



**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE QUERÉTARO**

**FACULTAD DE QUÍMICA**

“EFECTO DE LA INOCULACIÓN DE *Arthrobacter aurescens*, *Arthrobacter ilicis* y *Bacillus simplex* en *Nicotiana glauca* PARA LA FITORREMEDIACIÓN DE SUELOS CONTAMINADOS CON MERCURIO”

**TESIS INDIVIDUAL**

PARA OBTENER EL TÍTULO DE

**INGENIERO AGROQUÍMICO**

PRESENTA

**DANIELLA SERVÍN CERVANTES**

DIRIGIDA POR

**Dr. JUAN ANTONIO VALENCIA HERNÁNDEZ**

SANTIAGO DE QUERÉTARO, QUERÉTARO. 2024



Dirección General de Bibliotecas y Servicios Digitales  
de Información



Efecto de la inoculación de *Arthrobacter aurescens*,  
*Arthrobacter ilicis* y *Bacillus simplex* en *Nicotiana*  
*glauca* para la fitorremediación de suelos  
contaminados con mercurio

**por**

Daniella Servín Cervantes

se distribuye bajo una [Licencia Creative Commons  
Atribución-NoComercial-SinDerivadas 4.0 Internacional](https://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/).

**Clave RI:** FQLIC-236433



**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE QUERÉTARO**

**FACULTAD DE QUÍMICA**

“EFECTO DE LA INOCULACIÓN DE *Arthrobacter aurescens*, *Arthrobacter ilicis* y *Bacillus simplex* en *Nicotiana glauca* PARA LA FITORREMEDIACIÓN DE SUELOS CONTAMINADOS CON MERCURIO”

TESIS

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE

**INGENIERO AGROQUÍMICO**

PRESENTA

**DANIELLA SERVÍN CERVANTES**

DIRIGIDA POR

**Dr. JUAN ANTONIO VALENCIA HERNÁNDEZ**

Sinodales

Dr. Juan Antonio Valencia Hernández

Director

Dra. Dalia Elizabeth Miranda Castilleja

Sinodal

Dra. Rosalia Reynoso Camacho

Sinodal

Dra. Emma Fabiola Magallán Hernández

Sinodal

## DEDICATORIA

*A mis padres, Gerardo y Carolina.*

*A mis abuelos, a quienes les hubiera encantado verme titulada como ingeniera,  
casada y feliz.*

## **AGRADECIMIENTOS**

Al universo, por darme la oportunidad de poder encontrar a gente tan maravillosa en mi camino. A mis padres, que me han apoyado con sus palabras de aliento, sus detalles, su paciencia y su constancia desde el día uno cuando les conté que quería estudiar química, soy la mujer de hoy gracias a ustedes, a sus enseñanzas y carácter, gracias mamá por mí lado libre y salvaje, por enseñarme el amor a la naturaleza y el agradecimiento a la vida, gracias papá por mí lado estudioso y el amor a las palabras, la paciencia y dedicación, gracias a ambos por la inteligencia y el amor, sin amor no tenemos nada y yo lo tengo todo. Sí se logró, primera ingeniera de ambas familias.

A mi esposo, no hay cantidad de palabras en el vocabulario para poder agradecer todo lo que hiciste y sigues haciendo por mí, gracias por toda la ayuda, desde el día uno que te conté que iba a comenzar esta aventura de la tesis, gracias por llevarme a lo más profundo de la sierra de Querétaro y meterte a una mina conmigo, gracias por tu fuerza cuando la mía ya no podía, gracias por tu paciencia, gracias por tu solidaridad cuando me veías cansada, gracias por los dulces detalles que me dabas cuando mi estrés me consumía, gracias por los abrazos y los besos, gracias por ser mi soporte y siempre darme lo mejor de ti. Mi sol y mi luna, mi confidente y mejor amigo, mi esposo y un gran motor en mi vida, siempre vivirás en mis pensamientos y ahora en mis palabras, en mis escritos y en la eternidad de las letras.

A mi hermano, Iván, eres un ser de luz, gracias por ser mi confidente en esta vida, gracias por el apoyo y el gran amor que me das, gracias por tus palabras divertidas y siempre hacerme reír, la risa es una cosa maravillosa y tu tienes el don de provocarla sin esfuerzo. Espero que puedas seguir mis pasos en esta vida, pero contando tu propia historia, que tomes lo mejor de mi y lo hagas tuyo, confío en ti futuro ingeniero.

A mis amigos, en esta vida no se puede triunfar solo, y yo nunca estuve sola. Gracias a mis primeros tres amigos de la carrera, nos unió un sueño desde el día uno y nos mantiene unidos hasta la fecha. Gracias Luis por ser la persona más compasiva, inteligente y carismática que he conocido, no habiéramos podido terminar la carrera sin los cientos de dulces que comimos. Gracias David, por tu cariño y apoyo, siempre estuviste para mí, así como yo para ti, paso a paso hemos construido nuestro futuro, sigue construyendo el tuyo. Gracias Sergio, tu fuiste mi primer amigo en la universidad, recuerdo el primer día que hablamos y después de casi 7 años aquí seguimos, hablando. Gracias por tu apoyo incondicional y tu sabiduría, tu bondad y tu alegría, sigue brillando como lo hiciste ese primer día. Y a mi amiga Liz, me has enseñado tanto a lo largo de estos años, nos hemos visto crecer y cambiar, hemos cambiado tanto, de ser esas niñas de 15 años, con sueños y aspiraciones, a unas mujeres de 25, realizadas y felices, no puedo agradecerte todas esas veces que me escuchaste, todas las veces que me hiciste reír, gracias por tu amabilidad y

sinceridad, soy la mujer que soy porque tuviste una gran influencia en mí, tienes un lugar tan especial en mi corazón, gracias.

Agradezco infinitamente a mi director de tesis, Dr. Toño, gracias por haber creído en mí, por haberme ofrecido esta oportunidad de probarme a mí misma porque usted sabía el alcance de mis capacidades, gracias por el tiempo y dedicación que me brindó, gracias por los cafés y los dulces, gracias por todo. Descubrí una habilidad que no sabía que podía explotar, el mundo de la investigación siga impulsando a estudiantes a hacer investigación, es lo que necesita este mundo.

Agradezco a todas las personas que influyeron y me ayudaron en esta aventura llamada titulación, gracias Dr. Santiago por haber financiado mis análisis, gracias a mis sinodales, son investigadoras que admiro con el alma, gracias a mis amigos agros, ustedes son lo más maravilloso que me pudo pasar, tome la mejor decisión de mi vida al ser agro y poder compartir mi vida con ustedes, gracias a las secretarias y equipo administrativo de la universidad, por toda la amabilidad y ayuda que me brindaron a lo largo de mi carrera, gracias a mis profesores, sigan formando mentes y jóvenes con sueños, y por último, estoy eternamente agradecida conmigo misma, por haber llegado hasta el final.

## ÍNDICE GENERAL

ÍNDICE DE CUADROS .....	vi
ÍNDICE DE FIGURAS .....	viii
RESUMEN .....	x
INTRODUCCIÓN .....	1
1. ANTECEDENTES.....	5
1.1. Metales pesados .....	5
1.2. Origen de metales pesados en el suelo .....	5
1.3. Minería en México.....	6
1.4. Contaminación por metales pesados .....	9
1.5. Hg en el suelo .....	11
1.6. Biorremediación .....	12
1.7. Fitorremediación .....	14
1.8. <i>Nicotiana glauca</i> .....	16
1.9. Inoculación de bacterias .....	17
1.10. Rizobacterias .....	18
1.11. <i>Arthrobacter sp.</i> .....	19
1.12. <i>Bacillus spp.</i> .....	20
2. HIPÓTESIS.....	25
3. OBJETIVOS.....	26
3.1. General .....	26
3.2. Específicos.....	26
4. METODOLOGÍA.....	27
4.1. Materiales. ....	27
4.2. Métodos. ....	28
4.2.1. Obtención del suelo contaminado y semillas de <i>N. glauca</i> . ....	28
4.2.2. Análisis de mercurio.....	29
4.2.3. Caracterización del suelo (NOM-021-RECNAT-2000).....	30
4.2.3.1. Determinación de pH.....	30
4.2.3.2. Determinación de materia orgánica.....	30

4.2.3.3.	Determinación de nitrógeno inorgánico .....	30
4.2.3.4.	Determinación de textura .....	30
4.2.3.5.	Determinación de fósforo total.....	31
4.2.3.6.	Evaluación de la capacidad de intercambio catiónico (CIC).....	31
4.2.3.7.	Obtención del extracto de saturación. ....	31
4.2.3.8.	Determinación de la conductividad eléctrica (CE) .....	31
4.2.4.	Activación de bacterias. ....	31
4.2.5.	Prueba de la relación planta-bacteria expuestas al mercurio .....	33
4.2.6.	Conteo de bacterias utilizando el tallo y hoja.....	35
4.2.7.	Conteo de bacterias en suelo. ....	36
4.2.8.	Análisis estadístico .....	36
4.3.	Diseño Experimental. ....	36
5.	RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	38
5.1.	Caracterización de suelo.....	38
5.2.	pH .....	38
5.3.	Materia orgánica .....	40
5.4.	Nitrógeno .....	40
5.5.	Textura .....	41
5.6.	Conductividad eléctrica .....	41
5.7.	Fósforo.....	42
5.8.	Capacidad de intercambio catiónico .....	43
5.9.	Efecto de los microorganismos sobre las características morfológicas y la sobrevivencia de <i>Nicotiana glauca</i> . ....	44
5.10.	Sobrevivencia de <i>N. glauca</i> expuesta a Hg. ....	47
5.11.	Biomasa.....	48
5.12.	Análisis microbiológicos.....	51
5.13.	Análisis del contenido de mercurio en planta y suelo. ....	52
6.	CONCLUSIONES .....	57
7.	BIBLIOGRAFÍAS .....	58

## ÍNDICE DE CUADROS

Cuadro		Página
1	Producción minera estatal 2015-2019 (toneladas). Panorama minero del Estado de Querétaro (Subsecretaría de Minería, 2020).	7
2	Regiones mineras metálicos del estado de Querétaro. Panorama minero del Estado de Querétaro (Subsecretaría de Minería, 2020)	8
3	Regiones mineras no metálicos del estado de Querétaro. Panorama minero del Estado de Querétaro (Subsecretaría de Minería, 2020).	8
4	Principales minas en explotación de metálicos del estado de Querétaro. Panorama minero del Estado de Querétaro (Subsecretaría de Minería, 2020)	9
5	Principales formas de mercurio en la Naturaleza (Caiza-Caiza, 2018).	12
6	Especies fitorremediadoras (ECAMPA, 2019).	16
7	Taxonomía de <i>N. glauca</i> .	16
8	Investigaciones sobre <i>Arthrobacter aurescens</i> , <i>Arthrobacter ilicis</i> y <i>Bacillus simplex</i> como PGPR.	21
9	Reactivos.	27
10	Materiales.	27
11	Caracterización de los jale tratados con <i>N. glauca</i> y microorganismos.	38
12	Efectos de salinidad (FAO, 2017)	42
13	Valores de CIC para suelos ácidos y alcalinos (NOM-021-SEMARNAT2000).	43

14	Altura, número de hojas y sobrevivencia de <i>N. glauca</i> inoculada con los diferentes microorganismos del día 1 al 120.	44
15	Trabajos sobre fitorremediaciones de Hg.	54

## ÍNDICE DE FIGURAS

Figura		Página
	Mapa de potencial Geológico en la República Mexicana.	
1	Panorama minero del Estado de Querétaro (Subsecretaría de Minería, 2020).	6
2	Tipos y estrategias de biorremediación (ECAMPA, 2019).	13
3	<i>Nicotiana glauca</i> .	16
4	Jale minero Maconí, Querétaro (A). Mina la Negra, Querétaro. (B).	28
5	Diagrama de flujo de diseño experimental.	32
6	Activación de bacterias.	33
7	<i>Arthrobacter ilicis</i> . (A) <i>A. ilicis</i> en medio de cultivo; (B) Conteo de <i>A. ilicis</i> .	34
8	Almácigos con perlita.	34
9	Planta de <i>N. glauca</i> . (A) Plántula de 3 meses; (B) Planta de 5 meses.	35
10	<i>N. glauca</i> inoculada con bacteria.	35
11	Planta de <i>N. glauca</i> sometida a análisis microbiológicos (A). Tallo; Planta completa (B).	36
12	Cajas Petri con agar LB.	37
13	Disponibilidad de nutrientes dependiendo del pH.	39
14	Comparación de <i>N. glauca</i> a los 3 meses de edad en arena y jale.	45
15	Fitotoxicidad en <i>N. glauca</i> causada por absorción de Hg.	46

