenientes de la mala gestión de los jales de mina puede tener impactos económicos significativos en las comunidades locales y regionales. La contaminación del suelo y el agua puede disminuir la producción agrícola y afectar la acuicultura, lo que puede llevar a una menor disponibilidad de alimentos y aumentar los precios. Además, la contaminación puede tener efectos a largo plazo en la salud de las personas y los animales, lo que puede aumentar los costos de atención médica y reducir la calidad de vida, impactando negativamente la productividad y la economía local a largo plazo.

## **JUSTIFICACIÓN**

Es importante que se lleve a cabo la adecuada gestión de los residuos de la minería para minimizar su impacto en el medio ambiente al igual que fomentar la recuperación de los ecosistemas afectados. Si bien, existen algunas técnicas para el saneamiento de los suelos contaminados que consisten en la extracción o inmovilización de los contaminantes, algunas de estas técnicas suelen basarse en procesos fisicoquímicos presentando un gran coste económico y energético.

Una alternativa viable es la implementación de biotecnologías que consisten en un conjunto de actividades enfocadas al desarrollo sostenible como los sistemas de biorremediación. Asimismo, la fitorremediación es una técnica que se basa en los

mecanismos fisiológicos de las plantas y los microorganismos asociados a ellas para la remediación de sitios contaminados, además, es una práctica más sostenible, menos peligrosa, de menor costo y requerimiento energético (Velázquez-González *et al.*, 2010).

El papel de las bacterias promotoras del crecimiento vegetal (BPCV) es fundamental puesto que cuentan con características que favorecen a las plantas a través de mecanismos directos e indirectos. Por lo tanto, el desarrollo de las plantas se ve favorecido pese a las altas concentraciones de metales pesados, por lo que la fitorremediación asistida por BPCV es una manera de mejorar la eficiencia de esta técnica de biorremediación.

## **OBJETIVO**

Evaluar un sistema de fitorremediación de jales de minas con *Helianthus annuus* asistida con consorcios de BPCV.

## **OBJETIVOS ESPECÍFICOS**

- Evaluar los parámetros de crecimiento que corresponden a: altura de las plantas, área de las hojas y longitud de raíces en presencia de metales pesados con y sin consorcios bacterianos.
- Determinar la concentración de Cu, Cd, Cr, Fe, Mn, As y Pb presentes en las raíces y parte aérea de las plantas.
- Analizar los factores de transferencia, translocación y bioacumulación de los metales en las plantas.

- Determinar la concentración de metales mencionados en la muestra de jal de mina.

## **HIPÓTESIS**

Nula: Las cepas de bacterias promotoras del crecimiento vegetal no ayudan a los procesos de fitorremediación de los jales de mina; ante el estrés de las plantas por los metales; ni modifican los factores de transferencia y bioacumulación de los metales.

Alternativa: Las cepas de bacterias promotoras del crecimiento vegetal ayudan a los procesos de fitorremediación de los jales de mina disminuyendo el estrés de las plantas y modificando los factores de transferencia y bioacumulación de los metales.



# CAPÍTULO I

## 1. ANTECEDENTES

### 1.1 Minería

La minería es el proceso por el cual se obtienen recursos naturales presentes en la corteza terrestre como los minerales y otros materiales no minerales con valor económico (Coll-Hurtado *et al.*, 2002). Dependiendo del tipo de del mineral explotado la actividad se puede definir en minería metalúrgica, que suelen ser empleados como materia prima; la minería no metalúrgica de donde se obtiene materiales para la construcción, materia prima para joyas y ornamentación.

La extracción de los minerales ha sido una práctica antigua desde la prehistoria, en la cual se utilizaban diversos minerales para crear herramientas o armas. Actualmente, es una industria importante que ha desarrollado técnicas, estudios y análisis físico-químicos a partir de los avances tecnológicos para mejorar la exploración y explotación de los yacimientos. Esto influye de manera positiva con el desarrollo económico debido a que el sector minero es de los más importantes para los países ya que es de los que más aportan al producto interno bruto (PIB) (Vilela-Pincay *et al.*, 2020; De Economía, s. f. 2023).

### 1.2 Minería en México

La industria minera en México es un sector crucial que aporta un gran valor a la economía nacional. La participación de este sector en el PIB del país fue de 2.5%, mientras que en el PIB industrial representó el 8.6%, colocándose como una de las cinco industrias más significativas en este rubro. A pesar de la tendencia decreciente de los años previos a la

pandemia de COVID-19, la minería en México experimentó un crecimiento del 7.1%, siendo una de las tasas más altas de todas las actividades productivas, lo cual contribuyó significativamente a la reactivación económica del país (Cámara minera de México, 2021).

Esto se debe a que México cuenta con una gran riqueza de recursos mineros lo cual ha permitido que el país ocupe lugares destacados en la producción mundial de minerales. En el año 2000 en la producción de dieciséis minerales: primero en plata, bismuto y celestita; cuarto lugar en arsénico, cadmio, grafito y molibdeno; quinto lugar en zinc, plomo y diatomita; séptimo lugar en sal; octavo lugar en feldespatos, manganeso y barita; noveno lugar en yeso. Mientras que en 2021 se posicionaron diecisiete minerales en los diez primeros lugares: primero en plata; segundo en fluorita; tercero en sulfato de sodio y wollastonita; cuarto celestita; quinto plomo, molibdeno, barita, diatomita, sulfato de magnesio; sexto zinc; octavo sal, yeso, cadmio, oro y feldespato; décimo lugar cobre. (Coll-Hurtado *et al.*, 2002; De Economía, s. f. 2023).

### **1.3 Efectos negativos de la minería**

A pesar de la gran importancia de la industria minera, no se puede dejar de lado el gran impacto ambiental que generan los procesos de minería. Las afectaciones se presentan en cualquiera de las etapas del desarrollo del proyecto como son:

- a) Exploración: Prospección y análisis del tipo de yacimiento, así como de la reserva y la viabilidad económica para la explotación.
- b) Desarrollo: Puesta en marcha. Preparación de tiro y socavones; construcción de vías de acceso y comunicaciones internas; construcción de instalaciones de la unidad minera.

- c) Operación: Consiste en la extracción de los minerales; posteriormente el proceso de molienda; concentración de los minerales y eliminación de residuos líquidos y sólidos vía presa de jales.
- d) Cierre: Implica; teóricamente, la restauración y rehabilitación del sitio al finalizar la explotación.

La gravedad del impacto va a depender de diversos factores como las características geográficas, tipo de minado, dimensión de la explotación, clase del mineral explotado, tratamiento del mineral y la gestión de los residuos finales.

#### **1.4 Consecuencias ambientales por la minería en México**

Actualmente, la minería cuenta con tecnologías que favorecen la extracción de minerales a gran escala. La implementación de prácticas como la explotación de tajos a cielo abierto, la aplicación de productos sumamente tóxicos como el cianuro y el mercurio, y el empleo de elevadas cantidades de agua, han causado daños ecológicos irreversibles.

Algunas entidades en el norte y centro de México que cuentan con gran presencia de actividades mineras suelen promover la exploración y explotación en territorios agrícolas, en zonas ambientales sensibles y regiones ocupadas por poblaciones indígenas o comunidades campesinas urbanas. En estas zonas, los desastres socioambientales han sido frecuentes, a menudo debido a la mala gestión de los residuos y a la falta de capacidad regulatoria institucional (Azamar Alonso *et al.*, 2021).

Algunos de los casos reportados más importantes han sido:

- La contaminación del río Chínipas en 2010, en Chihuahua (Mayorga, s. f.).

- La contaminación del río Marabasco y de la Reserva de la Biosfera de Manantlán con miles de litros de químicos de la presa de jales de la minera Peña Colorada, en 2013 (Verdebandera, 2009).
- La contaminación de los ríos Sonora y Bacanuchi por el derrame de 40 mil metros cúbicos de lixiviados de sulfato de cobre provenientes de jales de Grupo México, en 2014 (Valenzuela, s. f.).
- La contaminación del río Cata, en Guanajuato, en 2015, por el derrame de aproximadamente 1200 galones de lodos residuales de la pileta de jales (De Medios SA De CV Demos, 2015).
- Afectación del río San Martín en Zacatecas con más de 20 mil litros de agua contaminada con sedimentos en 2019 (Gaytán, 2019).
- El derrame de 6 mil metros cúbicos de jales en Durango en 2020 (De Protección Al Ambiente, s. f.). Entre otros.

### **1.5 Jales de mina**

El Servicio Geológico Mexicano (2019) define a los jales de mina como los apilamientos de material molido que quedan después de que los minerales de interés han sido extraídos de las rocas que los contienen. Aquí se encuentran restos de los minerales que no pudieron ser recuperados, partículas de los reactivos empleados en la separación del mineral y la roca. Los jales de mina pueden contener sulfuros metálicos residuales como la pirita ( $\text{FeS}_2$ ), galena ( $\text{PbS}$ ), esfalerita ( $\text{ZnS}$ ), calcopirita ( $\text{CuFeS}_2$ ), arsenopirita ( $\text{FeAsS}$ ) que son fuente de elementos potencialmente tóxicos (EPT) , sin embargo, otros metales pueden estar presentes como Cr, Hg, Ag, Al, Ni, Ba, Se, Cd (Gutiérrez Ruiz *et al.*, 2007; Romero *et al.*, 2007).

Los jales de mina muchas veces se encuentran abandonados y sin implementar ningún tipo de controles ambientales permitiendo que la acción del viento y la lluvia puedan provocar la dispersión de los contaminantes afectando directamente en el suelo, sedimentos y cuerpos de agua (Jiménez y Olvera-Balderas, 2019).

### **1.6 Dispersión de los contaminantes**

La dispersión de metales pesados en el entorno es un problema ambiental significativo. En las zonas lluviosas, la dispersión ocurre a través del drenaje ácido, que es el resultado de la oxidación de los sulfuros metálicos, y los escurrimientos superficiales, mientras que, en las zonas áridas, el viento es el principal medio de dispersión (Gutiérrez Ruiz *et al.*, 2007).

Existen varios factores que influyen en la dispersión de estos contaminantes provenientes de los relaves mineros como los factores geológicos; condiciones climáticas; concentración de los contaminantes; la presencia de sulfuros y ciertos minerales, así como la producción de minerales secundarios (Romero *et al.*, 2008).

Una vez presentes en el suelo, los metales pueden ser movilizados a través de la solución del suelo o ser redistribuidos lentamente a través de la fase sólida dependiendo de la especie del metal y propiedades del suelo (Han *et al.*, 2003).

Las características del suelo que intervienen en la movilidad de los metales son: pH; capacidad de intercambio catiónico y aniónico; su composición iónica; potencial redox, materia orgánica; textura; entre otras (Méndez *et al.*, 2009).