16	Biomasa de <i>N. glauca</i> a los cuatro meses de tratamiento. (A) masa de raíz en fresco (g); (B) masa de raíz en seco (mg); (C) masa de planta completa; (D) masa de tallo y hoja (mg).	49
17	Comparación entre tratamientos. (A) Control; (B) <i>A. aurescens</i> ; (C) <i>A. ilicis</i> , (D) <i>B. simplex</i> ; (E) Consorcio.	50
18	Plantas de <i>N. glauca</i> de 4 meses. (A) Control; (B) Comparación de control con jale sin bacteria.	50
19	UFC/cm <sup>2</sup> en tallo y hoja de planta después de los 120 días de tratamiento.	51
20	UFC/g de suelo después de 120 días de tratamiento.	51
21	Colonias bacterianas aisladas de tallo donde C3-1 fue el control, B1-1 <i>A. aurescens</i> , B2-1 <i>A. ilicis</i> , B3-1 <i>B. simplex</i> y T1-1 el consorcio.	52
22	<i>N. glauca</i> en jale Mina la Negra, Maconí.	54
23	Contenido de Hg en planta sometida a fitorremediación.	56

## RESUMEN

Los metales pesados son elementos químicos que, por medio de origen geogénico o antropogénico se convierten en los contaminantes más abundantes y comunes en los suelos. El objetivo del presente trabajo fue evaluar la capacidad de extracción y fijación de mercurio de *Nicotiana glauca* en simbiosis con las diferentes bacterias *Arthrobacter aurescens*, *Arthrobacter ilicis* y *Bacillus simplex*, las cuales fueron aisladas de jales mineros en la zona de Maconí, Querétaro. El trabajo se llevó a cabo con un control y 5 tratamientos, los cuales fueron plantas inoculadas con *Arthrobacter aurescens*, *Arthrobacter ilicis*, *Bacillus simplex*, plantas inoculadas con el consorcio de las 3 bacterias, plantas sin inoculación de bacterias. Se inocularon las plantas con 1 mL de las rizobacterias una vez por semana durante cuatro meses. Se evaluó la cantidad de mercurio extraída por la planta presente en el suelo y la cantidad de microorganismos presentes en suelo-planta mediante la realización de análisis bioquímicos. Como resultados obtenidos, las bacterias cambiaron las propiedades químicas del suelo, disminuyendo su pH y por consiguiente aumentando la materia orgánica, la conductividad eléctrica y la capacidad de intercambio catiónico. Se obtuvo un valor de 79 mg/kg de Hg inicial en el jale y no hubo una diferencia significativa para los resultados con tratamientos. En cuanto a la fijación de Hg en la planta, se destacó *A. ilicis* con el mayor valor de 1.4033 mg/kg. Para los resultados de masa de raíz, el único tratamiento que tuvo un resultado significativo fue en control, quien además tuvo el 100% de sobrevivencia. Se pudo concluir con este trabajo que las bacterias *Arthrobacter aurescens*, *Arthrobacter ilicis* y *Bacillus simplex* demostraron ser parte esencial para la fijación de Hg en la biomasa de *Nicotiana glauca*, además de que también indicaron ser el factor principal de la sobrevivencia de la planta, ayudándole con el estrés ocasionado por la fitotoxicación.

## INTRODUCCIÓN

La definición de suelo depende de qué área de interés se esté abordando. Para la ingeniería civil es el material sobre el cual se construye, para la ecología es una capa delgada de la tierra que se encuentra entre la atmósfera y la roca, que sostiene la vida en los ecosistemas terrestres. Para la edafología es un cuerpo natural que consiste en capas (horizontes del suelo) compuestas por roca madre, minerales, materia orgánica, agua y aire. Sin importar de cuál sea la definición que escojamos, el suelo es crucial para la vida y el desarrollo humano (SEMARNAT, 2012).

México cuenta con una gran diversidad de suelos ya que existen 26 de los 32 grupos de suelos reconocidos por el Sistema Internacional Base Referencial Mundial del Recurso Suelo, siendo los Leptosoles con un 28.3% del territorio los más dominantes (SEMARNAT, 2012). A pesar de contar con esta magnífica diversidad, un gran porcentaje del suelo se encuentra contaminado, se estima que 4.1 millones de m<sup>2</sup> están contaminados por distintos tipos de residuos peligrosos ocasionados por actividades de industria, actividades de minería, accidentes durante el almacenamiento, transporte o transvase de sustancias y la disposición clandestina e irregular de residuos (Programa Nacional de Remediación de Sitios Contaminados, 2021).

Dentro de los contaminantes que se consideran preeminentes en México debido a su persistencia en el ambiente y su alta toxicidad se encuentran: plaguicidas organoclorados, furanos, hexaclorobenceno, bifenilos policlorados, cadmio, plomo cromo y mercurio (INECC, 2007). El enfoque directo de este trabajo son los suelos contaminados con mercurio por la industria minera. La minería es una de las actividades económicas más esenciales para México, ya que representa el inicio de todas las cadenas productivas industriales además de generar 379,000 empleos directos y 2.27 millones de empleos indirectos (CAMIMEX, 2020). La minería en México es uno de los sectores económicos más regulados de las actividades económicas del país, contando con un marco regulatorio que abarca desde el artículo 27 constitucional con una ley minera, un reglamento de ley minera, 27

diferentes leyes y sus reglamentos, 9 Normas Oficiales Mexicanas hasta 59 artículos, sanciones específicas y artículos transitorios (Ley minera, 2022).

El mercurio (Hg) tiene numerosos efectos sobre la salud de las cuales se destacan la toxicidad cardiovascular, la neurotoxicidad, la nefrotoxicidad, la inmunotoxicidad y la carcinogenicidad (ONU, 2022). El mercurio se libera al ambiente a partir de la erosión de las rocas que lo contienen, llegando así a aguas superficiales y subterráneas, aire y suelo. Las concentraciones de mercurio en suelos no contaminados oscilan entre 0.02 y 0.04 mg/kg (Camargo-García, 2014). La Secretaría de Medio Ambiente y Recursos Naturales y la Secretaría de Salud establecen una concentración máxima de 23 mg/kg para suelos de uso agrícola, residencial y comercial, mientras que 310 mg/kg para suelos de uso industrial (NOM-147, 2007). Estas concentraciones varían tanto por la contaminación antropogénica como por las propiedades fisicoquímicas del suelo tales como el pH, la conductividad eléctrica, la materia orgánica, los iones cloro y los óxidos de Fe y Mn (Lominchar y col., 2010). Reportes ambientales indican que en México podrían existir millones de toneladas de jales disgregados a lo largo del territorio mexicano, siendo los estados de Zacatecas, San Luis Potosí, Guerrero, Sonora y Querétaro los que presentan una mayor contaminación por Hg (Covarrubias y col., 2017).

El pH es uno de los factores más importantes dado que afecta la especiación y estabilidad del mercurio en el suelo. La mayoría de las especies de mercurio están cargadas positivamente a un pH bajo y a medida que este va aumentando las formas hidroxiladas son las predominantes (Lominchar y col., 2010).

La fitorremediación se basa en el uso de plantas y microorganismos asociados con ellas, así como las técnicas agronómicas y enmiendas de suelos capaces de liberar o transformar a los contaminantes de la matriz del suelo en compuestos inocuos y estables (Haro-Altamirano y col., 2020). Entre los microorganismos del suelo que pueden ser utilizados para la fitorremediación se encuentran las rizobacterias promotoras del crecimiento de plantas, las cuales la mayoría toleran naturalmente a los metales pesados y son capaces de acumularlos, ayudando así a las plantas a contrarrestar sus efectos (Hernández-Carrillo, 2022). Bacterias de los géneros

*Rhizobium*, *Agrobacterium*, *Arthrobacter*, *Microbacterium*, *Curtobacterium*, *Rhodococcus*, *Xanthomonas* y *Pseudomonas*, han mostrado resultados prometedores al ser empleados en la fitorremediación (Covarrubias y col., 2017).

En general se utilizan plantas con alta biomasa para extraer los metales pesados del suelo al absorberlos en el tejido vegetal cosechable. La efectividad de este método depende principalmente de la biodisponibilidad de los contaminantes para las raíces y los procesos de acumulación, traslocación y absorción (Tafur y col., 2019). La fitorremediación llega a ser exitosa cuando las especies de plantas utilizadas pueden absorber y almacenar concentraciones altas de contaminantes (Delgadillo-López y col., 2011).

La acumulación de metales pesados en las plantas produce respuestas bioquímicas y fisiológicas significativas, existiendo una relación directa entre las características del suelo, las características bioquímicas de la planta y la concentración de metales pesados (Tafur y col., 2019). Son de interés para la fitorremediación las plantas que crecen en sitios mineros activos o abandonados, ya que son genéticamente tolerantes a altas concentraciones de metales pesados y por lo tanto su uso puede aumentar la efectividad del método (Coto y col., 2012).

Una de las plantas que se encuentran en casi todo México y principalmente en zonas mineras y sitios de eliminación de residuos es *Nicotiana glauca*, la cual es una planta perenne que pertenece a la familia de las *solanaceas*. *Nicotiana glauca* ha sido utilizada una infinidad de veces para la fitorremediación de suelos contaminados por B, Cd, Pb, sin embargo, los trabajos con Hg son escasos (CarrilloHernandez, 2022).

Por lo tanto, la siguiente tesis está dirigida a la fitorremediación con *N. glauca* de suelos mineros (jales) ubicados en la zona Minera San Joaquín de la localidad de Maconí en Cadereyta de Montes, Querétaro, ubicada a una latitud 20° 50 ' 5.07" y a una longitud 99° 32' 29.517", que se encuentran contaminados con mercurio.

La presente investigación tiene como tema principal al suelo, la razón para realizar este trabajo es la gran explotación de suelos mineros que se ha tenido a lo largo de los años en México, dando como resultado miles de metros cuadrados de suelo contaminado y de acuerdo con el profesor Gilberto Hernández Silva, investigador del

Instituto de Geociencias de la Universidad Autónoma de México, dejando al municipio de San Joaquín como el más contaminado por mercurio en todo México (De la Torre, 2017). Al poder fitorremediar esta gran cantidad de suelo que es considerado como “suelo muerto” o “suelo perdido”, estos podrían tener un segundo uso y con mayor seguridad. Por último, se les podría dar una mejor calidad de vida a los habitantes de estas comunidades, ya que están expuestos directamente a este metal pesado, causando enfermedades y una estimación de vida más corta.

## **1. ANTECEDENTES**

### **1.1. Metales pesados**

El término “metal pesado” se puede definir de varias maneras, estos son un grupo de elementos químicos los cuales principalmente son metales de transición, semimetales, lantánidos y actínidos (Hernández-Carrillo, 2022). Algunas de las maneras en las que se pueden clasificar son mediante el peso atómico y la densidad; el cual define a un metal pesado como un elemento químico comprendido entre 63.55 (Cu) y 200.59 (Hg) UMA con una densidad entre 4 g/cm<sup>3</sup> hasta 7 g/cm<sup>3</sup>. (Ministerio para la transición ecológica y el reto demográfico, s.f.; Rodríguez Heredia, 2017).

Debido al carácter acumulativo y de permanencia que tienen los metales, éstos se encuentran en los diversos compartimentos ambientales como aire, agua, suelos, flora y fauna. No todos los metales de densidad alta son tóxicos en concentraciones normales sin embargo hay una serie de metales pesados más conocidos por su tendencia a representar serios problemas medioambientales, los cuales son: mercurio (Hg), plomo (Pb), cadmio (Cd) y talio (Tl), así como el cobre (Cu), zinc (Zn) y cromo (Cr) (Ministerio para la transición ecológica y el reto demográfico, s.f.; Reyes y col., 2016).

### **1.2. Origen de metales pesados en el suelo**

Los metales pesados en el suelo pueden tener un origen de naturaleza geogénica o antropogénica. Cuando se habla de un origen natural las concentraciones de metales se atribuyen completamente a la composición de los diferentes minerales presentes en el suelo, mientras que cuando se habla de metales con un origen antropogénico las concentraciones son mayores a las correspondientes con su composición geoquímica y estas son resultado de las diferentes actividades del hombre como la agricultura, la minería y la industria (UNAM, Metales pesados en el suelo, s.f).

### 1.3. Minería en México

La historia de la minería es la historia de México, dado que, para los españoles, las riquezas minerales fueron el motor de la conquista de Nueva España. Durango, Chihuahua, Guanajuato, Monterrey, Pachuca, San Luís Potosí y Zacatecas, capitales de siete estados de la República Mexicana, fueron fundadas y desarrolladas gracias a su riqueza y actividad minera y metalúrgica. Entre 1534 y 1553, los colonizadores descubrieron y desarrollaron cinco grandes centros mineros: Guanajuato, Real del Monte Pachuca, Taxco, Santa Bárbara y Fresnillo (GEOMIMET, 2019).

Se estima que Guanajuato produjo dos tercios de la producción mundial de plata y buena cantidad de oro a lo largo de la historia. Después de casi 500 años de explotación, los cinco centros mineros en 2005 aún se encontraban activos y participaron substancialmente en los 103.3 millones de onzas de plata que produjo México en ese año (GEOMIMET, 2019). En la **Figura 1** se presenta un mapa del potencial minero en la República Mexicana.



Figura 1. Mapa de potencial Geológico en la República Mexicana. Panorama minero del Estado de Querétaro (Subsecretaría de Minería, 2020).

El sector minero-metalúrgico en México contribuye con el 2.3 por ciento del Producto Interno Bruto nacional. Este sector representó el 8.3% del Producto Interno Bruto (PIB) industrial y el 2.3% del PIB Nacional de acuerdo con cifras del Instituto Nacional de Estadística y Geografía (INEGI), en 2020 (Secretaría de Economía, 2022).

Con respecto a la actividad minera en el estado de Querétaro, se encuentran varios tipos de yacimientos minerales pero los más destacados son los de San Martín y La Negra, ubicados en los municipios de Colón y Cadereyta de Montes; San Martín cuenta con mineralización de oro y plata, mientras que La Negra tiene presencia de plata, oro, plomo, cobre y zinc. También en una menor escala se encuentran yacimientos que contienen minerales preciosos y básicos alojados en vetas, así como fluorita, antimonio y mercurio (Secretaría de minería, 2020). En el **Cuadro 1** se presenta el volumen de la producción minera estatal del estado de Querétaro.

Cuadro 1. Producción minera estatal 2015-2019 (toneladas). Panorama minero del Estado de Querétaro (Subsecretaría de Minería, 2020).

PRODUCTO (t)	2015	2016	2017	2018	2019
<b>Metálicos</b>					
ORO	557	458	445	788	395
PLATA	115,465	37,359	20,159	33,516	4,135
COBRE	287	2,049	1,052	3,789	-
PLOMO	699	1,911	5,603	787	-
ZINC	537	5,909	6,148	7,050	-
<b>No Metálicos</b>					
AGREGADOS PETREOS	7,168,280	6,989,390	7,885,916	7,424,180	40,218,336
ARENA 1/	272,730	25,079	37,939	7,939	31,139
ARENA 2/	477,000	370,000	370,000	370,000	532,000
CALIZA	1,330,000	1,400,000	6,466,070	1,270,000	2,241,000
CAOLÍN	130,000	120,000	70,500	120,000	135,000
GRAVAS 1/	105,000	30,105	150,090	-	450,090
ROCAS DIMENSIONABLES	157,018	593,160	563,470	562,670	693,670
TEPETATE	40,000	-	-	-	688,000

Santiago de Querétaro cuenta con 9 regiones mineras agrupadas de acuerdo con su importancia, las cuales se dividen dependiendo del tipo de mineralización, en dónde podemos encontrar dos divisiones: regiones mineras metálicos y regiones mineras no metálicos (Secretaría de minería, 2020). En los **Cuadros 2 y 3** se presentan las divisiones de regiones mineras y en el **Cuadro 4** las principales minas en explotación del estado de Querétaro.

Cuadro 2. Regiones mineras metálicas del estado de Querétaro. Panorama minero del Estado de Querétaro (Subsecretaría de Minería, 2020).

REGIÓN MINERA	ZONA O DISTRITO MINERO	SUSTANCIA	TIPO DE YACIMIENTO
I.- Pinal de Amoles	1. Animas 2. Río Blanco 3. El Soyatal 4. Plazuela 5. Bucareli	Au, Ag, Pb, Zn, Hg, Sb	Mantos y chimeneas, zonas de skarn, vetas
II.- San Joaquín	6. Maconí 7. Santo Entierro 8. San Juan 9. Nepomuceno 10. Calabacillas	Ag, Pb, Zn, Cu, Au, Hg	Chimeneas, skarn, Mantos diseminados
III.- Bernal	11. San Martín 12. San Antonio	Au, Ag	Chimenea, veta, mantos
IV.- Querétaro	13. San Pedrito	Au, Ag	Vetas, masivo

Cuadro 3. Regiones mineras no metálicas del estado de Querétaro. Panorama minero del Estado de Querétaro (Subsecretaría de Minería, 2020).

REGIÓN MINERA	ZONA O DISTRITO MINERO	SUSTANCIA
V.- Cadereyta	1. Mármoles Vizarrón	Mármol, carbonato de calcio
VI.- Bernal	2. Caleras y rocas dimensionables	Calizas
VII.- Colón	3. Opalífero: Tequisquiapan 4. Caolín: Ezequiel Montes	Ópalo, Caolín, Sillar
VIII.- Querétaro	5. Materiales de ornato 6. La Cañada	Canteras
IX.- Amealco	7. Amealco	Roca dimensionables y sillar

Cuadro 4. Principales minas en explotación de metálicos del estado de Querétaro.  
Panorama minero del Estado de Querétaro (Subsecretaría de Minería, 2020).

No.	MINA	COMPAÑÍA	MUNICIPIO	PRODUCCIÓN t/d	SUSTANCIA
1	San Martín	Compañía Pena de Bernal, S.A. de C.V. (Starcore International Mines LTD)	Colón	850	Au, Ag
2	La Negra	Minera La Negra (Aucana Corp.)	Cadereyta	2000	Ag, Pb, Zn
3	Mina Grande	Minerales Sierra Gorda, S.A. de C.V	Pinal de Amoles	N/D	Au, Ag, Pb

N/D: No disponible.

#### 1.4. Contaminación por metales pesados

Se considera a un suelo contaminado a aquel cuyas características fisicoquímicas y biológicas han sido modificadas de manera negativa (aumento en la concentración de contaminantes) de tal forma que se ha superado su capacidad de amortiguación y como consecuencia, pasa de actuar como un sistema protector del reino *Plantae* a ser la causa de una gran variedad de problemas, como son de desarrollo, reproducción e inclusive modificaciones genéticas. Estos contaminantes pueden llegar al suelo por consecuencia de actividades naturales y humanas. Estas sustancias pueden polucionar la capa superior o interior del suelo, dado que pueden ser consignados por depósitos naturales, vertederos antrópicos o lluvia, pudiendo volatilizarse, biodegradarse o infiltrarse en el suelo (Barrio-Vega, 2018).

La contaminación del suelo genera impactos en el hombre, así como en los ecosistemas; dependiendo de los orígenes y los tipos de polutos que se encuentren en él los contaminantes provocan consecuencias tanto a corto como a largo plazo y estas tienen un origen específico (natural o antropogénico). Los de origen natural incluyen: erupción volcánica, incendios naturales, deposiciones, productos de reacciones químicas (Barrio-Vega, 2018). Los de origen antropogénico abarcan a los productos o subproductos derivados actividades del hombre (agrícola, industrial,

urbana). Existen contaminantes orgánicos e inorgánicos y su toxicidad puede provenir de una fuente primaria (de una fuente original) o secundaria (si proviene de alguna transformación en el interior del suelo) (Barrio-Vega, 2018).

La contaminación del suelo puede ser resultado de actividades involuntarias o planeadas. Estas actividades pueden incluir desde procesos ambientales que pueden llevar a una contaminación indirecta del suelo ya sea a través del agua o de la disposición atmosférica, así como la introducción directa del contaminante al suelo. La contaminación de suelos puede tener un origen puntual o difuso, cuando se habla de una contaminación puntual, ésta es causada por un evento específico o una serie de eventos los cuales se llevan a cabo dentro de un área determinada en la que los contaminantes se liberan en el suelo y la fuente e identidad de la contaminación puede ser identificada con facilidad (Rodríguez-Eugenio y col., 2019).

Las principales fuentes de contaminación de tipo puntual son las actividades antropogénicas, entre las cuales se destacan la eliminación inadecuada de desechos y aguas residuales, los vertederos no controlados, el uso excesivo de agroquímicos y la minería, la cual se realiza usando normas ambientales poco aptas y que dan como resultado una contaminación de metales pesados en muchas regiones del mundo (Rodríguez-Eugenio y col., 2019).

Al contrario de la contaminación puntual, la contaminación difusa se propaga por áreas muy extensas acumulándose en el suelo, no se tiene una fuente única y no es fácilmente identificable. Este tipo de contaminación se presenta donde hay emisión, transformación y dilución de contaminantes en otros medios provocando su transferencia al suelo, dado que implica el transporte de los contaminantes a través de sistemas de aire-suelo-agua (Rodríguez-Eugenio y col., 2019).

La contaminación por metales pesados tiene un origen industrial puesto que la concentración de metales pesados en los suelos debería de tener un origen únicamente natural en función de la composición litológica y de la edafogénica que dan lugar al suelo, determinando así la cantidad de metales de manera natural. Empero con la actividad humana se ha incrementado la concentración de estos

metales en el suelo, siendo esta la causa de las concentraciones toxicas detectadas en el mismo (Barrio-Vega, 2018).

Existen diversas actividades las cuales incrementan las cantidades de metales pesados en el suelo, las principales son:

- Actividades de minería y fundición: El proceso de minería conlleva una serie de operaciones que pueden producir contaminación, ya sea el polvo originado en estas actividades o en capas superiores de suelos minerales donde se encuentran altas concentraciones de Cu, Ni, Se, Fe y Hg (BarrioVega, 2018).
- Generación de electricidad: La combustión de carbón genera deposición de metales en suelos y la de petróleo puede ser fuente de plomo, níquel y vanadio (Barrio-Vega, 2018).
- Las fábricas de acero generan una emisión de metales como el níquel, las de baterías emiten cantidades considerables de plomo. Los metales asociados con áreas altamente industrializadas incluyen Cd, Cr, Fe, Pb, Zn y Hg (Barrio-Vega, 2018).

### **1.5. Hg en el suelo**

El mercurio es un metal líquido a temperatura ambiente con una densidad de 13.53 g/cm<sup>3</sup> y una solubilidad en agua de 6x10<sup>-5</sup> g/L a 25 °C. No es un buen conductor del calor, pero sí de la electricidad y es sumamente volátil (Punto de volatilización: 1,22x10<sup>-3</sup> mm a 20 °C), produciendo vapores incoloros e inodoros a partir de los 13 °C. Tiene una tensión superficial de 0.51 N/m y una viscosidad de 0,016 Poises a 20 °C, dándole la característica de una fácil aleación con otros metales (amalgamas) (Caiza-Caiza, 2018).

El mercurio presenta tres estados de oxidación estables: elemental Hg<sup>0</sup> (0), mercurioso Hg<sub>2</sub><sup>2+</sup> (I) y mercúrico Hg<sup>2+</sup> (II). El estado elemental del Hg no es frecuente en la naturaleza, sin embargo, las otras formas del Hg pueden transformarse en Hg<sup>0</sup>. Bajo condiciones ambientales estándar el estado mercurioso Hg<sub>2</sub><sup>2+</sup> es raramente estable y cuando se encuentra en forma iónica puede formar compuestos orgánicos e inorgánicos, así como sulfuros y sulfosales estables (Caiza-Caiza, 2018).

El mercurio se puede presentar de diferentes maneras en la naturaleza, pero las principales formas se presentan en el **Cuadro 5**.

Cuadro 5. Principales formas de mercurio en la Naturaleza (Caiza-Caiza, 2018).

Forma Elemental	Formas inorgánicas	Formas orgánicas u organomercuriales
Hg <sup>0</sup>	HgS	CH <sub>3</sub> Hg
	HgO	(CH <sub>3</sub> ) <sub>2</sub> Hg
	HgCl <sub>2</sub>	CH <sub>3</sub> HgCl
	Hg(OH) <sub>2</sub>	CH <sub>3</sub> HgOH

Las fuentes de mercurio en el suelo pueden tener un origen natural (formando parte de las rocas, principalmente como sulfuros, en la actividad volcánica y minerales) o antropogénico (explotación de depósitos naturales, procesos industriales, prácticas agrícolas, combustión de calderas alimentadas por carbón, petróleo y vertidos) (Caiza-Caiza, 2018).