Debido a su persistencia, los metales permanecerán en el sitio, lo que genera el riesgo de ingresar a la cadena trófica. Para esto deben ser primeramente transferidos del suelo

a la planta, lo que va a depender de su movilidad y biodisponibilidad de los contaminantes. Sin embargo, se ha demostrado que organismos como algunas especies de gasterópodos absorben algunos metales a través de la piel. Otros organismos, principalmente en algunos invertebrados terrestres, los elementos traza pueden penetrar las células de forma pasiva a través de canales siguiendo un gradiente de concentración por difusión (Dar *et al.*, 2019). Si bien algunos metales como Cu, Mn o Zn son fundamentales en funciones bioquímicas y fisiológicas, otros como Pb, Cd, Hg o As no aportan ningún beneficio a los organismos, incluso podrían presentar toxicidad aun a bajas concentraciones (García *et al.*, 2002; Montes Rocha, 2016; Ferré Huguet *et al.*, 2007).

El peligro de los metales pesados radica en su tendencia a bioacumularse, es decir, al aumento de su concentración en los organismos en un periodo de tiempo. La gran mayoría de organismos no son capaces de eliminar los metales pesados ingeridos por lo que se van acumulando en su sistema y a medida que estos organismos son consumidos por organismos más grandes, la concentración de metales se irá incrementando en cada nivel trófico (Zhuang *et al.*, 2009; Dar *et al.*, 2019).

### **1.7 Fitorremediación**

Con el fin de reducir la contaminación por metales pesados se ha optado por el desarrollo de nuevas tecnologías que sean sostenibles para la remediación de los sitios contaminados. Una alternativa conveniente es la fitorremediación gracias a que los resultados se obtienen mediante bioprocesos disminuyendo las fuentes de contaminación secundaria que se producen a partir de los procesos fisicoquímicos de saneamiento. De igual manera, los costos y consumos energéticos se ven disminuidos.

Los procesos de fitorremediación pueden implicar la extracción, inmovilización, degradación o retención de los contaminantes del sitio de interés siendo de gran importancia para la gestión de los de los ecosistemas debido a que los procesos se realizan preservando su estado biológico y físico (Timalsina *et al.*, 2022). Sin embargo, la eficiencia de la fitorremediación puede verse afectada por diferentes factores incluyendo la especie vegetal empleada y las condiciones ambientales como temperatura, el viento, salinidad, clima, pH, disponibilidad de nutrientes, etc.

Existen diferentes técnicas de fitorremediación, a continuación, se mencionará algunas de ellas para la remediación de contaminantes inorgánicos como los metales pesados.

#### 1.7.1 Fitoextracción:

Es el proceso de absorción de contaminantes del medio a través de las raíces de las plantas y su acumulación en la parte aérea. Generalmente implica el uso de especies de plantas hiperacumuladoras para absorber el metal y posterior la cosecha de la biomasa con el objetivo de reducir la concentración de los metales a niveles aceptables (Wei *et al.*, 2008).

#### 1.7.2 Fitodegradación o fitotransformación:

Consiste en el uso de las plantas para degradar o transformar los contaminantes, en sustancias menos tóxicas a través de la actividad enzimática que se produce en la rizósfera por la planta y microorganismos. De esta manera pueden ser asimilada por las plantas y secuestrados en sus vacuolas o fijados a estructuras celulares insolubles (Núñez López *et al.*, 2004).

### 1.7.3 Fitovolatilización:

Se produce cuando las plantas absorben los contaminantes del suelo y los transforman en especies volátiles y posteriormente los liberan a la atmósfera. La aplicación de esta técnica es limitada pues el contaminante no se elimina por completo ya que solo se transfiere del suelo a la atmósfera lo que significa que puede volver a depositarse (Núñez López *et al.*, 2004).

### 1.7.4 Fitoestabilización:

En esta estrategia las plantas presentan una importante elongación de las raíces que reduce la biodisponibilidad de los metales y otros contaminantes. Esto ocurre a través de reacciones como la precipitación, formación de complejos insolubles o mecanismos físicos como la adsorción. En la rizosfera, los metales se fijan a las raíces de las plantas o en la materia orgánica presente en el suelo y así, la biodisponibilidad y migración de los contaminantes se ve limitada. Las plantas que participan en la fitoestabilización deben ser del tipo excluyentes, es decir, que la acumulación de metales en la parte aérea es menor con respecto a la concentración presente en la rizósfera (Covarrubias y Peña, 2017).

## **1.8 Bacterias promotoras del crecimiento vegetal (BPCV)**

Las bacterias promotoras del crecimiento vegetal (BPCV) comprenden especies de un amplio número de géneros. Las bacterias promotoras del crecimiento vegetal habitan especialmente en la rizósfera que es donde las raíces de las plantas interactúan fuertemente con las poblaciones microbianas ya que ahí se encuentra una mayor concentración de bacterias que el resto del suelo ya que puede haber hasta  $10^9$  células



por gramo de suelo debido a que son atraídas por las sustancias excretadas por las raíces generando la relación planta-microorganismo (Contreras Montien *et al.*, 2017; Benjumeda Muñoz, 2017).

Por su parte las BPCV generan una relación simbiótica mutualista planta-bacteria, donde las bacterias reciben moléculas esenciales como carbohidratos, aminoácidos, lípidos o ácidos orgánicos mientras que las plantas se ven estimuladas mediante diferentes mecanismos directos o indirectos los cuales dependen de la cepa bacteriana. Algunas BPCV producen fitohormonas esenciales para favorecer el crecimiento como auxinas, citoquininas, giberelinas y la producción de etileno; otros compuestos producidos por las BPCV implican enzimas, osmolitos, biosurfactantes, sideróforos, ácidos orgánicos y antibióticos, además, ayudan con una mejor absorción de nutrientes y minerales, fijación de nitrógeno o tolerancia a estrés biótico y abiótico (Ma *et al.*, 2011; Rodríguez-Sahagún *et al.*, 2020).

### **1.9 Fitorremediación asistida con BPCV**

Las especies vegetales utilizadas en los sistemas de fitorremediación son tolerantes a ciertas concentraciones de metales pesados, sin embargo, su desarrollo se ve comprometido bajo estas condiciones; algunas veces su crecimiento es lento, tienen poca producción de biomasa y corta elongación de raíces. Por su parte, las BPCV tienen la capacidad de alterar el metabolismo celular de las especies vegetales por lo que las plantas pueden tolerar altas concentraciones de metales y desarrollarse en estos ambientes contaminados.

Con el objetivo de ayudar en la extracción de los metales, las bacterias son capaces de aumentar la biodisponibilidad de los metales al modificar la solubilidad, la disponibilidad

disminuyendo el pH del suelo, solubilización de P, liberación de quelantes o cambios redox. Entre la gran variedad de metabolitos producidos por las bacterias, los sideróforos son de gran importancia para la movilización y acumulación de los metales gracias que solubilizan formas no disponibles de Fe que contiene metales pesados. De igual forma, son capaces de formar complejos con iones metálicos que pueden ser asimilados por procesos mediados en las raíces (Ma *et al.*, 2011). Las BPCV también pueden influir en la movilización de los metales a través de la producción de ácidos orgánicos de bajo peso molecular como el gluconato; 2-cetogluconato; oxalato; citrato; acetato; malato; succinato entre otros, disminuyendo el pH del suelo o disolviendo fuentes de metales como ciertos minerales donde están presentes. También los biosurfactantes han demostrado ayudar en la solubilización y disponibilidad de los metales al facilitar la formación de complejos.

Por el contrario, con el objetivo de inmovilizar los contaminantes, las bacterias también pueden reducir la absorción o translocación de los metales al disminuir la biodisponibilidad induciendo a la unión de metales grupos funcionales aniónicos (grupos sulfhidrilo, carboxilo, amina y amida) inmovilizándolo y evitando su entrada a la raíz de la planta. De la misma forma la producción de polímeros extracelulares capaces de unirse a metales como polisacáridos, proteínas, sustancias húmicas, etc. Pueden quelar los metales reduciendo su toxicidad; como también pueden hacerlo los sideróforos o ácidos orgánicos producto de las bacterias.

De igual manera las bacterias pueden interactuar de manera directa con los metales para modificar su disponibilidad o disminuir su toxicidad: Producción de amoníaco o bases orgánicas que dan como resultado precipitados de hidróxidos metálicos; fijación de Fe y

Mn en la superficie celular; biotransformación de los compuestos metálicos como la metilación, desmetilación, formación de complejos, oxidación o reducción (Alves *et al.*, 2022; Ma *et al.*, 2011).

## CAPÍTULO II

### 2. METODOLOGÍA

#### 2.1 Selección del consorcio de BPCV para los tratamientos

Las cepas que conformaron los consorcios bacterianos ya han sido caracterizadas como BPCV con anterioridad y fueron proporcionadas por el laboratorio de cuerpo académico “BUAP-256” de ingeniería ambiental de la facultad de ingeniería química de la BUAP (Mendoza Hernández *et al.*, 2016). Dichos consorcios estuvieron constituidos de la siguiente manera:

<b>Consorcio 1</b>	<i>Serratia K120</i>	<i>Serratia Mc119</i>	<i>Escherichia N16</i>
<b>Consorcio 2</b>	<i>Enterobacter K131</i>	<i>Klebsiella Mc173</i>	<i>Enterobacter N9</i>

Tabla 1. Conformación de consorcios bacterianos

#### 2.2 Preparación del inóculo

Las cepas se sembraron en tubos de ensayo con 5 ml de caldo Luria Bertani (LB) para después realizar la siembra masiva en matraces erlenmeyer con 150 mL de caldo LB (Imagen 1). Se incubaron a 30°C durante 48h. Posteriormente las células bacterianas se separaron del medio por centrifugación a 8000 rpm por 15 minutos, fueron resuspendidas en una solución buffer de fosfatos y diluidas a 0.5 A que equivale a una concentración de  $1 \times 10^9$  UFC/mL.



Imagen 1. Preparación del inóculo.

### 2.3 Preparación de las macetas.

La muestra de jal de mina empleada en el experimento fue proporcionada por el laboratorio de cuerpo académico “BUAP-256” de la carrera de ingeniería ambiental de la Facultad de ingeniería química, la cual fue recolectada de jales de mina de Zimapán Hidalgo, México (Mendoza Hernández *et al.*, 2016).

El diseño experimental se conformó por cuatro tratamientos en bloques. El tratamiento T1 corresponde a las plantas inoculadas con el C1, el T2 inoculado con el C2, T3 al testigo y T4 al control. T1, T2 y T3 constaron de una mezcla homogénea de 80% jal de mina y 20% de sustrato comercial (800g de jal de mina y 200g de sustrato); el T4 fue el

control y se empleó 1000g de sustrato comercial sin jal de mina. En cada caso se llevó a capacidad de campo con la finalidad de contar con la humedad necesaria para que las semillas de *Helianthus annuus* pudieran germinar. En la tabla 2 se muestra la conformación de los tratamientos.