La especiación y su interacción con las características del suelo y sus componentes influyen en la transferencia del mercurio entre los distintos compartimientos ambientales. Presenta una gran afinidad por la materia orgánica, por ello se acumula en mayor medida en el horizonte superior y se encuentra fuertemente asociado a los grupos SH<sup>-</sup> contenidos en esta; de igual forma, con los ligandos OH<sup>-</sup> y Cl<sup>-</sup> y los minerales arcillosos, por lo que la captación por parte de las raíces de las plantas depende completamente de su disponibilidad en el suelo (Durango y col., 2010). La disponibilidad del mercurio en el suelo se encuentra determinada por factores fisicoquímicos como temperatura, humedad, pH, permeabilidad y presencia de aceptores de electrones (Durango y col., 2010).

### 1.6. Biorremediación

La biorremediación es un proceso en el cual se utilizan organismos, normalmente plantas o bacterias, para eliminar o reducir contaminantes en el medio ambiente (ECAMPA, 2019).

Los métodos actuales de biorremediación abarcan procesos aerobios, anaerobios y fisicoquímicos. Para realizar estas estrategias en suelos y aguas, se comienza con un estudio previo sobre la conveniencia técnica y económica, haciendo énfasis en el impacto ambiental generado a partir del proceso seleccionado (ECAMPA, 2019); los cuales se describen en la **Figura 2**.

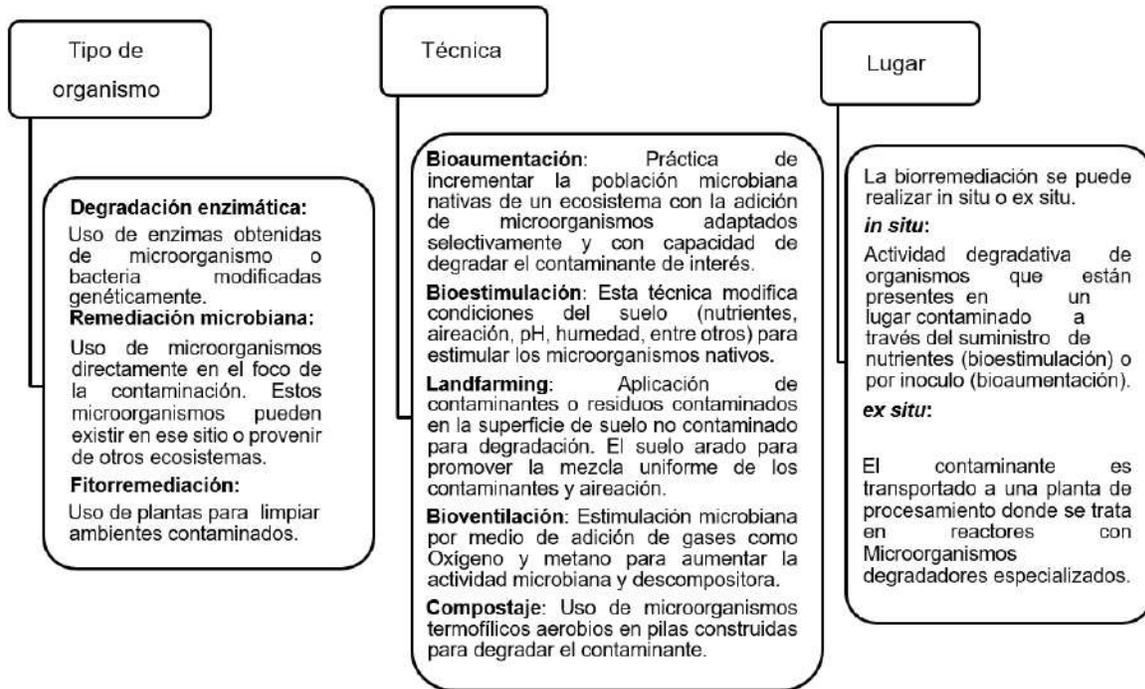


Figura 2. Tipos y estrategias de biorremediación (ECAMPA, 2019).

La biorremediación puede ser considerada como una herramienta enfocada en la explotación de las actividades biológicas para la mitigación, y con la posibilidad de la eliminación completa de los efectos nocivos causados por contaminantes ambientales en sitios determinados. Esta herramienta puede llevarse a cabo mediante el uso de diversos organismos desde bacterias hasta plantas. Se consideran a las actinobacterias como primera opción de organismo a utilizar en procesos de biorremediación por su gran potencial como degradadoras (Brutti y col., 2018).

## 1.7. Fitorremediación

La palabra fitorremediación proviene del latín y significa planta que remedia, existen gran cantidad de plantas que crecen naturalmente o plantas genéticamente modificadas empleadas en la remediación ambiental. La fitorremediación ha ganado impacto dentro de la comunidad científica dado que a lo largo de los años se ha aumentado el interés en desarrollar tecnologías limpias, seguras, de bajo costo y con poco impacto ambiental (ECAMPA, 2019). El desarrollo de esta tecnología enfocada a la restauración de la estructura y función de los suelos se encuentra en expansión, dado que su aplicación es menos costosa e invasiva que los mecanismos de remediación fisicoquímicos (Brutti y col., 2018). Considerando esta iniciativa de una técnica menos costosa, la fitorremediación es ideal dado que la energía motora para su proceso es impulsada por el sol, siendo una técnica rentable e innovadora al utilizar plantas para la extracción, degradación, contención e inmovilización de agentes contaminantes en el ambiente (Torres-Gonzales y col., 2021).

Existen diferentes tecnologías de fitorremediación, las cuales se caracterizan por tener mecanismos particulares para la remediación de contaminantes ya sea en agua, suelos o sedimentos. Se clasifican a las tecnologías de fitorremediación en cinco grupos principales:

- **Rizofiltración:** las plantas toman los metales del agua y los retienen a través de las raíces, las cuales deben tener alta biomasa, área superficial amplia y tolerancia a excesos de metales. Esta técnica es de fácil manejo y bajo costo de mantenimiento, genera pocos residuos secundarios y sirve para remediar varios metales como Pb, Cr, Ni, Cd, Cu, V y radionucleidos como Sr, U, y Cs, entre otros y actúa como tamiz para atrapar sólidos en suspensión (ECAMPA, 2019).
- **Fitoestabilización:** las plantas modifican los metales tóxicos en una forma no tóxica, reduciendo el riesgo medioambiental. Esta técnica puede ser utilizada para estabilizar desechos y prevenir las vías de exposición a través del agua y la erosión eólica. Proporcionan un sistema hidráulico que reduce la

lixiviación vertical de contaminantes en el agua subterránea y la raíz reduce la movilidad por adsorción y fijación química de los contaminantes físicos y químicos (ECAMPA, 2019).

- Fitovolatilización: las plantas son usadas para absorber metales tóxicos y transformarlos en menos volátiles y tóxicos, formados por el proceso de transpiración. Mediante esta técnica pueden ser volatilizados metales como Hg, As y Se (ECAMPA, 2019).
- Fitodegradación o fitotransformación: las plantas son usadas para degradar contaminación orgánica por medio de sus propios procesos metabólicos y con asociación de la rizosfera microbial. Las enzimas de las plantas están en relación con la rizosfera donde los microorganismos juegan un importante papel en la degradación y transformación de contaminantes. Se han identificado enzimas en zonas de la rizosfera de la planta de sedimentos y suelos como nitro reductasa, laccasa, peroxidasa, dehalogenasa y nitritos. Pueden ser remediados contaminantes orgánicos como solventes clorinados, insecticidas, herbicidas y nutrientes orgánicos (ECAMPA, 2019).
- Fitoextracción: esta técnica es la más conocida, esta toma los contaminantes por las raíces, los trasloca y acumula en las partes que se cosechan de la planta. Después de la maduración son cosechadas y esta biomasa es descargada en contenedores o vertederos herméticos. Con este proceso se remueven metales tales como Pb, Cd, Cu, Cr, Ni y V de los suelos contaminados (ECAMPA, 2019).

Existen especies de plantas las cuales son propuestas para la fitorremediación por poseer las características para la remediación y manejo de un amplio rango de sitios y tipos de contaminantes. En el **Cuadro 6** se presentan algunas de las especies más utilizadas por su nivel de tolerancia.

Cuadro 6. Especies fitorremediadoras (ECAMPA, 2019).

Nombre de la especie	Familia	Tolerancia	Uso económico
<i>Vetiveria zizanioides</i>	Poaceae	Alta tolerancia	Aceite esencial
<i>Mentha piperita</i> L.	Lamiaceae	Tolerante	Aceite esencial
<i>Ricinus communis</i>	Euphorbiaceae	Alta tolerancia	Biodisel
<i>Leucena leucocephala</i>	Fabaceae	Tolerante	Pulpa de madera
<i>Gmelina arborea</i>	Verbenaceae	Tolerante	Maderable
<i>Salix spp.</i>	Salicaceae	Tolerante	Maderable
<i>Jasminum Auriculatum</i>	Oleaceae	Alta tolerancia	Floricultura
<i>Nerium oleander</i>	Apocynaceae	Tolerante	Floricultura

### 1.8. *Nicotiana glauca*

Originaria de Argentina y Bolivia, *Nicotiana glauca* Graham, también conocida como palán palán o falso tabaco es una especie del género *Nicotiana*, del mismo género que el tabaco y perteneciente a la familia de las Solanáceas, se presenta su taxonomía en el **Cuadro 7** y las flores de la planta en la **Figura 3** (Imbargo, 2021).



Figura 3. Inflorescencia de *Nicotiana glauca*.

Cuadro 7. Taxonomía de *Nicotiana glauca*.

Reino	Plantae
División	Magnoliophyta
Clase	Magnoliopsida
Orden	Solanales
Familia	Solanaceae
Subfamilia	Nicotianoideae
Tribu	Nicotianeae
Género	<i>Nicotiana</i>
Especie	<i>Nicotiana glauca</i>

*N. glauca* es un arbusto o árbol pequeño con tallos de 6 m, ramificados, glabros y hojas ovaladas, elípticas u oblongadas. Una inflorescencia helicoidal que se agrupa en disposición paniculiforme, con flores actinomorfas, hermafroditas, bracteadas, con una corola tubular-infundibuliforme de color amarillo (Imbargo, 2021).

*N. glauca* no es un cultivo de interés agrícola, ya que rara vez se cultiva, pero crece con mucha frecuencia de manera silvestre en bordes de camino, baldíos o casas abandonadas. El falso tabaco tiene propiedades insecticidas, fungicidas y nematocidas por lo que es comúnmente utilizado como insecticida debido a los alcaloides nicotina, nor nicotina y anabasina que se encuentran presentes en ella (Imbargo, 2021). Además de su uso como insecticida, *N. glauca* ha presentado resultados favorables como planta fitorremediadora dado que se encuentra en sitios de eliminación de residuos sólidos industriales, agrícolas y mineros, dándole la capacidad de resistir elevadas concentraciones de Pb, Cd, Zn, Ca y Co (Macias, 2018).

### **1.9. Inoculación de bacterias**

La microbiología es la rama de la biología que se encarga del estudio de los microorganismos, los cuales son seres vivos pequeños también conocidos como microbios. Se consideran microbios a todos los seres vivos microscópicos, estos pueden estar constituidos por una sola célula (unicelulares), así como pequeños agregados celulares formados por células equivalentes (sin diferenciación celular); estos pueden ser eucariotas (células con núcleo) tales como hongos y protistas, procariotas (células sin núcleo definido) como las bacterias (Musto y col., 2018).

La degradación en condiciones naturales esta mediado principalmente por las bacterias o los hongos. Las bacterias son el grupo más utilizado en procesos de biorremediación dado que son los microorganismos con mayor diversidad, tienen características de metabolismo y crecimiento rápido, plasticidad genética y su gran adaptación a una gran variedad de condiciones y cambios ambientales (Montero y col., 2014).

La interacción planta-microorganismo es una de las técnicas más empleadas en la actualidad para fitorremediar suelos contaminados. La inoculación de plantas con bacterias degradadoras es una de las estrategias para mejorar los procesos de remediación. Un inoculante bacteriano es una formulación que comprende una o más cepas bacterianas de carácter benéfico, de fácil uso y económico (Montero y col., 2014).

Existen diversos métodos para introducir bacterias en las plantas como la inoculación de la semilla, empapar el suelo, aspersión foliar e inmersión de la raíz. Los métodos de inoculación de bacterias requieren de un vehículo que pueda liberar el inóculo al suelo y permitir que las células se puedan incorporar a este (Azfal y col., 2012).

#### **1.10. Rizobacterias**

En el año 1978 la expresión Rizobacterias Promotoras del Crecimiento Vegetal (PGPR por sus siglas en inglés) fue recopilada por J. W. Kloepper y M. N. Schroth, la cual describe a las bacterias que se encuentran en la rizosfera y promueven el crecimiento de las plantas por medio de una variedad de mecanismos, además de reducir la incidencia de enfermedades (Bashan y col., 2014). Las PGPR desempeñan efectos benéficos en el desarrollo de las plantas, estas pueden influir en mecanismos directos como la fijación de nitrógeno atmosférico, la concentración o producción de hormonas vegetales y la solubilización de minerales, así como en mecanismos indirectos como la producción de metabolitos antifúngicos, actividad lítica, resistencia sistémica, desplazamiento y competencia (Castaño y col., 2019). Entre los géneros microbianos más estudiados de este grupo se destacan *Pseudomonas*, *Enterobacter*, *Bacillus*, *Variovorax*, *Klebsiella*, *Burkholderia*, *Azospirillum*, *Serratia*, *Azotobacter* y *Trichoderma* (teleomorfo *Hypocrea*) (Cruz y col., 2021).

La actividad de estas rizobacterias generalmente inicia con mecanismos de quimiotaxis, ayudando a las bacterias gracias a los flagelos, quimiorreceptores y sistemas de regulación codificados genéticamente a dirigirse a una zona donde existe una cantidad de sustancias alimenticias disponibles. Estos factores tienen un

gran impacto sobre la habilidad de las bacterias de colonizar la rizosfera y mantener la comunicación entre las células de la raíz y los microorganismos que se encuentran en el suelo (Camelo y col., 2011). Las bacterias que son capaces de lograr esta interacción con la raíz son atraídas a ella mediante sustancias que ocasionan el desplazamiento de la bacteria hacia el rizoplaneo de la planta y de esta forma inician la relación de beneficio mutuo (Camelo y col., 2011).

En las últimas décadas ha ido en aumento el interés por este grupo de bacterias dado su potencial para la estimulación del crecimiento en cultivos o como agentes de biocontrol y últimamente por su uso prometedor en la biorremediación de suelos, recuperación de ecosistemas y reforestación. Se ha demostrado que estas bacterias tienen una gran influencia y efecto en diversos cultivos, como por ejemplo en el crecimiento del trigo, en su uso como biocontroles en la soja, en su influencia para estimular el crecimiento de plantas en condiciones de estrés, tanto salinidad como concentraciones altas de metales pesados y se han llegado a utilizar como biocontroles de nematodos (Posada y col., 2019).

Estas bacterias han sido estudiadas a lo largo de todo el mundo, siendo India el país con más investigaciones al respecto, en cuanto a Latinoamérica, Colombia, Brasil y México han realizado aportes relevantes en este campo (Posada y col., 2019). Por su parte en México, Gonzáles y col. (2015) evaluaron el efecto de cepas PGPR en la variedad comercial de caña, a su vez, Martínez y col. (2013) identificaron bacterias aisladas de la rizosfera del tomate. Posada y col. (2019) realizaron una revisión sistemática de los años 1990-2019 sobre las investigaciones relacionadas con las PGPR, la cual mostró resultado de la identificación de los 63 géneros microbianos más estudiados, los cuales fueron *Bacillus* con un 43.1%, *Pseudomonas* con un 41.5%, *Enterobacter* con el 10.6 y el género *Arthrobacter* que también es de nuestro interés, con una frecuencia del 0.6% (Posada y col., 2019).

#### **1.11. *Arthrobacter* sp.**

*Arthrobacter* es un género de bacteria que presenta un rango amplio de temperatura y altitud, que puede estar presente tanto en los suelos agrícolas como en los suelos contaminados, además del subsuelo, el hielo ártico y ambientes radioactivos, por lo

tanto, es un excelente candidato para la biorremediación, ya que pueden utilizar xenobióticos para retener a los metales pesados (Mondogín y col., 2006). Este género es resistente a climas extremos y mejoran el crecimiento de las plantas en condiciones de estrés. Estas bacterias suelen estar como gram negativos cuando se encuentran como cultivos jóvenes y gram positivos cuando se encuentran en cultivos más viejos (Amaresan y col., 2022). Basándonos en su filogenia, el género *Arthrobacter* se puede clasificar en 11 grupos principales como *Arthrobacter aurescens*, *Arthrobacter globiformis*, *Arthrobacter pascens*, *Arthrobacter oryzae*, *Arthrobacter humicola*, *Arthrobacteroxydans*, *Arthrobacter protophormiae*, *Arthrobacter sulfureus*, *Arthrobacter citreus*, *Arthrobacter agilis*, *Arthrobacter psychrolactophilus*, *Arthrobacter pigmenti*, *Arthrobacter albus/cumminsii* y *Sinomonas soli* (Pratiti y col., 2020).

*Arthrobacter sp.* tiene la capacidad para sobrevivir largos periodos de tiempo en condiciones estresantes, las cuales pueden ser cambios de temperatura, escases de alimento, radiación ionizante, radicales de oxígeno y productos químicos, esto gracias a su metabolismo (Kundu y col., 2019). Gracias a este diverso metabolismo, *Arthrobacter sp.* ha sido aislada por su capacidad para biodegradar una variedad de contaminantes ambientales, tales como el glifosato, metil tert-butil éter, 2,4diclorofenoxiacetato (2,4-D), nictotina, 4-nitrofenol, dimetilsilanodiol, endoxohexahidroftalato ( endotal), fluoreno, ftalato, nitroglicerina y un gran número de herbicidas de s-triazina (Mongodín y col., 2006). Algunos de los trabajos realizados con *Arthrobacter spp.*, *aurescens* e *ilicis* se muestran en el **Cuadro 8**.

### **1.12. *Bacillus spp.***

*Simplex* es un género de bacteria gram positiva que se encuentra ampliamente en el suelo, el cual tiene un crecimiento activo en un rango de pH entre 5.5- 8.5, son móviles gracias a sus flagelos laterales y una propagación activa en medios que presentan una superficie húmeda (Layton y col., 2011). Debido a que posee una gran ventaja en comparación de otros microorganismos, tiene diversos mecanismos para asegurar su supervivencia ante condiciones físicas y químicas desfavorables (Calvo y col., 2010). *Bacillus spp.* comienza sus respuestas de supervivencia como

la síntesis de proteínas, membranas celulares más resistentes, aumentar la retención de agua o el desarrollo de biofilms (INNOTECH, 2022). Si estas respuestas fallan, *Bacillus spp.* entra en un estado vegetativo donde se induce la esporulación, esta cualidad hace a esta especie altamente resistente a diferentes ambientes, como lo es el suelo. Estas especies también se pueden adaptar a cambios bruscos de temperatura y son metabólicamente diversos, lo que les permite una colonización efectiva en el ambiente rizosférico (Calvo y col., 2010). *Bacillus spp.* muestra varios rasgos favorecedores que contribuyen a la promoción del crecimiento de las plantas y la tolerancia a enfermedades dada su capacidad de mejorar el crecimiento de las plantas por medio de la fijación de nitrógeno, la solubilización de fosfato y la producción de fitohormonas (Kang y col., 2023). Algunos de los trabajos realizados con *Bacillus simplex* se muestran en el **Cuadro 8**.

Cuadro 8. Investigaciones sobre *Arthrobacter aurescens*, *Arthrobacter ilicis* y *Bacillus simplex* como PGPR.

<i>Arthrobacter aurescens</i>	<i>Arthrobacter spp.</i>	<i>Bacillus simplex</i>
Secretos de la supervivencia del suelo revelados por la secuencia del genoma de <i>Arthrobacter aurescens</i> TC1 (Mongodin y col., 2006).	Respuesta a corto plazo de las comunidades bacterianas del suelo después de incendios prescritos en bosques mediterráneos semiáridos (Soria-Martínez y col., 2023).	<i>Bacillus simplex</i> , un PGPB poco conocido con actividad antifúngica, altera la arquitectura de la raíz de la legumbre del guisante y la morfología de los nódulos cuando se coinocula con <i>Rhizobium leguminosarum</i> bv. <i>viciae</i> (Schwartz y col., 2013).

<p>Reducción a baja temperatura del cromo hexavalente mediante un consorcio de enriquecimiento microbiano y una nueva cepa de <i>Arthrobacter aurescens</i> (Horton y col., 2006)</p>	<p>Evaluación libre de inhibidores metabólicos de la actividad oxidante de amoníaco heterótrofa en lodos activados (Zheng y col., 2023).</p>	<p>Caracterización de la eliminación de nitrógeno de una bacteria adaptada al frío: <i>Bacillus simplex</i> Hb (Sikorski y col., 2008; Hansen y col., 2019; Yang y col, 2021; Yang y col., 2023).</p>
<p>Evaluación de la cepa TC1 de <i>Arthrobacter aurescens</i> como bacteria de bioaumentación en suelos contaminados con la sustancia herbicida terbutilazina (Vera P. y col., 2015).</p>	<p>Rendimiento del bioportador de cáscara de arroz en la eliminación de nitrógeno amoniacal en la MBBR que trata aguas residuales de acuicultura mediante un proceso de crecimiento biológico adjunto: estudio cinético y de rendimiento (Alitaleshi y col., 2024).</p>	<p>Biosorción de cadmio, cobalto, níquel y estroncio por una cepa de <i>Bacillus simplex</i> aislada de la zona vadosa (San Valentin y col., 1996).</p>
<p><i>Arthrobacter aurescens</i> TC1 metaboliza diversos compuestos de anillos de s-triazina (Strong y col., 2002; Kundu y col., 2019; Arar, y col, 2023; Diviesti y col., 2023; LeviRam y</p>	<p>Fertilizante bioorgánico Noval que contiene <i>Arthrobacter</i> sp. DNS10 alivia la inhibición del crecimiento inducida por la atrazina en la soja al mejorar la eliminación de atrazina y la acumulación</p>	<p>El tratamiento con <i>Bacillus simplex</i> promueve la defensa de la soja contra los nematodos del quiste de la soja: un estudio de metabolómica mediante</p>

col., 2023; Tang y col., 2023).	de nitrógeno (Jiang y col., 2023).	GC-MS (Kang y col., 2020).
Biorremediación de un suelo contaminado con trifluralina mediante bioaumentación con nuevas cepas bacterianas aisladas y ciclodextrina (Lara-Moreno y col., 2022).	Diversidad, metales pesados y resistencia a los antibióticos en bacterias heterótrofas cultivables aisladas de una antigua mina de plomo, plata y zinc en Tarnowskie Gory (Silesia, Polonia, Nosalova y col., 2022).	Evidences for antioxidant response and biosorption potential of <i>Bacillus simplex</i> strain 115 against lead (Chamekh y col., 2021).
<i>Arthrobacter aurescens</i> TC1 Los genes del catabolismo de la atrazina trzN , atzB y atzC están vinculados en una región de 160 kilobases y son funcionales en <i>Escherichia coli</i> (Sajjaphan y col., 2004).	Biodegradation of Crystalline and Nonaqueous Phase Liquid-Dissolved ATRAZINE by <i>Arthrobacter</i> sp. ST11 with Cd <sup>2+</sup> Resistance (Zhang y col., 2022).	Efectos de las rizobacterias promotoras del crecimiento vegetal (PGPR) sobre el enraizamiento y el crecimiento de raíces de esquejes de tallo de kiwi ( <i>Actinidia deliciosa</i> ) (Ertuck y col., 2010).

	<p>Secuenciación completa del genoma de Polar <i>Arthrobacter</i> sp. PAMC25284, Potencial de tolerancia al cobre revelado con análisis genómico (Karmacharya y col., 2022).</p>	<p>Engineering Properties of Sandy soil Improvement with <i>Bacillus Simplex</i> (Bagriacik y col., 2021).</p>
	<p>Radiation Tolerant Life Forms and Methods Used to Remediate Radioactive</p>	
	<p>Wastes from Soil (<i>Arthrobacter ilicis</i>) (Verma y col., 2023).</p>	
	<p>Resistencia y acumulación de uranio por bacterias de un sitio contaminado con uranio (<i>Arthrobacter ilicis</i>) (Suzuki y col., 2002).</p>	

## **2. HIPÓTESIS**

Las bacterias *Arthrobacter aurescens*, *Arthrobacter ilicis* y *Bacillus simplex* inoculadas en *Nicotiana glauca* modifican las propiedades fisicoquímicas en suelos mineros, fijan el Hg a la planta y reducen la concentración de Hg en suelos mineros.

### **3. OBJETIVOS**

#### **3.1. General**

Evaluar el efecto de la inoculación de las bacterias *Arthrobacter aurescens*, *Arthrobacter ilicis* y *Bacillus simplex* en la fijación de Hg en *Nicotiana glauca*.

#### **3.2. Específicos**

- Evaluar las características fisicoquímicas de los jales antes y después de los ensayos de fitorremediación.
- Determinar el efecto de la fitorremediación sobre los parámetros morfológicos y biomasa de *Nicotiana glauca*.
- Evaluar la influencia de las rizobacterias en *Nicotiana glauca*.