	<b>Inóculo bacteriano</b>	<b>Jal de mina</b>	<b>Sustrato comercial</b>
<b>T1</b>	C1	800g	200g
<b>T2</b>	C2	800g	200g
<b>T3 (Testigo)</b>	--	800g	200g
<b>Control</b>	--	--	1000g

Tabla 2. Preparación de macetas

## 2.4 Siembra en macetas

Las semillas se hidrataron durante una hora con agua destilada y se sembraron cuatro en cada maceta a 1 cm de profundidad. Enseguida se inoculó con 10 mL del cultivo de cada cepa correspondiente al consorcio (Imagen 2).



*Imagen 2. Siembra de macetas.*

## **2.5 Monitoreo de crecimiento**

Las macetas se regaron cada 48 horas con aproximadamente 130 mL para evitar la falta de humedad. Al mismo tiempo se midió la altura de las plantas y el área de las hojas cada 48 horas. Esto se realizó tomando una foto a la planta y una regla para después ser procesadas en el software ImageTool 3 (Imagen 3).



*Imagen 3. Medición de parámetros de crecimiento.*

## **2.6 Medición de raíces**

Después de la evaluación del crecimiento de las plantas, fueron cosechadas. Las raíces fueron lavadas con agua para eliminar el resto de suelo y se separaron cuidadosamente para tomar una foto con la regla a un lado y medir la longitud total de raíces por medio del programa ImageTool 3 (Imagen 4).





*Imagen 4. Medición de raíces*

## **2.7 Determinación de metales**

Las plantas se secaron a 70 °C por 72 horas. Posteriormente se trituraron con un mortero y fueron sometidas a una digestión ácida. Esta se realizó con aproximadamente 0.5g de la muestra seca con 10 ml de una solución compuesta por 2 mL de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, 5 mL de HNO<sub>3</sub> y 3 mL de HCl (Imagen 5). Terminada la digestión, el producto se filtró y fue recolectado en matraces aforados de 50 ml para ser diluidos con agua destilada. Para analizar los metales se realizó una curva de calibración multielemental. Los estándares de referencia empleados son de la marca Accu Trace™ y tienen una concentración de 1000 ppm.

Las lecturas de los metales presentes en las diferentes zonas de las plantas se midieron por la técnica de espectrofotometría de absorción atómica basándose en el método 3052 de la EPA (US EPA, 1996) (imagen 6).



*Imagen 5. Digestión ácida.*



*Imagen 6. Lectura de metales.*

## **2.8 Análisis de los factores de translocación, transferencia y bioacumulación**

El factor de translocación se evaluó de la siguiente manera:

$$TF = \frac{Ch}{Cr}$$

Por su parte el factor de bioacumulación se evaluó de la siguiente manera:

$$FBA = \frac{Ch + Cr}{Csol}$$

En el caso de los factores de transferencia, de la siguiente manera:

$$FBh = \frac{Ch}{Csol} \qquad FBr = \frac{Cr}{Csol}$$

De donde:

TF: Factor de translocación

FBA: Factor de bioacumulación

FBh: Factor de transferencia en parte aérea

FBr: Factor de transferencia en raíces

Cr: Concentración de metales en las raíces

Ch: Concentración de metales en la parte aérea

Csol: Concentración de metales en la muestra de suelo

(Olguín y Sánchez-Galván, 2012).

## 2.9 Análisis estadístico

Se evaluaron los parámetros de altura de las plantas, área de hojas y longitud total de raíces, así como las concentraciones de los metales a través de un análisis de varianza (ANOVA) para detectar diferencias entre los tratamientos con respecto al testigo con un nivel de significancia del 95%. Estos análisis se realizaron con el software GraphPad Prism 9.

## CAPÍTULO III

### 3. RESULTADOS Y DISCUSIONES

#### 3.1 Crecimiento de las plantas

El tratamiento control presentó los mejores valores de crecimiento de *Helianthus annuus*, mostrando una diferencia significativa para todas las evaluaciones realizadas de desarrollo en comparación con los demás tratamientos. Para el caso de los tratamientos T1, T2 y T3; en cuanto a la altura de las plantas (Gráfico 1) y el área de las hojas (Gráfico 2), no existió diferencia significativa ( $p < 0.05$ ).

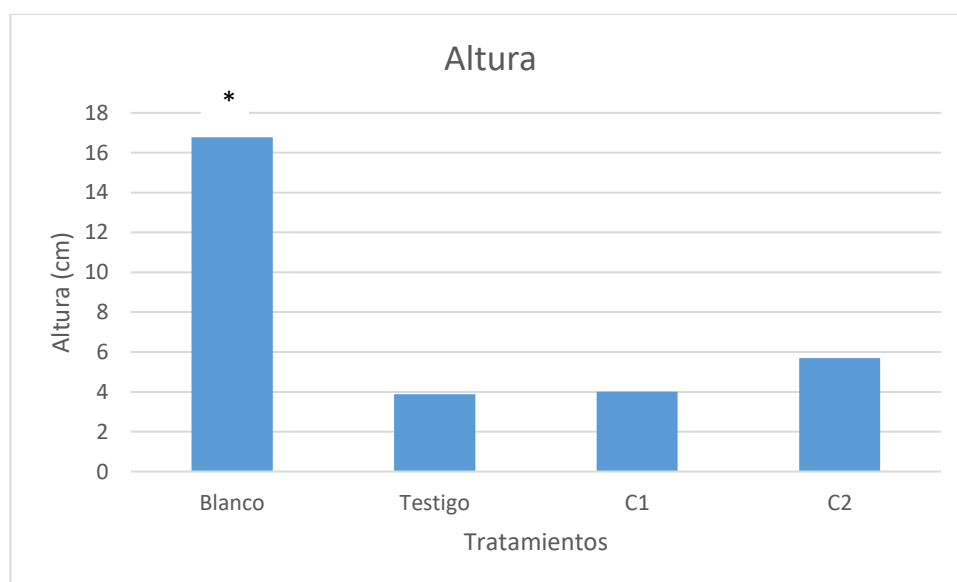


Gráfico 1. Altura de las plantas

\* Indica diferencias significativas

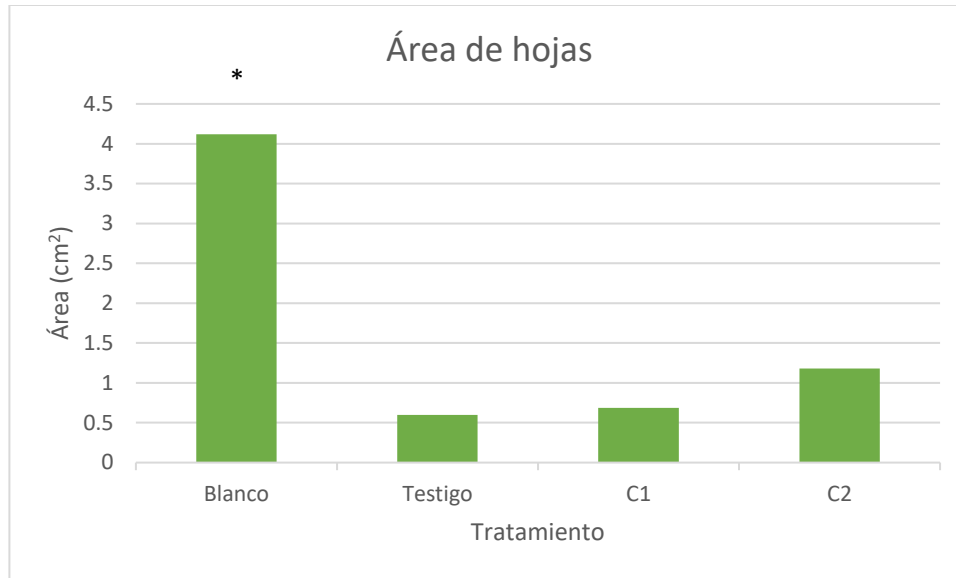


Gráfico 2. Área de las hojas

\* Indica diferencias significativas

El análisis de las raíces mostró que el tratamiento inoculado con el C2 presentó una longitud total de raíces significativamente mayor ( $p < 0.05$ ) en comparación con testigo (Gráfico 3). Esto se debe a que los consorcios de bacterias influyeron de manera positiva promoviendo su desarrollo.

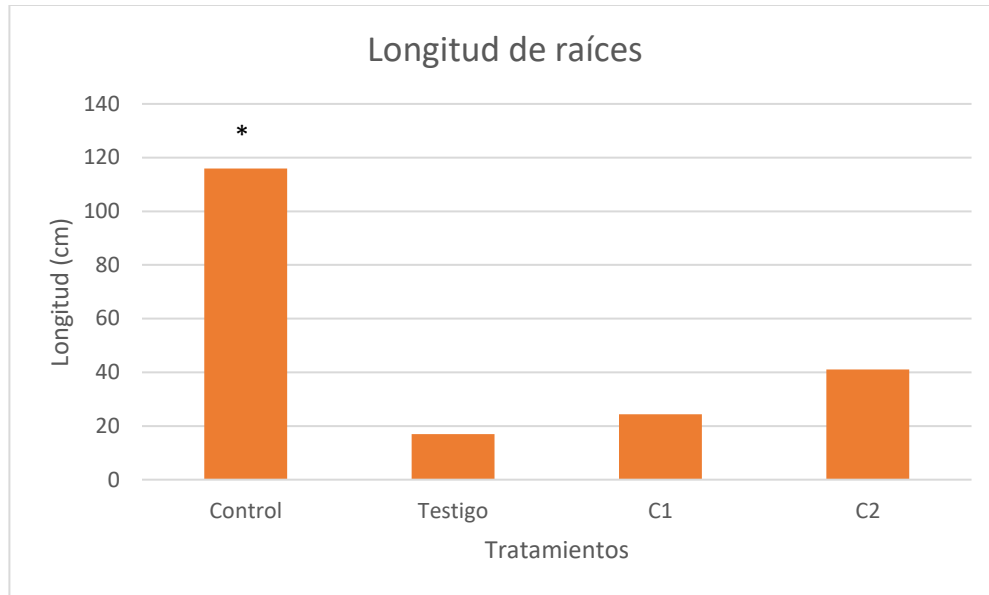


Gráfico 3. Longitud total de raíces.

\* Indica diferencia significativa.

### 3.2 Concentración de metales presentes en la muestra de Jal de mina

La caracterización de la muestra de suelo empleados en el experimento se realizó con anterioridad por Mendoza Hernández *et al.*, 2016; donde las concentraciones totales de los diferentes metales evaluados se muestran en la tabla 3.