## 4. METODOLOGÍA

### 4.1. Materiales.

A continuación, en los **Cuadros 9 y 10** se presentan todos los materiales y reactivos utilizados en el presente trabajo.

Cuadro 9. Reactivos.

Acetato de amonio	Vanadato-molibdato	Agua destilada
Dicromato de potasio	Ácido sulfúrico	Ácido fosfórico
Difenilamida	Sulfato ferroso	Cloruro de potasio
Ácido bórico	Óxido de magnesio	Aleación de Devarda
Oxalato de sodio	Metasilicato de sodio	Persulfato de amonio
Ácido clorhídrico	Negro de Eriocromo T	EDTA
<i>Arthrobacter ilicis</i>	<i>Arthrobacter aurescens</i>	<i>Bacillus simplex</i>
Agar-Luria Bertani	Perlita	Tezontle

Cuadro 10. Materiales.

Bolsas de plástico	Bolsa de rafia	Tubos de ensaye
Micropipetas	Vasos de precipitado	Guantes de nitrilo
Plato caliente	Cilindros de Bouyoucos	Potenciómetro
Matraz aforado	Punta para micropipeta	Batidora de pedestal
Papel filtro Whatman	Tubos de plástico con tapas	Gradilla para tubo
Cajas Petri	Plástico filme	Mangueras de plástico
Matraz Erlenmeyer	Matraz Kitasato	Cámara de Neubauer

Microscopio	Balanza analítica	Espátula
Espectrofotómetro	Bisturí	Bureta
Pinzas mariposa	Soporte universal	Embudo
Bomba de vacío	Probeta	Tamices
Centrifugadora	Autoclave	Refrigerador
Campana de extracción	Medidor de conductividad	Perilla de hule

## 4.2. Métodos.

### 4.2.1. Obtención del suelo contaminado y semillas de *N. glauca*.

Se realizó el muestreo de jales mineros usando la metodología de 5 de oro en la zona Minera San Joaquín de la localidad de Maconí en Cadereyta de Montes, Querétaro, ubicada a una latitud  $20^{\circ} 50' 5.07''$  y a una longitud  $99^{\circ} 32' 29.517''$  (**Figura 4**). Así mismo se recolectaron semillas de la planta adulta de *N. glauca* en la misma ubicación.

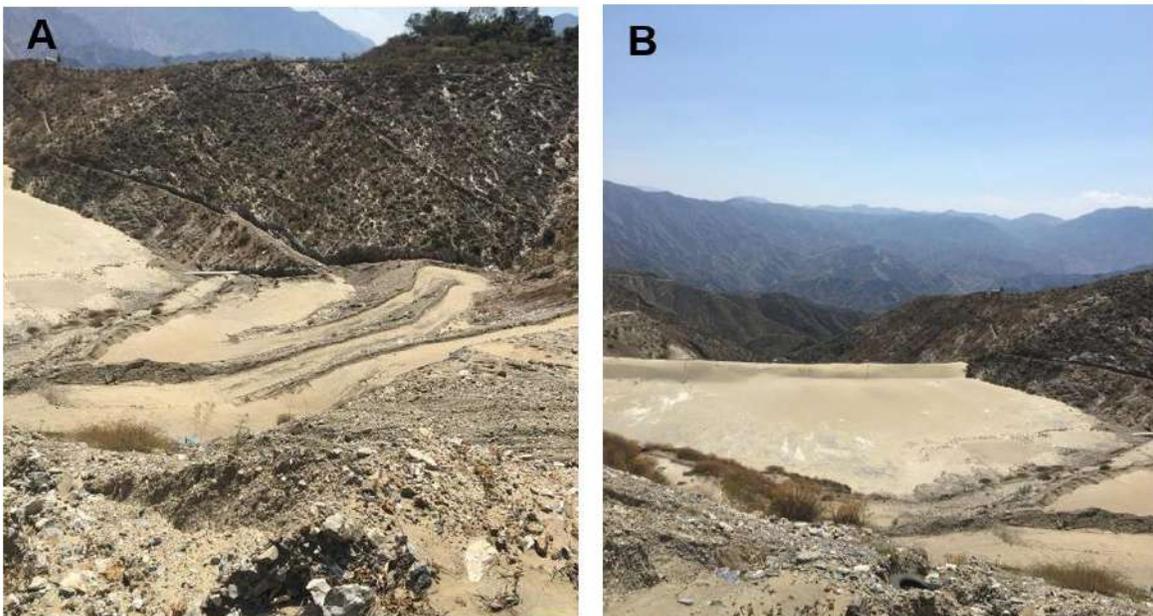


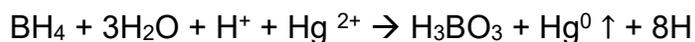
Figura 4. Jale minero Maconí, Querétaro (A). Mina la Negra, Querétaro. (B)

#### 4.2.2. Análisis de mercurio.

Para corroborar que el suelo contenía Hg, se analizó mediante la técnica de vapor frío acoplado a espectrofotometría de absorción atómica con el equipo Thermo Scientific ICE 300 Módulo VP100. La técnica de vapor frío es un método de análisis directo de determinados analitos, basado en la separación por volatilización del elemento de interés (Moscoso, 2003). Estas especies volátiles son transportadas por Argón hasta el equipo de Espectrofotometría de Absorción Atómica.

El mercurio es el único elemento determinado por Espectrofotometría de Absorción Atómica que puede existir en fase de vapor como Hg<sup>0</sup> a temperatura ambiente por esta razón no se requiere ningún calentamiento de la celda de cuarzo para su determinación (Carrasquero-Durán, 2002).

Para la formación del vapor de Hg<sup>0</sup>, la muestra acidificada que contiene el mercurio iónico (Hg<sup>+2</sup>) se mezcla con el agente reductor (SnCl<sub>2</sub> o NaBH<sub>4</sub>) según la ecuación:



Se utilizó la metodología de Carrasquero Durán y Adams (2002) para la determinación de mercurio.

Para los análisis de Hg en suelo se analizaron los tratamientos de jale, consorcio y el suelo inoculado con *A. aurescens*.

Para los análisis de Hg en planta se analizaron los tratamientos en donde se inoculó *A. aurescens*, *A. ilicis*, *B. simplex* y el consorcio.

### **4.2.3. Caracterización del suelo (NOM-021-RECNAT-2000)**

#### **4.2.3.1. Determinación de pH**

La determinación de pH se realizó con 30 g de suelo y 60 mL de agua destilada, se agitó cada cinco minutos, durante 30 minutos, se dejó reposar por 15 minutos, se agitó y se tomó la lectura con un potenciómetro marca HANNA modelo Pocket sized pH meter.

#### **4.2.3.2. Determinación de materia orgánica**

Para la cuantificación de materia orgánica se utilizaron 0.5 g de suelo al cual se le adicionaron 10 mL de dicromato de potasio y 20 mL de ácido sulfúrico concentrado, se dejó reposar por 30 minutos y se añadieron 200 mL de agua destilada, 5 mL de ácido fosfórico concentrado y 5 gotas de difenilamida, por último, se tituló con sulfato ferroso.

#### **4.2.3.3. Determinación de nitrógeno inorgánico**

Para nitrógeno inorgánico se realizó el análisis, tomando 5 g de suelo el cual se colocaron en un matraz Erlenmeyer de 125 mL y se le adicionaron 50 mL de una solución de KCl, se agitó por 60 minutos y se centrifugó por 5 minutos. Después se colocó 10 mL de solución de  $H_3BO_3$  con el indicador y se conectó a el tubo de salida del refrigerante. Se pipeteó una alícuota de 10 mL del extracto de suelo y se colocó en el matraz de destilación, se agregaron 0.2 g de MgO y 0.2 g de aleación de Devarda. Por último, se destilaron 30 mL y se tituló con ácido sulfúrico 0.005 N.

#### **4.2.3.4. Determinación de textura**

Para la determinación de textura se mezclaron 60 g de suelo con 2 cm de lámina superficial de agua, 5 mL de oxalato de sodio, 5 mL de metasilicato de sodio y se dejó reposar por 15 minutos. Se colocaron las muestras en un vaso de agitación mecánico y se agitaron por 5 minutos, posteriormente se pasaron a los cilindros de Bouyoucos. Se agregó agua hasta completar los 1113 mL y se agitó manualmente durante 1 minuto. Se tomaron las lecturas a los 40 minutos y después de 2 horas.

#### **4.2.3.5. Determinación de fósforo total**

Para la determinación de fósforo total se mezclaron 2.5 g de suelo con 10 mL de persulfato de amonio, 10 mL de ácido clorhídrico y 30 mL de agua destilada. Se calentó hasta que dejó de salir humo, se filtró, y se le añadieron 10 mL de vanadato-molibdato y se tomaron las lecturas en un espectrofotómetro a 470 nm.

#### **4.2.3.6. Evaluación de la capacidad de intercambio catiónico (CIC)**

La cuantificación de CIC se realizó con 5 g de suelo al cual se le añadieron 33 mL de una disolución de acetato de amonio 1N, se agito vigorosamente durante 10 minutos y se filtró. Al filtrado se le añadieron 10 mL de solución reguladora y 10 gotas de indicador de Negro de Eriocromo T. y, por último, se valoró esta solución con EDTA.

#### **4.2.3.7. Obtención del extracto de saturación.**

Para el extracto de saturación se realizó el análisis con 50 g de suelo y adicionando agua hasta obtener la textura de pasta. Se colocó un papel filtro Whatman en el fondo del embudo Buchner, se armó la trampa de vacío y se colocó la pasta en el embudo Buchner, se activó la bomba de vacío hasta obtener 10 mL de extracto.

#### **4.2.3.8. Determinación de la conductividad eléctrica (CE)**

Para CE se realizó el análisis con 4 mL de el extracto de saturación y sumergiendo la celda del medidor de conductividad de lectura directa. Se tomó la lectura una vez que el medidor se estabilizó y se limpió la celda con agua destilada entre cada toma.

#### **4.2.4. Activación de bacterias.**

Las bacterias utilizadas fueron donadas por la Universidad Autónoma de Querétaro las cuales fueron obtenidas de la mina la negra ubicada en Maconí de la rizosfera de una planta de *N. glauca*, las bacterias fueron aisladas y secuenciadas. Las bacterias fueron reactivadas el 21 de marzo del 2022 en medio LB (**Figura 5**). Para la preparación del medio LB se pesaron 25 g de caldo Luria Bertani, se colocaron en 1 L de agua destilada, se selló el recipiente con parafina y se esterilizó en autoclave (Felisa, modelo FE-397) durante 25 minutos. Se sembró 0.1 mL de la 5ª dilución en tubos de ensaye, se llevó a 15 mL utilizando medio de cultivo LB y por

último se cubrieron con plástico film; se incubaron a 27° C por 72 h para el crecimiento de los aislados bacterianos, con la finalidad de obtener colonias separadas.



Figura 5. Activación de bacterias.

Después de una semana, se realizó el conteo de bacterias utilizando la cámara de Neubauer y un microscopio (**Figura 6**), donde se contaron las UFC y se utilizó 1 mL de cada una de las bacterias por planta y 0.3 mL de cada bacteria para el consorcio. Se inculó una cantidad de bacterias con un valor aproximado de  $6 \times 10^8$  UFC.