METAL	CONCENTRACIÓN EN SUELO (mgKg <sup>-1</sup> )
Cd	191.40 ± 7.89
Cu	492.69 ± 34.67
As	7889.53 ± 23.54
Fe	4591.40 ± 9.98
Mn	917.93 ± 23.45
Pb	2211.60 ± 232.54
Cr	456.9 ± 8.43

*Tabla 3. Concentración de metales presentes en la muestra de jal de mina*

### **3.3 Concentración de metales en las plantas.**

Las concentraciones de los metales en las plantas mostraron el siguiente orden descendiente para los tres tratamientos: Fe > Mn > Pb > Cu > Cr > As > Cd. Se observó una diferencia significativa ( $p < 0.05$ ) en comparación con el testigo para los tratamientos inoculados tanto en la parte aérea como en las raíces.

La concentración de Cd siguió el orden: C2 > C1 > T tanto en la raíz como en la parte aérea presentando una diferencia significativa ( $p < 0.05$ ) en los tratamientos inoculados en comparación con el testigo. Además, la concentración de Cd fue mayor en las raíces que en la parte aérea para los tres tratamientos presentando valores de C2: 7.78 mgKg<sup>-1</sup>



<sup>1</sup>, C1: 6.77 mgKg<sup>-1</sup>, T: 6.29 mgKg<sup>-1</sup> en la parte aérea y C2: 26.44 mgKg<sup>-1</sup>, C1: 23.69 mgKg<sup>-1</sup>, T: 22.29 mgKg<sup>-1</sup> en raíces (Gráfica 4).

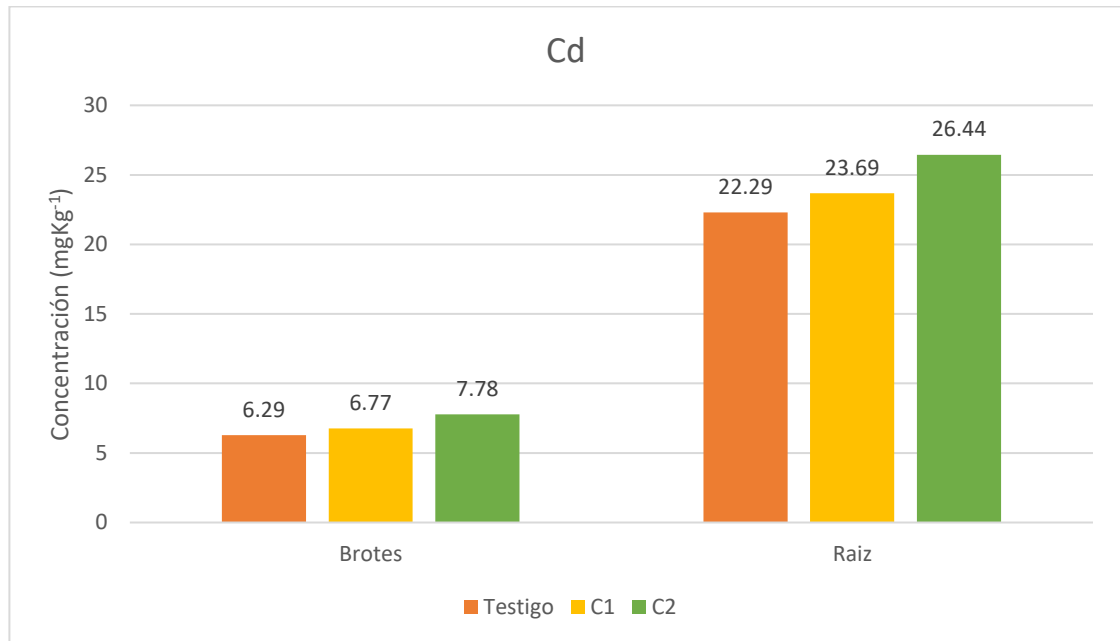


Gráfico 4. Concentración de Cd

La concentración de Cu siguió el orden: C2 > C1 > T en las raíces y parte aérea. La concentración de Cu mostró diferencias significativas ( $p < 0.05$ ) en los tratamientos inoculados en comparación con el testigo. La acumulación de Cu en las raíces se vio mayor que en la parte aérea presentando valores de C2: 70 mgKg<sup>-1</sup>, C1: 61.28 mgKg<sup>-1</sup>, T: 50.2 mgKg<sup>-1</sup> para la parte aérea, mientras que para las raíces fue C2: 284.52 mgKg<sup>-1</sup>, C1: 266.16 mgKg<sup>-1</sup>, T: 218.21 mgKg<sup>-1</sup>. Como se muestra en el gráfico 5.

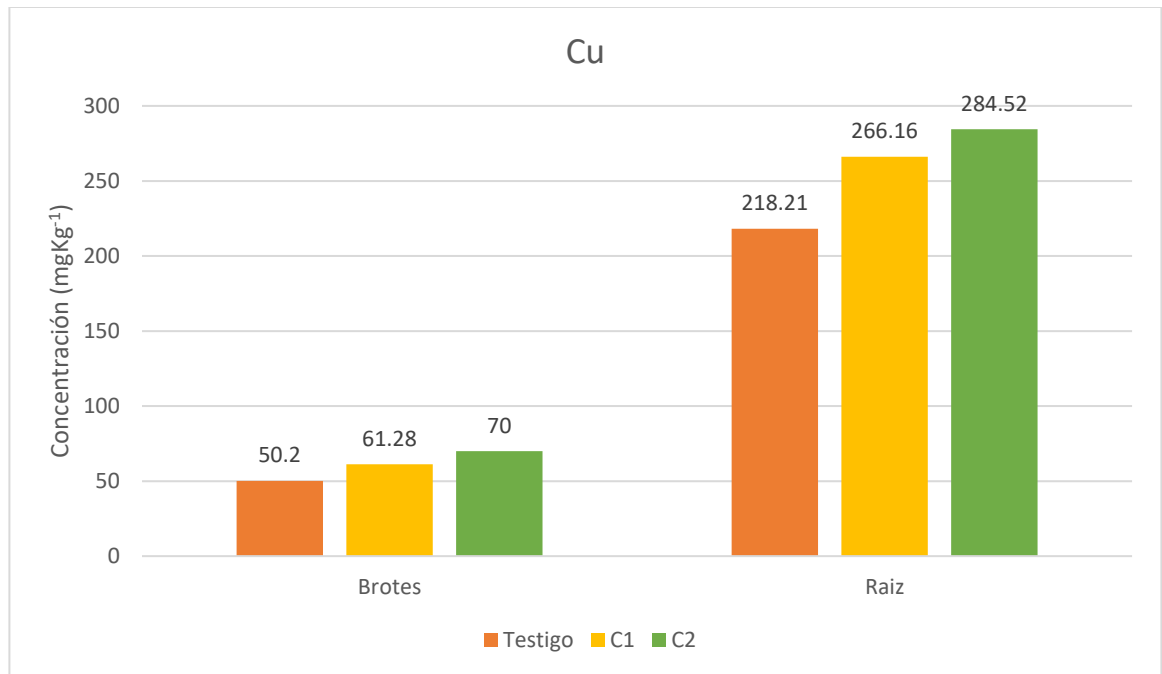


Grafico 5. Concentración de Cu

El gráfico 6 muestra que la concentración de As siguió el orden:  $C1 > T > C2$  para la parte aérea, mientras que para las raíces fue:  $C1 > C2 > T$ . Se encontró diferencias significativas ( $p < 0.05$ ) de la concentración en los tratamientos inoculados comparados con el testigo. La concentración en las raíces fue mayor en los tratamientos inoculados en comparación con la parte aérea presentando valores de C1:  $41.98 \text{ mgKg}^{-1}$ , C2:  $23.26 \text{ mgKg}^{-1}$  en la parte aérea y C1:  $146.38 \text{ mgKg}^{-1}$ , C2:  $135.71 \text{ mgKg}^{-1}$  para las raíces.

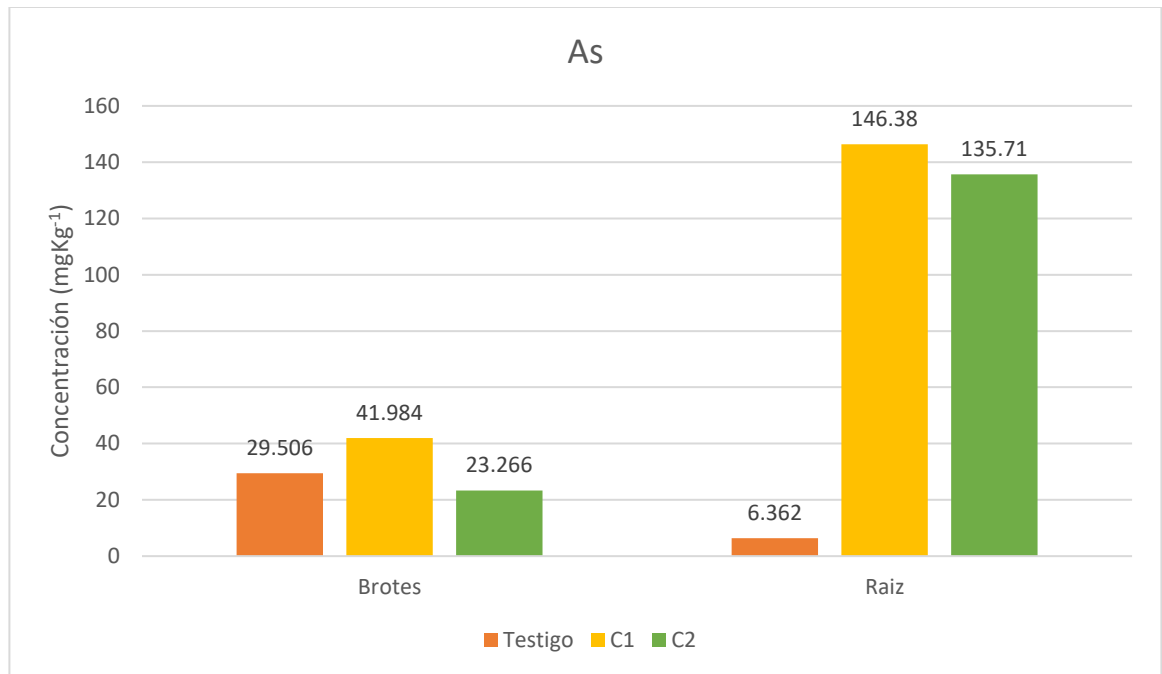


Gráfico 6. Concentración de As

La concentración de Fe en la parte aérea siguió el orden:  $C2 > C1 < T$ , mientras que para las raíces fue:  $C1 < C2 < T$ , presentando diferencias significativas ( $p < 0.05$ ) para los tratamientos inoculados comparados con el testigo. La mayor concentración de Fe se dio en las raíces de las plantas, principalmente del tratamiento inoculado con el C1 con  $36,858.08 \text{ mgKg}^{-1}$ , seguido del C2 con  $13299.58 \text{ mgKg}^{-1}$  y T con  $7668.91 \text{ mgKg}^{-1}$ . En la parte aérea se encontraron valores mas bajos como  $1935.63 \text{ mgKg}^{-1}$  para C2,  $1612.4 \text{ mgKg}^{-1}$  para C1 y  $906.76 \text{ mgKg}^{-1}$  para T como se muestra en el gráfico 7.

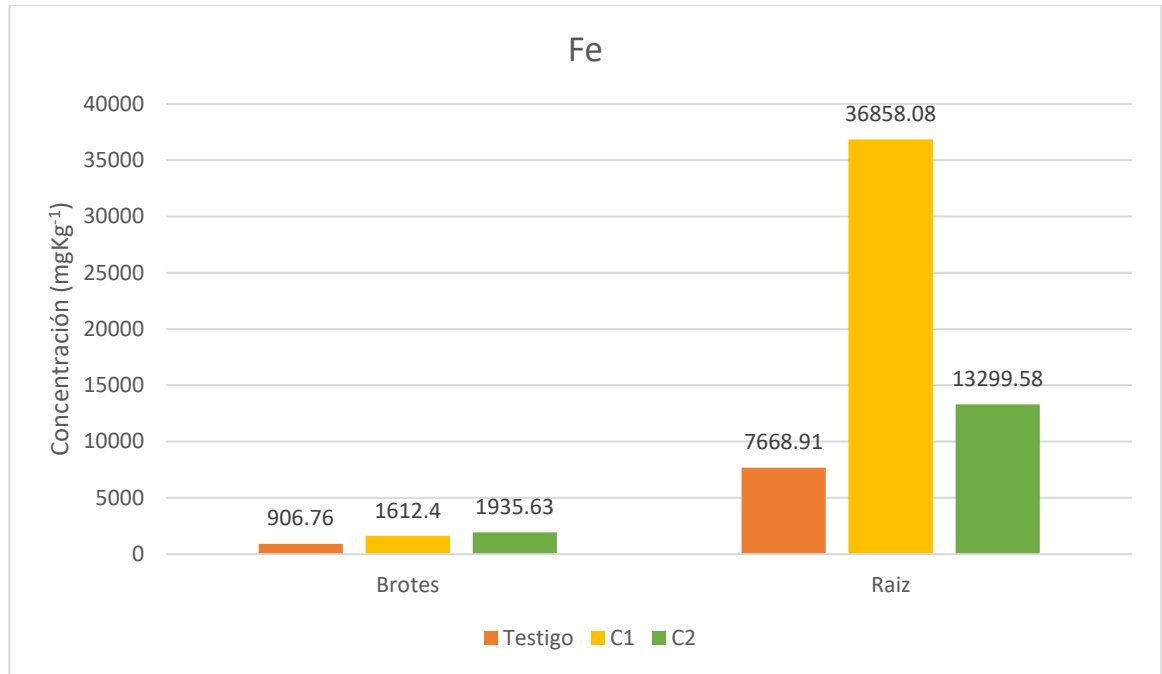


Gráfico 7. Concentración de Fe

El orden que siguieron las concentraciones de Mn en las plantas fue: T > C2 > C1 para la parte aérea y C1 > C2 > T para las raíces.

Se obtuvo una diferencia significativa ( $p < 0.05$ ) de la concentración de Mn en el testigo en comparación con los tratamientos inoculados en el caso de la parte aérea, mientras que en las raíces, la inoculación con los consorcios presentó diferencia significativa ( $p < 0.05$ ) en comparación con el testigo (Gráfico 8).

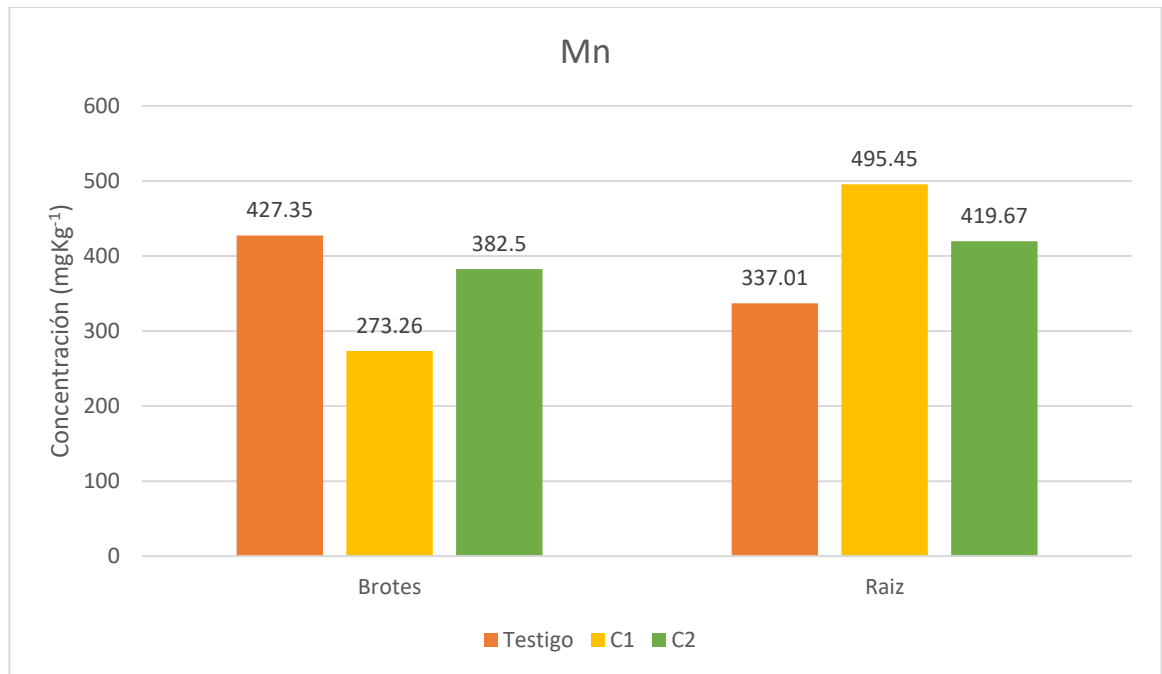


Gráfico 8. Concentración de Mn

La concentración de Pb en la parte aérea presentó el siguiente orden: C2 > C1 > T, mientras que en las raíces fue: C2 > T > C1. Se encontró diferencia significativa ( $p < 0.05$ ) por parte de los tratamientos inoculados en comparación con el T para el caso de la parte aérea donde se obtuvieron concentraciones de  $70.87 \text{ mgKg}^{-1}$  para C2,  $43.59 \text{ mgKg}^{-1}$  para C1 y  $27.84 \text{ mgKg}^{-1}$  para T. En cuanto a las raíces, el C2 y T presentaron diferencia significativa ( $p < 0.05$ ) en comparación con C1. La concentración en C2 fue  $464.01 \text{ mgKg}^{-1}$ , en T  $420.4 \text{ mgKg}^{-1}$  y C1  $346.96 \text{ mgKg}^{-1}$ . Lo que indica valores más altos en las raíces (Gráfico 9).

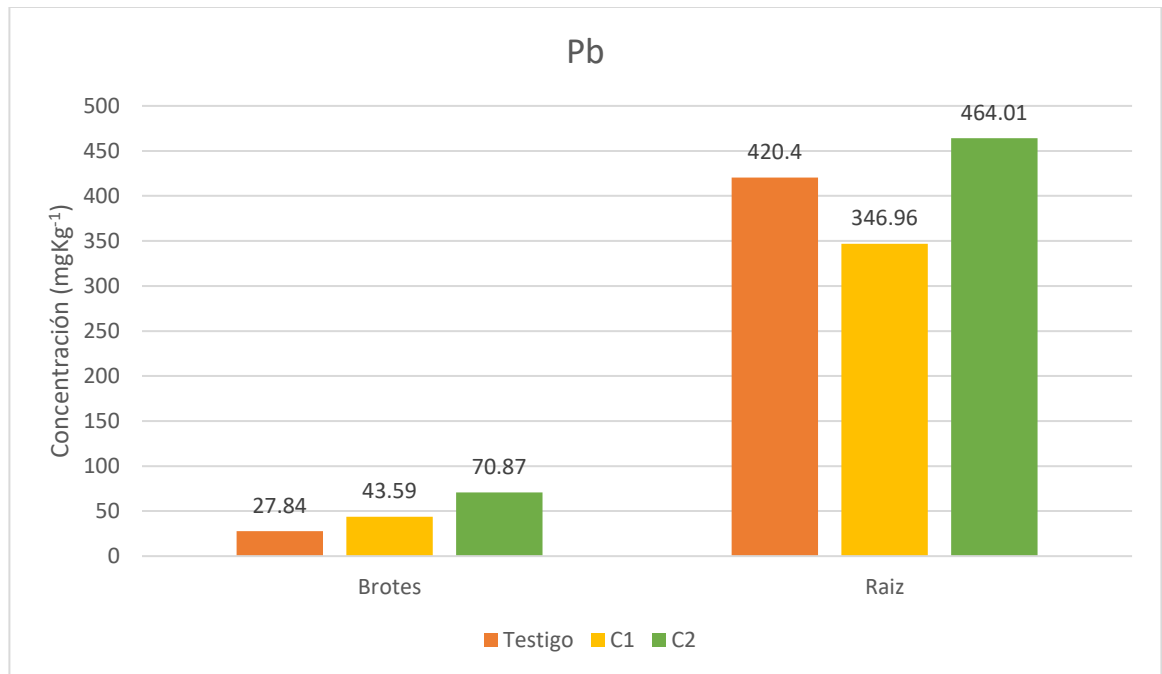


Gráfico 9. Concentración de Pb

El orden de concentración para Cr fue el siguiente: C1 > T > C2 para parte aérea y C2 > C1 > T para las raíces. En la parte aérea se presentó una diferencia significativa ( $p < 0.05$ ) en la concentración del C1 en comparación con el C2 y el T. Por su parte, en cuanto a las raíces el C2 y C1 presentaron diferencia significativa ( $p < 0.05$ ) en comparación con el testigo. La mayor concentración se llevó a cabo en las raíces presentando valores de  $226.31 \text{ mgKg}^{-1}$  para C2,  $198.03 \text{ mgKg}^{-1}$  para C1 y  $154.78 \text{ mgKg}^{-1}$  para T. Mientras que en la parte aérea fue de  $50.14 \text{ mgKg}^{-1}$  en C1,  $32.55 \text{ mgKg}^{-1}$  en T y  $23.266 \text{ mgKg}^{-1}$  en C2 (Gráfico 10).