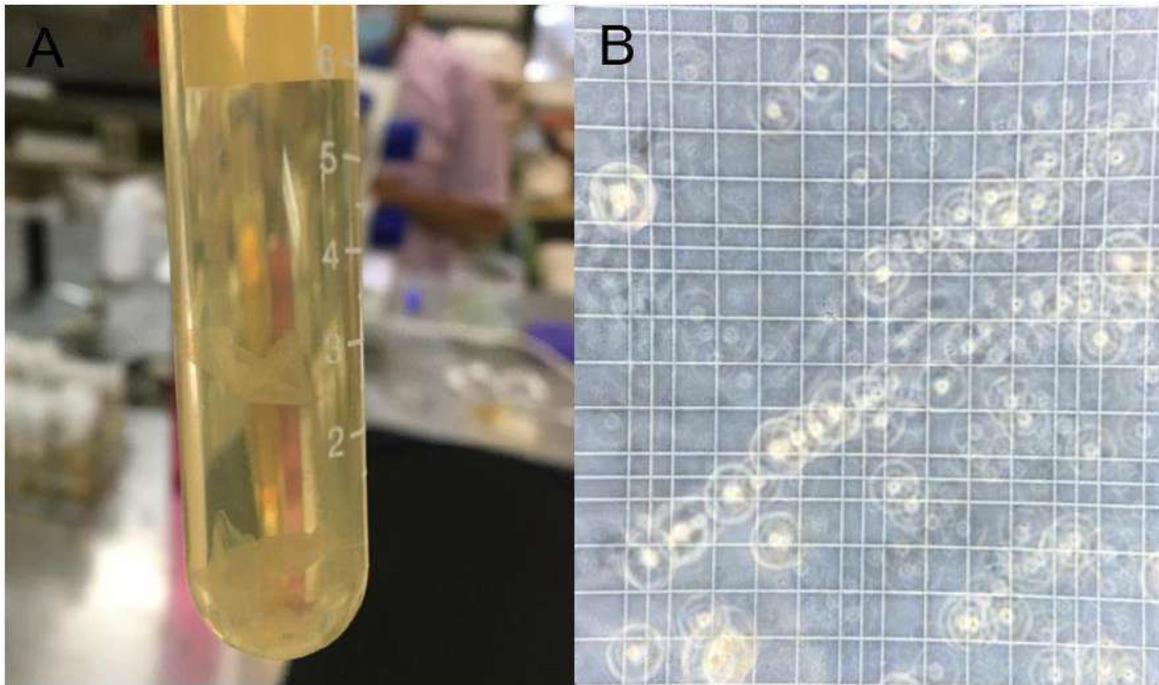


Figura 6. *Arthrobacter ilicis*. (A) *A. ilicis* en medio de cultivo; (B) Conteo de *A. ilicis*.

#### 4.2.5. Prueba de la relación planta-bacteria expuestas al mercurio

Se realizó la siembra de las semillas en almácigos con cavidades de 100 mL, se colocaron 4 semillas por almácigo (**Figura 7**), se utilizó perlita como sustrato y éstas se colocaron en un invernadero durante 5 meses (**Figura 8**). Las plántulas se trasplantaron al mes en macetas de 1.5 L en suelo contaminado con mercurio caracterizado siguiendo la NOM-021-SEMARNAT-2000, con una capa de 2 cm de tezontle, con la finalidad de evitar o minimizar la pérdida de suelo durante los riegos.

Se crecieron las plantas por 5 meses, los primeros 2 meses con un riego diario dadas las condiciones muy altas de temperatura en el invernadero y los últimos 3 meses con riegos cada 3 días, no se adicionaron fertilizantes ni nutrientes al agua.

El proyecto se llevó a cabo en invernadero bajo condiciones controladas: temperatura (37 – 42 °C) y humedad (60 – 80 %).



Figura 7. Almacigos con perlita.



Figura 8. Planta de *Nicotiana glauca*. (A) Plántula de 3 meses; (B) Planta de 5 meses.

Todos los jueves durante cuatro meses se agregaron las colonias bacterianas en medio líquido LB, y se hizo a dos cuartas partes del tallo con respecto a la hoja (Figura 9).



Figura 9. *Nicotiana glauca* inoculada con bacteria.

#### 4.2.6. Conteo de bacterias utilizando el tallo y hoja.

Para el conteo de bacterias se realizó el análisis tomando 1 cm de tallo o de hoja (**Figura 10**), se lavó con jabón y agua, después se lavó con agua destilada y se cortó con un bisturí en pedazos muy pequeños. Se colocaron en tubos de ensaye esterilizados y se llevaron a 10 mL con agua destilada estéril, se agitaron 10 veces, se tomó 0.2 mL de disolución y se colocaron en cajas Petri con agar previamente esterilizado, se utilizó un asa para hacer el barrido y se cerraron las cajas con Parafilm.

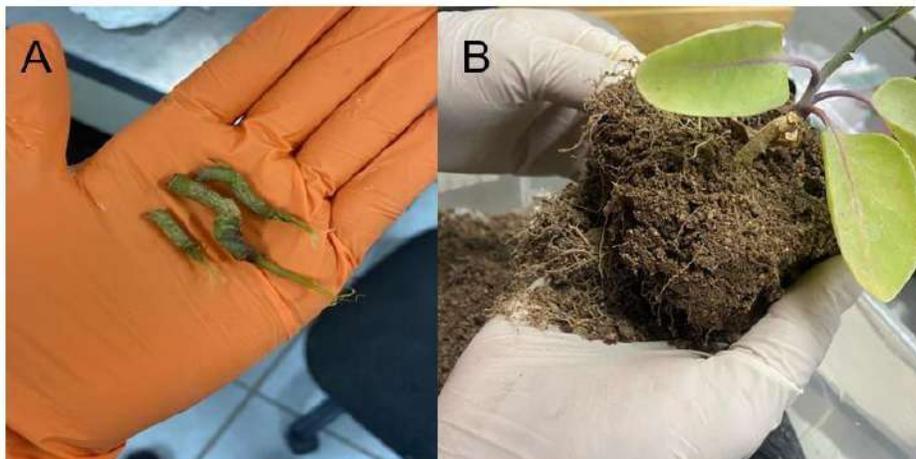


Figura 10. Planta de *Nicotiana glauca* sometida a análisis microbiológicos (A). Tallo; Planta completa (B).

#### 4.2.7. Conteo de bacterias en suelo.

Para el conteo de bacterias se utilizó 1 g de suelo y se adicionaron 10 mL de agua destilada estéril, se agitó 10 veces y se tomó una alícuota de 0.1 mL el cual se llevó a 1 mL, de ahí se volvieron a tomar 0.1 mL, se llevaron a 1 mL y de esta última dilución se tomaron 0.1 mL los cuales se colocaron en cajas Petri con agar previamente esterilizado, se utilizó un asa para hacer el barrido y se cerraron las cajas con Parafilm (**Figura 11**).



Figura 11. Cajas Petri con agar LB.

#### 4.2.8. Análisis estadístico

Se llevó cabo el análisis de las medias de las plantas con tratamiento contra las plantas control por el método de *t*-Student ( $p < 0.5$ ) y para la comparación entre tratamientos se utilizó la prueba post-hoc de Tuckey ( $p < 0.5$ ) utilizando el sistema Prisma 8.0. Una sola fase, al azar y una unidad experimental de 3 plantas con 3 repeticiones y 6 tratamientos.

#### 4.3. Diseño Experimental.

Para este estudio se utilizó el diseño experimental mostrado en la **Figura 12**. Se realizó el montaje del experimento con 3 repeticiones y una unidad experimental de 9 plantas de *N. glauca* bajo un diseño aleatorio simple con los siguientes tratamientos:

- Arena
- Suelo contaminado
- Control, arena sin Hg con *N. glauca*.
- Suelo contaminado con Hg con planta e inoculado con *Arthrobacter aurescens*.
- Suelo contaminado con Hg con planta e inoculado con *Arthrobacter ilicis*.
- Suelo contaminado con Hg con planta e inoculado con *Bacillus simplex*.
- Suelo contaminado con Hg con planta e inoculado con el consorcio.
- Suelo contaminado con Hg con planta sin tratamiento con bacterias.

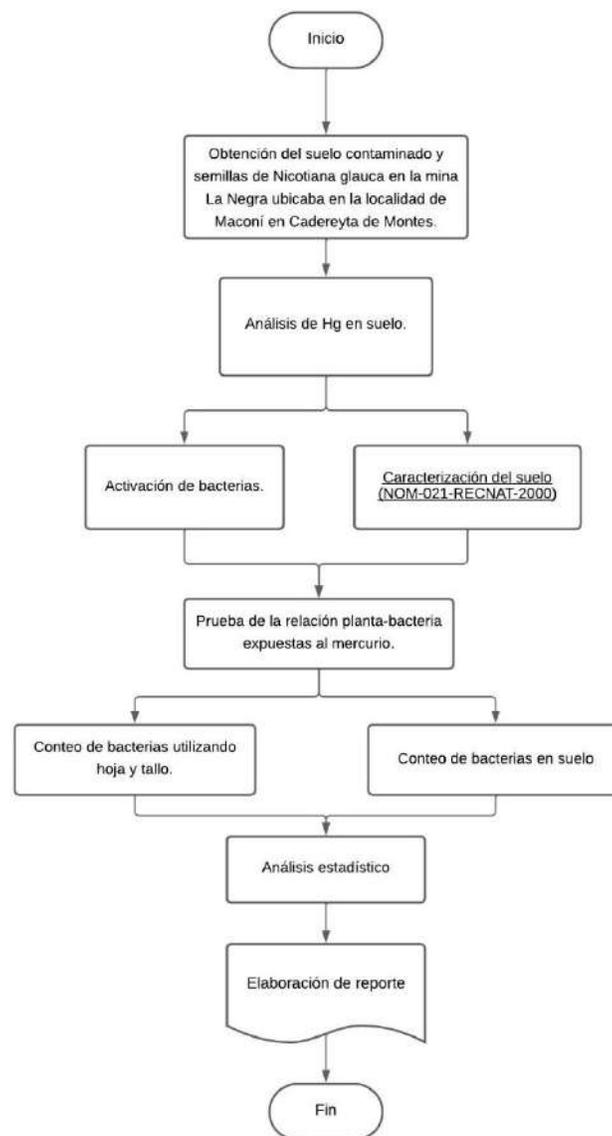


Figura 12. Diagrama de flujo de diseño experimental.

## 5. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### 5.1. Caracterización de suelo.

Los resultados obtenidos para la caracterización de suelo fueron pH, materia orgánica (M.O.), textura, conductividad eléctrica (CE), fósforo (P), capacidad de intercambio catiónico (CIC) y nitrógeno (N) los cuales se presentan en el **Cuadro 11**. Se caracterizó el jale y la arena (control) en un inicio y después de realizarse los diferentes tratamientos con bacterias.

Cuadro 11. Caracterización de los jale tratados con *N. glauca* y microorganismos.

Variable	Tratamiento		Control	Jale + planta <i>A. aureoscens</i> <sup>1</sup>	Jale + planta <i>A. ilicis</i> <sup>2</sup>	Jale + planta <i>B. simplex</i> <sup>3</sup>	Jale + planta Consortio	Jale con planta
pH	Arena 8.2 ± 0 b	Jale 7.4 ± 0.1 cde	9.4 ± 0.1 a	7.4 ± 0.1 cde	7.2 ± 0.2 de	7.1 ± 0.1 e	7.5 ± 0.2 cd	7.6 ± 0.06 c
M.O.	1.286 ± 1.282 b	0 ± 0 c	3.863 ± 0.263 a	3.305 ± 0.604 a	3.003 ± 0.250 a	0.222 ± 0.385 c	1.788 ± 0.103 b	1.921 ± 0.362 b
Textura (Arena-Limo-Arcilla)	Arena 92-5-3	Arena 95-4-1	Arena 92-5-3	Arena 95-3-2	Arena 94-5-1	Arena 95-4-1	Arena 95-4-1	Arena 94-4-2
CE	3.22 ± 0.13 a	2.21 ± 0.34 b	0.085 ± 0.01 c	3.13 ± 0.04 a	2.996 ± 0.09 a	3.14 ± 0.05 a	3.453 ± 0.74 a	2.836 ± 0.01 ab
P	0.518 ± 0.04 b	0.891 ± 0.08 b	3.319 ± 0.09 a	3.229 ± 0.166 a	3.169 ± 0.039 a	3.055 ± 0.034 a	3.079 ± 0.104 a	3.114 ± 0.121 a
CIC	23.761 ± 1.550 e	202.181 ± 10.510 ab	108.035 ± 2.725 d	211.484 ± 5.059 a	197.675 ± 12.037 ab	214.289 ± 21.796 a	155.893 ± 6.623 c	171.294 ± 21.247 bc
N	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND

Para cada variable, los resultados muestran la media ± error estándar. Las letras indican las diferencias entre las medias usando la prueba de comparaciones múltiples de Tukey ( $p=0.05$ ), <sup>1</sup>*Arthrobacter aureoscens*, <sup>2</sup>*Arthrobacter ilicis*, <sup>3</sup>*Bacillus simplex*.

### 5.2. pH

El pH del control (9.4) aumentó con respecto a la arena (8.2), esto se debe a que tenemos pH alcalinos en el agua. Para los tratamientos de *B. ilicis* y *A. simplex* se presentó un pH menor de 7.2 y 7.1 respectivamente (Cuadro 9) en comparación con el tratamiento que solo contenía jale (7.6), pasando de medianamente alcalino a neutro. El pH influye en el crecimiento de los microorganismos, el rango óptimo para su desarrollo va de 6.0 hasta 8.5, hay bacterias que se pueden desarrollar a un pH

más alto o más bajo pero la mayoría prefieren un pH ácido (Cervantes-Martínez y col., 2017; Buckman y col., 1991).