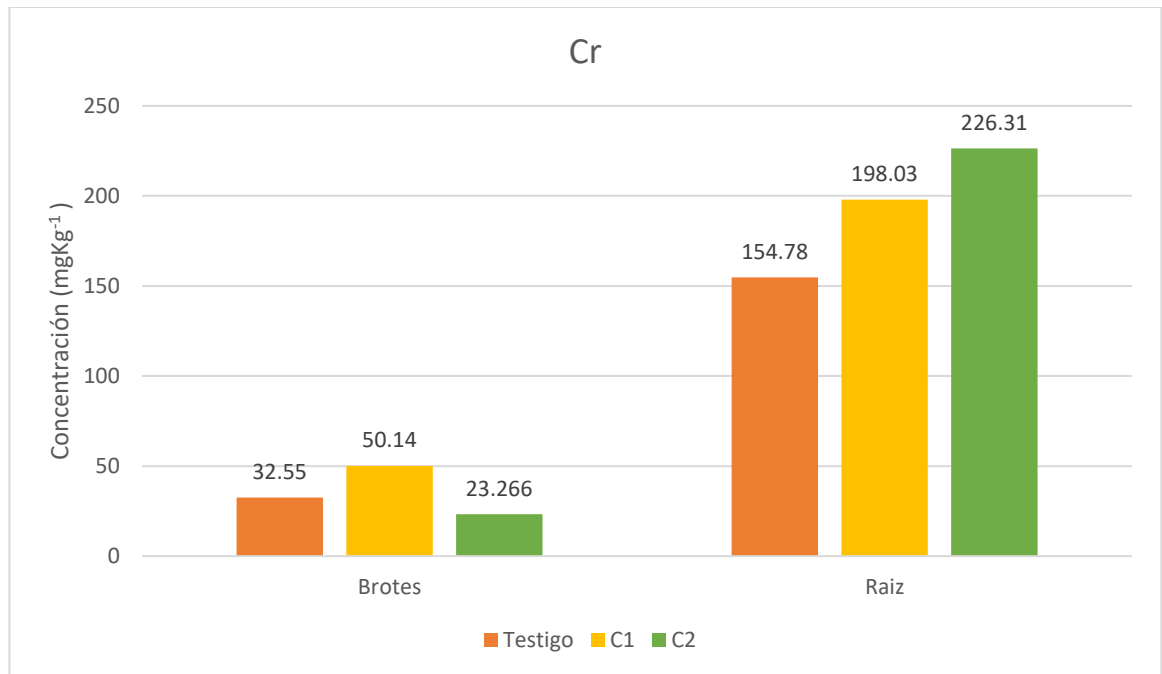


Gráfico 10. Concentración de Cr

### 3.4 Factor de translocación

El factor de translocación (FT) indica la capacidad de las plantas para transferir los metales de las raíces a la parte aérea. Los resultados del estudio presentaron valores de translocación relativamente bajos ( $FT < 1$ ) lo que indica que la concentración de los metales fue superior en las raíces (Wu *et al.*, 2021). Mn y As presentaron un  $FT > 1$  en el testigo, sin embargo, en los tratamientos inoculados con C1 y C2 el factor de translocación disminuyó significativamente ( $p < 0.05$ ) para As y Mn; en cuanto a Fe, este solo con el C1. Por otro lado, ambos consorcios aumentaron significativamente el FT para Pb. Los valores del FT se muestran en la tabla 4.

	<b>Cd</b>	<b>Cu</b>	<b>As</b>	<b>Fe</b>	<b>Mn</b>	<b>Pb</b>	<b>Cr</b>
<b>Testigo</b>	0.2821	0.23	4.637	0.1182	1.2680	0.0662	0.2102
<b>C1</b>	0.2857	0.2302	0.286*	0.0437*	0.5515*	0.1256*	0.2531
<b>C2</b>	0.2942	0.2460	0.171*	0.1455	0.9114*	0.1527*	0.28

Tabla 4. Factor de translocación

\* Indica diferencia significativa

### 3.5 Factor de bioacumulación

El factor de bioacumulación (FBA) indica la capacidad de las plantas para acumular los metales en su biomasa. Con base en esto, *Helianthus annuus* puede ser considerada como hiperacumuladora únicamente para Fe (FBA > 1) (Covarrubias y Peña, 2017).

La inoculación con los dos consorcios presentó una diferencia significativa ( $p < 0.05$ ) para Fe, As y Cr en comparación con el testigo (Tabla 5).

	<b>Cd</b>	<b>Cu</b>	<b>As</b>	<b>Fe</b>	<b>Mn</b>	<b>Pb</b>	<b>Cr</b>
<b>Testigo</b>	0.1493	0.5447	0.0045	1.8677	0.1664	0.2026	0.1400
<b>C1</b>	0.1591	0.6645	0.0238*	8.3788 *	0.1674	0.1765	0.5431*
<b>C2</b>	0.1787	0.7195	0.0201*	3.3182 *	0.1747	0.2418	0.634 *

Tabla 5. Factores de bioacumulación

\* Indica diferencia significativa



### 3.6 Factores de transferencia.

Los factores de transferencia en la parte aérea y los de transferencia en la raíz se muestran en la tabla 6 y 7 respectivamente.

	Cd	Cu	As	Fe	Mn	Pb	Cr
<b>Testigo</b>	0.0328	0.1018	0.0037	0.1974	0.4655	0.0125	0.0712
<b>C1</b>	0.0353	0.1243	0.0053	0.3511*	0.2976	0.0197	0.1097*
<b>C2</b>	0.0084 *	0.1420	0.0029	0.4215*	0.4166	0.0320	0.1387*

Tabla 6. Factores de transferencia en la parte aérea

\* Indica diferencia significativa

	Cd	Cu	As	Fe	Mn	Pb	Cr
<b>Testigo</b>	0.1164	0.4428	0.0008	1.6702	0.3671	0.1900	0.3387
<b>C1</b>	0.1237	0.5402	0.0185 *	8.0276 *	0.5397	0.1568	0.4334
<b>C2</b>	0.1381	0.5774	0.0172 *	2.8966 *	0.4571	0.2098	0.4953

Tabla 7. Factores de transferencia en la raíz

\* Indica diferencia significativa

Los ordenes del factor de transferencia para parte aérea y raíz en cada tratamiento se muestran en la tabla 8. Estos resultados indican que la transferencia de los metales a las diferentes zonas de las plantas varía dependiendo de los metales y del consorcio.

La transferencia de Fe y As en las raíces de los tratamientos inoculados con ambos consorcios incrementaron significativamente ( $p < 0.05$ ) en comparación con el testigo; como sucedió para Fe y Cr en la parte aérea. Por otro lado, el C2 disminuyó el factor de transferencia significativamente ( $p > 0.05$ ) en la parte aérea para el Cd.

	Factor de transferencia en parte aérea	Factor de transferencia en raíz
Testigo	Mn > Fe > Cu > Cr > Cd > Pb > As	Fe > Cu > Mn > Cr > Pb > Cd > As.
C1	Fe > Mn > Cu > Cr > Cd > Pb > As	Fe > Cu > Mn > Cr > Pb > Cd > As.
C2	Fe > Mn > Cu > Cr > Pb > Cd > As	Fe > Cu > Cr > Mn > Pd > Cd > As

Tabla 8. Orden decreciente de los factores de transferencia.

## DISCUSIÓN DE RESULTADOS

Los resultados de las evaluaciones a las concentraciones de los metales pesados presentes en la muestra de jal de mina como Pb y As superan a las concentraciones de referencia totales por tipo de uso de suelo indicadas en la NOM-147-SEMARNAT/SSA-2004; donde establece que se debe llevar a cabo la remediación del sitio cuando el análisis del suelo presente concentraciones superiores a las concentraciones de referencia. De los metales evaluados, la norma contempla Pb, Cr, As y Cd sin embargo, no establece concentraciones de referencia totales para Cu, Fe y Mn.

En el estudio realizado se observó que las plantas de *Helianthus annuus* mostraron una altura y área de hojas ligeramente mayor en los tratamientos inoculados con los

consorcios que en el testigo, sin presentar diferencia significativa ( $p < 0.05$ ). Por otra parte, el tratamiento inoculado con el C2 mostró una diferencia significativa ( $p < 0.05$ ) en la longitud total de las raíces con respecto al testigo, lo que tiene concordancia con lo informado por Mendoza-Hernández *et al.*, (2017), donde se evaluó el desempeño de las cepas inoculadas en diferentes especies vegetales. Estos ensayos se realizaron inoculando solo una cepa obteniendo que *Serratia K120*, *Serratia Mc119*, *Escherichia N16*, *Enterobacter K131*, *Klebsiella Mc173* y *Enterobacter N9* mostraron diferencias significativas en la longitud de raíces con respecto al testigo sin inocular, sin embargo, no se presentó una diferencia significativa en la altura de las plantas de *Helianthus annuus* y *Cucurbitapepo* (calabaza).

*Helianthus annuus* se comportó como una especie hiperacumuladora únicamente para Fe ya que su valor de bioacumulación fue  $> 1$ , no obstante, incrementó significativamente con la inoculación de los consorcios. La bioacumulación de los metales pesados en las plantas siguió el orden: Fe > Mn > Pb > Cu > Cr > As > Cd. Las concentraciones fueron superiores en la zona de las raíces y menores en la parte aérea pues los valores de FT fueron bajos. Contrario a lo que se demostró por García-Conde *et al.* (2015) donde evaluaron el desempeño de *Helianthus annuus* para la absorción y translocación de Cu y Pb encontrando que la planta es capaz de acumular los metales en la parte aérea presentando un alto valor de translocación, contrario al efecto que se produjo con la inoculación de los consorcios en este ensayo.

La morfología de las raíces es un factor importante para la tolerancia y acumulación de metales ya que las raíces de las plantas son las primeras en interaccionar con los metales del suelo. (Wei *et al.*, 2012). Los consorcios pudieron impactar en la acumulación de

metales por la longitud y tamaño de la raíz lo que aumenta la capacidad de la planta para absorber metales pesados en sus raíces (Ullah *et al.*, 2022). Con base en esto, Thongnok *et al.*, (2021) evaluaron el desarrollo de plantas de arroz en presencia de As, reportando que durante el periodo inicial el As no acumula altas concentraciones en las raíces lo que permite a las plantas seguir creciendo mientras se adaptan a la toxicidad aumentando la elongación radicular. Sin embargo, la exposición a largo plazo al As resultó en una acumulación de As en las raíces.

Por otro lado, diferentes géneros como *Enterobacter* y *Klebsiella* han sido evaluados para sistemas de remediación de sitios contaminados con metales pesados donde el desempeño de géneros como *Enterobacter* y *Klebsiella* fue eficaz para la biorremediación de Cd y Pb debió a la sorción de los metales, donde la eficiencia puede verse sumamente influenciada por la adición de una fuente de carbono. Además, *Klebsiella* ha demostrado tener un papel importante en sistemas de fitorremediación al disminuir el pH solubilizando más los metales (Oziegbe *et al.*, 2021; Huaranga *et al.*, 2017; Carpio *et al.*, 2016).

Por su parte, Ullah *et al.*, 2022, demostraron que la inoculación a plantas de arroz con *Serratia sp* y *Klepsiella sp* ayudaron en la tolerancia a diferentes concentraciones de Cd mejorando el crecimiento de plantas de arroz y promovieron significativamente ( $p < 0.05$ ) la translocación de Cd en comparación con las plantas no inoculadas. Las bacterias inoculadas en dicho experimento fueron por separado, a diferencia de lo que se realizó en este experimento, sin embargo, los resultados tienen similitud en cuanto a la influencia de las bacterias en la promoción de la tolerancia y desarrollo de las plantas, no obstante,

contradice los resultados en cuanto al el incremento significativo en la translocación de Cd. Esto indica que la inoculación con los consorcios puede afectar en la translocación de metales.

Para el factor de translocación en Mn y As, el tratamiento sin inocular presentaba valores >1, sin embargo, al ser inoculado con las bacterias, este se veía disminuido significativamente ( $p < 0.05$ ) debido probablemente a la producción de sideróforos por parte de las cepas *Escherichia N16*, *Enterobacter N9* y *Enterobacter K131* (Mendoza-Hernández *et al.*, 2017).

## CONCLUSIONES

- La inoculación de *Helianthus annuus* por el C2 promovió el desarrollo de raíces significativamente ( $p < 0.05$ ) en comparación con el testigo.
- La inoculación con el C1 y C2 disminuyeron el FT de As, Mn y Pb ( $p < 0.05$ ).
- El C1 y C2 incrementaron significativamente ( $p < 0.05$ ) el factor de bioacumulación de As, Fe y Cr.
- *Helianthus annuus* se comporta como planta hiperacumuladora para Fe. Sin embargo, la acumulación puede aumentar significativamente ( $p < 0.05$ ) al ser inoculada con el C1 y C2 respectivamente.
- Los resultados de este ensayo tienen el potencial de impactar positivamente en los objetivos de desarrollo sostenible de la ONU al abordar problemas ambientales y sociales críticos ayudando a reducir la contaminación del suelo y del agua, promover la seguridad alimentaria y la salud humana.

## BIBLIOGRAFÍA

1. Abraham Covarrubias, S. & Peña Cabriales, J. (2017). contaminación ambiental por metales pesados en México: problemática y estrategias de fitorremediación. *Revista Internacional de Contaminación Ambiental*, 33(esp01), 7-21.
2. Aguado-Santacruz, G. A., Moreno-Gómez, B., Jiménez-Francisco, B., García-Moya, E., & Preciado-Ortiz, R. E. (2012). IMPACTO DE LOS SIDERÓFOROS MICROBIANOS Y FITOSIDERÓFOROS EN LA ASIMILACIÓN DE HIERRO POR LAS PLANTAS: UNA SÍNTESIS. *Revista Fitotecnia Mexicana*, 35(1), 9.  
<https://doi.org/10.35196/rfm.2012.1.9>
3. Alves, A. R., Yin, Q., Oliveira, R., Silva, E. F. & Novo, L. A. (2022). Plant growth-promoting bacteria in phytoremediation of metal-polluted soils: Current knowledge and future directions. *Science of The Total Environment*, 838, 156435
4. Araujo, I., Angulo, N., De Cárdenas, C. J., Méndez, M. L. H., Morante, M., & Machado, M. (2004). Biorremediación de Suelos con Consorcio Bacteriano, Compostaje y Fertilización. *Boletín del Centro de Investigaciones Biológicas*, 38(3).  
<https://mail.produccioncientificaluz.org/index.php/boletin/article/view/32>
5. Azamar Alonso, A., Merino Pérez, L., Navarro González, C., & Peláez Padilla, J. (2021). Así se ve la minería en México (1.a ed.). Universidad Nacional Autónoma de México. <https://asisevelamineriaenmexico.org.mx/libro-asi-se-ve-la-mineria-en-mexico/>
6. Benjumeda Muñoz, D. (2017). *Bacterias promotoras del crecimiento vegetal: Mecanismos y aplicaciones* [Trabajo de fin de grado]. Universidad de Sevilla

7. Briffa, J., Sinagra, E. & Blundell, R. (2020). Heavy metal pollution in the environment and their toxicological effects on humans. *Heliyon*, 6(9), e04691
8. Cámara minera de México. (2022). *Informe anual CAMIMEX 2022*. CAMIMEX. [https://camimex.org.mx/application/files/3016/6247/9170/02\\_info\\_2022.pdf](https://camimex.org.mx/application/files/3016/6247/9170/02_info_2022.pdf)
9. Carpio, I. E. M., Franco, D., Sato, M. N., Sakata, S. K., Pellizari, V. H., Filho, S. A. V., & Rodrigues, D. F. (2016). Biostimulation of metal-resistant microbial consortium to remove zinc from contaminated environments. *Science of The Total Environment*, 550, 670-675. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2016.01.149>
10. Chen, H., Yuan, X., Li, T., Hu, S., Ji, J., & Wang, C. (2016). Characteristics of heavy metal transfer and their influencing factors in different soil–crop systems of the industrialization region, China. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 126, 193-201. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2015.12.042>
11. Coll-Hurtado, A., Salazar, M. T. S., & Morales, J. (2002). *La minería en México: geografía, historia, economía, y medio ambiente* I.5.2.
12. Dar, M. I., Green, I. D. & Khan, F. A. (2019). Trace metal contamination: Transfer and fate in food chains of terrestrial invertebrates. *Food Webs*, 20, e00116. <https://doi.org/10.1016/j.fooweb.2019.e00116>
13. De Economía, S. (s. f.). Minería. gob.mx. <https://www.gob.mx/se/acciones-y-programas/mineria>
14. De Medios SA De CV Demos, D. (2015, 20 junio). La Jornada: Minera provoca derrame tóxico en Guanajuato. *La Jornada*. <https://www.jornada.com.mx/2015/06/20/estados/025n3est>

15. De protección Al Ambiente, P. F. (s. f.). *NORMA OFICIAL MEXICANA NOM-147-SEMARNAT/SSA1-2004*. gob.mx. <https://www.gob.mx/profepa/documentos/norma-oficial-mexicana-nom-147-semarnat-ssa1-2004>
16. De Protección Al Ambiente, P. F. (s. f.). *Clausura Profepa a empresa minera que sufrió derrame de casi 6 mil metros cúbicos de jales en Durango*. gob.mx. <https://www.gob.mx/profepa/prensa/clausura-profepa-a-empresa-minera-que-sufrio-derrame-de-casi-6-mil-metros-cubicos-de-jales-en-durango>
17. De Oliveira Mesquita, F., Pedrosa, T. D., Batista, R. O., & De Andrade, E. M. (2021). Translocation factor of heavy metals by elephant grass grown with varying concentrations of landfill leachate. *Environmental Science and Pollution Research*, 28(32), 43831-43841. <https://doi.org/10.1007/s11356-021-13765-1>
18. Emenike, C. U., Jayanthi, B., Agamuthu, P., & Fauziah, S. (2018). Biotransformation and removal of heavy metals: a review of phytoremediation and microbial remediation assessment on contaminated soil. *Environmental Reviews*, 26(2), 156-168. <https://doi.org/10.1139/er-2017-0045>
19. Ferré Huguet, N., Schuhmacher, M., Llobet, J. M. & Domingo, J. L. (2007). *Metales pesados y salud*. Mapfre.
20. García, C., Moreno, J. L., Fernández, M. T. H. & Polo, A. (2002). Metales pesados y sus implicaciones en la calidad del suelo. *Centro de Edafología y Biología Aplicada del Segura*. Gutiérrez-Ruiz, M., Romero, F. J. & Gonzalez-Hernandez, G. (2007). Suelos y sedimentos afectados por la dispersión de jales inactivos de sulfuros metálicos en la zona minera de Santa Bárbara, Chihuahua, México. *Revista Mexicana De Ciencias Geológicas*, 24(2), 170-184.



21. García-Conde, K. B., Colunga-Urbiña, E. D., Amador-Hernández, J., Velásquez-Manzanares, M., & Garza-Rodríguez, I. M. (2013). Caracterización química de *Helianthus annuus* para evaluar su poder fitorremediador. *Asociación Mexicana de Química Analítica*.
22. Gaytán, K. (2019, 5 junio). *Zacatecas: Confirman contaminación por Mina San Martín (NTR)* – *Agua.org.mx*. *Agua.org.mx*. <https://agua.org.mx/zacatecas-confirman-contaminacion-por-mina-san-martin-ntr/>
23. Gutiérrez-Ruiz, M., Romero, F. J. & Gonzalez-Hernandez, G. (2007). Suelos y sedimentos afectados por la dispersión de jales inactivos de sulfuros metálicos en la zona minera de Santa Bárbara, Chihuahua, México. *Revista Mexicana De Ciencias Geológicas*, 24(2), 170-184
24. Han, F., Banin, A., Kingery, W. L., Triplett, G. B., Zhou, L. P., Zheng, S., & Ding, W. (2003). New approach to studies of heavy metal redistribution in soil. *Advances in Environmental Research*, 8(1), 113-120. [https://doi.org/10.1016/s1093-0191\(02\)00142-9](https://doi.org/10.1016/s1093-0191(02)00142-9)
25. Hahn, J., Mann, B., Bange, U. & Kimmel, M. (2019). Horizon-specific effects of heavy metal mobility on nitrogen binding forms in forest soils near a historic smelter (Germany). *Geoderma*, 355, 113895. <https://doi.org/10.1016/j.geoderma.2019.113895>
26. Huaranga, Y. C., Surco, V. Q., & Liza, S. E. C. (2017). BIORREMEDIACION MEDIANTE LA ASOCIACIÓN ENTRE MICROORGANISMOS Y PLANTAS. *Cultura viva Amazónica*, 1(02). <https://doi.org/10.37292/riccva.v1i02.23>

27. Jieli, P., Ma, J., Wei, X., Zhang, C., Jia, N., Wang, X., Wang, E. T., Hu, D. G., & Wang, Z. (2021). Accumulation of beneficial bacteria in the rhizosphere of maize (*Zea mays* L.) grown in a saline soil in responding to a consortium of plant growth promoting rhizobacteria. *Annals of Microbiology*, 71(1). <https://doi.org/10.1186/s13213-021-01650-8>
28. Jiménez, M. S., & Olvera-Balderas, D. (2019). ELEMENTOS POTENCIALMENTE TÓXICOS (Cd, Hg, Pb Y Zn) EN SUELOS IMPACTADOS POR PLANTA RECICLADORA DE PLOMO (ZACATECAS, MÉXICO), A UNA DÉCADA DE PARAR OPERACIONES. *Revista Internacional De Contaminacion Ambiental*. <https://doi.org/10.20937/rica.2019.35.03.11>
29. Ma, Y., Prasad, M., Rajkumar, M. & Freitas, H. (2011). Plant growth promoting rhizobacteria and endophytes accelerate phytoremediation of metalliferous soils. *Biotechnology Advances*, 29(2), 248-258
30. Mayorga, P. (s. f.). El Concheño, la perniciosa mina de Carlos Slim. *Proceso*. <https://www.proceso.com.mx/reportajes/2021/2/4/el-concheno-la-perniciosa-mina-de-carlos-slim-257665.html>
31. Méndez, J. A. J., Ramírez, C. A., Gutiérrez, A. D. R., & García, F. G. (2009). Contaminación y fitotoxicidad en plantas por metales pesados provenientes de suelos y agua. *Tropical and Subtropical Agroecosystems*, 10(1), 29-44. <https://www.redalyc.org/pdf/939/93911243003.pdf>
32. Mendoza Hernández J. C., Stefani, P. V. Y., Janette, A. M., Melani, M. S. S., & Gabriela, P. O. (2016). Assessing the effects of heavy metals in ACC deaminase and

- IAA production on plant growth-promoting bacteria. *Microbiological Research*, 188–189, 53-61. <https://doi.org/10.1016/j.micres.2016.05.001>
33. Mendoza-Hernández, J. C., Vázquez-Delgado, O. R., Castillo-Morales, M., Varela-Caselis, J. L., Santamaría-Juárez, J. D., Olivares-Xometl, O., Morales, J. A., & Pérez-Osorio, G. (2019). Phytoremediation of mine tailings by *Brassica juncea* inoculated with plant growth-promoting bacteria. *Microbiological Research*, 228, 126308. <https://doi.org/10.1016/j.micres.2019.126308>
34. Mendoza-Hernández, J. L., Valdez-Morales, M., Grijalva, B. L. G., Muñoz-González, I. M. I., Morales, J. A., Hernández, M. A., & Osorio, G. M. (2017). Evaluación En El Crecimiento Y Nutrición De Las Plantas De Chícharo (*Pisumsativum*), Calabaza (*Cucurbita Pepo*) Y Girasol (*Helianthus Annuus*) Inoculadas Con BPCV. *Journal of agriculture and environmental sciences*, 6(2). <https://doi.org/10.15640/jaes.v6n2a6>
35. Molina, C. I., Ibáñez, C. & Gibón, F. (2012). Proceso de biomagnificación de metales pesados en un lago hiperhalino (Poopó, Oruro, Bolivia): Posible riesgo en la salud de consumidores. *Ecología en Bolivia: revista del Instituto de Ecología*, 47(2), 99-118. [http://www.scielo.org.bo/pdf/reb/v47n2/v47n2\\_a03.pdf](http://www.scielo.org.bo/pdf/reb/v47n2/v47n2_a03.pdf)
36. Montes Rocha, J. A. (2016). *Efecto de los metales pesados en el suelo de jales mineros de San Luis Potosí* [Tesis de maestría]. Universidad Autónoma de San Luis Potosí.
37. Montiel, R. A. C., Luna, B. E. G. & García, R. A. V. (2017). Efecto de las bacterias de suelo de bosque benéficas para plantas. *Jóvenes en la Ciencia: Verano de la Investigación Científica. Vol. 3, Num 2 (2017)*, 3(2), 943-947.

38. Nava-Ruiz, C. & Méndez-Armenta, M. (2010). Efectos neurotóxicos de metales pesados (cadmio, plomo, arsénico y talio). *Archivos de neurociencias (México, D.F.)*, 16(3), 140-147.
39. Núñez López, R. A., Meas Vong, Y., Ortega Borges, R. & Olguín, E. J. (2004). Fitorremediación: fundamentos y aplicaciones. *Academia Mexicana de Ciencias*, 55(3), 000414007.
40. Olguín, E. J., & Sánchez-Galván, G. (2012). Heavy metal removal in phytoremediation and phycoremediation: the need to differentiate between bioadsorption and bioaccumulation. *New Biotechnology*, 30(1), 3-8.  
<https://doi.org/10.1016/j.nbt.2012.05.020>
41. Oziegbe, O., Oluduro, A. O., Oziegbe, E. J., Ahuekwe, E. F., & Olorunsola, S. J. (2021). Assessment of heavy metal bioremediation potential of bacterial isolates from landfill soils. *Saudi Journal of Biological Sciences*, 28(7), 3948-3956.  
<https://doi.org/10.1016/j.sjbs.2021.03.072>
42. Ravanbakhsh, M., Sasidharan, R., Voeselek, L. A. C. J., Kowalchuk, G. A., & Jousset, A. (2018). Microbial modulation of plant ethylene signaling: ecological and evolutionary consequences. *Microbiome*, 6(1). <https://doi.org/10.1186/s40168-018-0436-1>
43. Reyes, A. M., Gómez, S. R., González, F. J. A., Tovar, L. A. G. M. & Valadez, F. J. R. (2007). Caracterización de Jales Mineros y Evaluación de su Peligrosidad con Base en su Potencial de Lixiviación. *Conciencia Tecnológica*, 35, 32-35.  
<https://dialnet.unirioja.es/descarga/articulo/6487519.pdf>

44. Romero, F., Armienta, M. A., & Gonzalez-Hernandez, G. (2007). Solid-phase control on the mobility of potentially toxic elements in an abandoned lead/zinc mine tailings impoundment, Taxco, Mexico. *Applied Geochemistry*, 22(1), 109-127. <https://doi.org/10.1016/j.apgeochem.2006.07.017>
45. Romero, F. J., Armienta, M. A., Gutiérrez, M. & Villaseñor, G. (2008). Factores geológicos y climáticos que determinan la peligrosidad y el impacto ambiental de Jales Mineros. *Revista Internacional De Contaminacion Ambiental*, 24(2), 43-54.
46. Rodríguez-Sahagún, A., Velasco-Jiménez, A., Castellanos-Hernández, O. A., Acevedo-Hernández, G., & Aarland, R. C. (2020b). Bacterias rizosféricas con beneficios potenciales en la agricultura. *Terra Latinoamericana*, 38(2), 333-345. <https://doi.org/10.28940/terra.v38i2.470>
47. SALGADO-BERNAL, I., CARBALLO-VALDÉS, M.E., MARTÍNEZ-SARDIÑAS, A., CRUZ-ARIAS, M. & DURÁN-DOMÍNGUEZ-DE-BAZÚA, M.C. Interaction of rhizosphere bacterial isolates with environmentally significant metals. *Water Technology and Sciences (in Spanish)*. Vol. III, No. 3, July-September, 2012, pp. 83-95
48. Servicio Geológico Mexicano. (2019, octubre). *Información ciudadana sobre jales*. <https://www.gob.mx/sgm/articulos/informacion-ciudadana-sobre-jales?idiom=es>
49. Shekhawat, K., Fröhlich, K., García-Ramírez, G. X., Almeida-Trapp, M., & Hirt, H. (2022). Ethylene: A Master Regulator of Plant–Microbe Interactions under Abiotic Stresses. *Cells*, 12(1), 31. <https://doi.org/10.3390/cells12010031>

50. Soto-Jiménez, M. F. (s. f.). Transferencia de elementos traza en tramas tróficas acuáticas. [https://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0188-88972011000300003](https://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0188-88972011000300003)
51. Thongnok, S., Siripornadulsil, W., & Siripornadulsil, S. (2021). AsIII-oxidizing and Cd-tolerant plant growth-promoting bacteria synergistically reduce arsenic translocation, toxicity and accumulation in KDML105 rice. *Environmental and Experimental Botany*, 192, 104660. <https://doi.org/10.1016/j.envexpbot.2021.104660>
52. Timalina, H., Gyawali, T., Ghimire, S. & Paudel, S. R. (2022). Potential application of enhanced phytoremediation for heavy metals treatment in Nepal. *Chemosphere*, 306, 135581. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2022.135581>
53. U.S. EPA. 1996. "Method 3050B: Acid Digestion of Sediments, Sludges, and Soils," Revision 2. Washington, DC.
54. Ullah, I., Mateen, A., Ahmad, M. I., Munir, I., Iqbal, A., Al-Ghamdi, K. A., Al-Solami, H. M., & Imran, M. (2022). Heavy metal ATPase genes (HMAs) expression induced by endophytic bacteria, "AI001, and AI002" mediate cadmium translocation and phytoremediation. *Environmental Pollution*, 293, 118508. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2021.118508>
55. Valenzuela, G. M. (s. f.). Derrame de tóxicos en Ríos Bacanuchi y Sonora: 8 años de contaminación, impunidad y tristeza. *El Heraldo de México*. <https://heraldodemexico.com.mx/nacional/2022/8/8/derrame-de-toxicos-en-rios-bacanuchi-sonora-anos-de-contaminacion-impunidad-tristeza-428717.html>
56. Velázquez-González, C., Ramírez, C. A. G., García, F. P., Villagómez-Ibarra, J. R. & Acevedo-Sandoval, O. A. (2010). FITORREMEDIACIÓN: UNA ALTERNATIVA PARA

ELIMINAR LA CONTAMINACIÓN. *Tropical and Subtropical Agroecosystems*, 14(2), 597-612.

57. Verdebandera, R. (2009, 17 junio). *Minas contaminan el río Marabasco con hierro - Verdebandera*. Verdebandera. <https://verdebandera.mx/minas-contaminan-el-rio-marabasco-con-hierro/>
58. Vilela-Pincay, W., Espinosa-Encarnación, M., & Bravo-González, A. (2020). La contaminación ambiental ocasionada por la minería en la provincia de El Oro. *Revista internacional de administración*. <https://doi.org/10.32719/25506641.2020.8.8>
59. Villalaz, C. C. (2005). *Mecánica de suelos y cimentaciones / Mechanics of Grounds and Laying of Foundations*. Limusa.
60. Wei, S., Li, Y., Zhan, J., Wang, S., & Zhu, J. (2012). Tolerant mechanisms of *Rorippa globosa* (Turcz.) Thell. hyperaccumulating Cd explored from root morphology. *Bioresource Technology*, 118, 455-459. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2012.05.049>
61. Wei, S., Teixeira da Silva, J. A. & Zhou, Q. (2008). Agro-improving method of phytoextracting heavy metal contaminated soil. *Journal of Hazardous Materials*, 150(3), 662-668. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2007.05.014>
62. Wu, B., Peng, H., Sheng, M., Luo, H., Wang, X., Zhang, R., Xu, F., & Xu, H. (2021). Evaluation of phytoremediation potential of native dominant plants and spatial distribution of heavy metals in abandoned mining area in Southwest China. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 220, 112368. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2021.112368>

63. Yoon, J., Cao, X., Zhou, Q., & Q, L., MA. (2006). Accumulation of Pb, Cu, and Zn in native plants growing on a contaminated Florida site. *Science of The Total Environment*, 368(2-3), 456-464. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2006.01.016>
64. ZHUANG, P., ZOU, H. & SHU, W. (2009). Biotransfer of heavy metals along a soil-plant-insect-chicken food chain: Field study. *Journal of Environmental Sciences*, 21(6), 849-853. [https://doi.org/10.1016/s1001-0742\(08\)62351-7](https://doi.org/10.1016/s1001-0742(08)62351-7)