De acuerdo con Osorio (2012) el pH ideal del suelo para la absorción de nutrientes por parte de las plantas debe de ser ácido, dado que los iones de  $H^+$  y  $OH^-$  son determinantes para la solubilidad de los nutrientes en el suelo. Cuando un suelo tiene un pH cercano a la alcalinidad o neutralidad la abundancia de los iones  $OH^-$  produce la precipitación de compuestos insolubles de zinc, hierro y manganeso, lo que da como consecuencia micronutrientes no disponibles para su absorción por las raíces de las plantas (Osorio, 2012). A lo largo de los años, se ha demostrado que cuando el suelo es inoculado con *Bacillus spp.* los ácidos orgánicos disminuyen el pH de la rizosfera favoreciendo la solubilización y liberación de fósforo (Osorio, 2009).

No se logró obtener un pH ideal para que las plantas de *N. glauca* pudieran absorber los micronutrientes necesarios para su óptimo desarrollo, pero se logró observar un cambio en el pH, lo cual nos indica que las bacterias acidificaron el suelo, dejando disponibles a los micronutrientes fósforo, potasio, azufre, calcio, cobre, zinc, magnesio y molibdeno basándonos en la **Figura 13** (Castellanos, 2014).

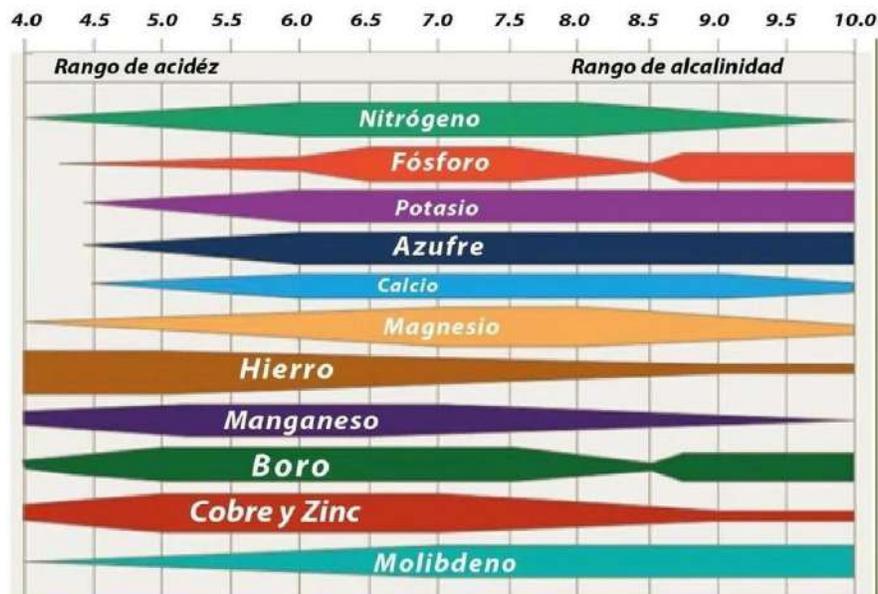


Figura 13. Disponibilidad de nutrientes dependiendo del pH.

### **5.3. Materia orgánica**

Para los resultados de materia orgánica en todos los tratamientos se pudo observar una mayor concentración de ésta comparado con el jale, pasando de un valor inicial de 0 a 3.863 para el control, 3.305 para *A. aurescens*, 3.003 para *A. ilicis*, 0.222 para *B. simplex*, 1.788 para el control y 1.921 para jale solo con planta. La materia orgánica fue incrementando debido a que las hojas de la misma planta caían en el suelo y se descomponían con el tiempo y en el caso de los tratamientos, las bacterias, ya que estas aportan materia orgánica al momento de terminar su ciclo de vida y descomponerse.

La M.O. desarrolla un papel vital en las funciones del suelo, como lo son la purificación y regulación del agua, la regulación del carbono, el ciclo y la disposición de los nutrientes (Schulte y col., 2014), Por lo tanto, la fitorremediación mejora el contenido de materia orgánica en suelos contaminados. La materia orgánica y el intercambio catiónico son magnitudes directamente proporcionales (Grand y col., 2020) , esto quiere decir que cuando una aumenta por consecuente la otra también y en este caso se cumplió esa igualdad, la materia orgánica aumentó en todos los tratamientos, incluyendo al tratamiento donde no se colocaron bacterias. Las bacterias también aumentaron la velocidad de la descomposición de toda la M.O. que existía en el jale, como son las hojas, raíces y las mismas bacterias.

### **5.4. Nitrógeno**

De acuerdo con los análisis realizados, los valores para nitrógeno fueron no detectado. Las formas orgánicas de nitrógeno disponible son aminoácidos, proteínas y aminoazúcares pero son las formas inorgánicas de nitrógeno las que pueden absorber las plantas, las cuales son amonio ( $\text{NH}_4^+$ ) y nitrato ( $\text{NO}_3^-$ ) (Verhulst y col., 2015) y solo se pueden obtener en suelos ácidos.

El 90-95% de nitrógeno presente en el suelo deriva de la materia orgánica (Enriquez y col., 2022) y el contenido de materia orgánica para las muestras iniciales fue de 0, lo cual indica un valor no detectable.

## 5.5. Textura

En la determinación de textura, para todas las muestras dio como resultado un suelo arenoso. La textura del suelo influye directamente en las plantas con su capacidad de retención de agua, disponibilidad de nutrientes, en el rendimiento de cultivo, la capacidad de intercambio catiónico, la capacidad del drenaje (Gisbert y col., 2010; Universidad Internacional de riego, 2019) y es la única propiedad del suelo que no cambia con el tiempo ni con ninguna de las diferentes prácticas de manejo (Strivers, 2023). Los resultados obtenidos después de someter a los tratamientos de remediación no tuvieron diferencia significativa entre ellos, los cuales indican que se mantuvo su textura, la cual sigue siendo arenosa (Cuadro 9).

## 5.6. Conductividad eléctrica

Con respecto al análisis para la determinación de CE, no hay diferencia significativa entre los tratamientos con respecto al jale con planta (2.83 mS/cm) teniendo un rango de 2.99 a 3.14 mS/cm (**Cuadro 11**) dándonos un resultado ligeramente salino (**Cuadro 12**). En el caso del resultado para la arena (3.22 mS/cm) si se presentó una diferencia significativa con respecto al control (0.085 mS/cm), disminuyendo un 97.4%. La salinidad de un suelo se mide a través de la conductividad eléctrica, donde la salinidad se define como la acumulación de sales solubles en agua (Cao y col., 2018) y esta afecta directamente al potencial osmótico del suelo, al crecimiento, el paso de agua y el metabolismo de nutrientes en las plantas (GallartMartínez, 2017).

La CE se ve afectada por el contenido de agua, el de arcilla y la presencia de iones intercambiables en el suelo (CIC) (Cortés-D y col., 2013), al tener un suelo con textura arenosa, no se contenía una porción de silicatos (arcillas) suficiente para que hubiera una retención de cationes y así se produjera una corriente eléctrica alta. La materia orgánica debido a las cargas negativas que contiene influye un papel importante en la CE, ya que esta ayuda a la retención de iones con carga positiva aumentando así la CE. Al no tener bacterias en el control, no se pudo realizar una

descomposición adecuada de la materia orgánica, por lo tanto, no hubo una retención de sales y éstas se lixiviaron con los riegos.

Cuadro 12. Efectos de salinidad (FAO, 2017).

Clase de suelo salino	Conductividad eléctrica del extracto de saturación (dS/m)	Efecto en cultivo
No salino	0-2	Efectos de la salinidad imperceptibles.
Ligeramente salino	2-4	Rendimientos en cultivos sensibles pueden verse limitados.
Moderadamente salino	4-8	Rendimientos limitados en la mayoría de los cultivos.
Fuertemente salino	8-16	Solo cultivos tolerantes tendrán rendimientos aceptables.
Muy fuertemente salino	>16	Solo cultivos muy tolerantes tendrán rendimientos aceptables.

### 5.7. Fósforo

En cuanto al fósforo en el suelo, se pudo observar un aumento en todos los tratamientos, del valor inicial de 0.891 para el jale inicial aumentó a 3.299 con *A. aurescens*, 3.169 con *A. ilicis*, 3.055 con *B. simplex*, 3.453 con el consorcio y por último 3.114 utilizando solamente planta (**Cuadro 11**). El fósforo es uno de los nutrientes principales para las plantas el cual se puede encontrar en diferentes formas, tanto inorgánicas (Pi) como orgánicas (Po) (Patiño-Torres, 2014). En la mayoría de los suelos el 50-70 % del fósforo total lo comprende del Pi y este depende el pH. Para los valores de pH de los tratamientos (**Cuadro 11**) el Pi en la solución del suelo está presente principalmente como  $H_2PO_4^-$  y  $HPO_4^{2-}$  lo cual influye en su disponibilidad y reactividad. La forma más reactiva del fósforo y la que más rápido se fija al suelo es  $H_3PO_4$  la cual solo se puede obtener en pH ácidos ( $pH \leq 3$ ) y después en su forma  $HPO_4^{2-}$ , dejándolo de forma disponible para que la planta lo pudiera fijar (Patiño-Torres, 2014).

Existen bacterias capaces de solubilizar el P en el suelo (MSF) debido a su acción metabólica, dentro de las cuales se encuentran *Arthrobacter spp.* y *Bacillus spp.* como lo mencionan en varios de sus estudios Goldstein y Krishnaraj (2007). Este metabolismo explica por qué en los tratamientos con bacterias el P aumento, siendo *B. simplex* la mayor con un valor de 3.453.

### 5.8. Capacidad de intercambio catiónico

Por último, para los resultados de CIC se pudo observar una mayor capacidad para los tratamientos, pero siendo los tratamientos con *A. aurensceus* y *B. simplex* de 211.484 y 214.289 Meq/100g respectivamente donde los valores se pueden interpretar como una CIC media de acuerdo con la NOM-021-SEMARNAT-2000, mientras que en los demás tratamientos no se presenta una diferencia significativa (**Cuadro 11**). La capacidad de intercambio catiónico evalúa los sitios de carga de las arcillas, tanto las cargas permanentes, como las cargas dependientes de pH, (Pérez-Rosales y col., 2017) por lo tanto determina la capacidad de un suelo de retener estas cargas y dejarlas disponibles para ser absorbidas por la planta.

La CIC puede ser un indicador en la calidad del suelo, cuando se obtiene un valor alto en la CIC se proporciona una mayor capacidad en la disposición de los nutrientes, mientras que un valor bajo limita su intercambio (**Cuadro 13**) (CastañoRobayo y col., 2022). Como ya se mencionó en los apartados anteriores el pH, CE y M.O, están estrechamente relacionadas entre si e influyen en la asilimación, disponibilidad y retención de nutrientes (Estrada-Herrera y col., 2017). Al aumentar el CE y la M.O. con los tratamientos, se pudo observar que también aumento la CIC, demostrando que estas características del suelo dependen entre sí.

Cuadro 13. Valores de CIC para suelos ácidos y alcalinos (NOM-021-SEMARNAT2000).

Clase	CIC (Cmol(+) Kg <sup>-1</sup> )
Muy alta	>40

Alta	25-40
Media	15-25
Baja	5-15
Muy baja	>5

### 5.9. Efecto de los microorganismos sobre las características morfológicas y la sobrevivencia de *Nicotiana glauca*.

Los resultados de número de hojas, altura y sobrevivencia que se pueden observar en el **Cuadro 14** fueron monitoreados del día 1 (15 de septiembre del 2022) día 120 (19 de diciembre de 2022) para todos los tratamientos. El día 129 (27 de diciembre de 2022) se obtuvieron los resultados de longitud de raíz (**Cuadro 14**) y biomásas de la raíz.

Cuadro 14. Altura, número de hojas y sobrevivencia de *N. glauca* inoculada con los diferentes microorganismos del día 1 al 120.

Fecha	Variable	Tratamiento					
		Control	<i>Arthrobacter aureescens</i>	<i>Arthrobacter ilicis</i>	<i>Bacillus simplex</i>	Consorcio	Jale
15/09/2022	Número de hojas	8.22 ± 1.90 a	3.86 ± 1.77 b	1.86 ± 0.69 bc	2.86 ± 1.34 bc	2.57 ± 1.27 bc	1.42 ± 0.53 c
	Altura (cm)	5.90 ± 1.77 a	1.22 ± 0.60 b	1.12 ± 0.62 b	1.92 ± 0.98 b	2.34 ± 0.80 b	0.88 ± 0.37 b
	Sobrevivencia (%)	100 ± 0.0	77.78 ± 19.24	77.78 ± 19.24	77.78 ± 19.24	77.78 ± 19.24	77.78 ± 19.24
13/10/2022	Número de hojas	7.55 ± 1.50 a	3.0 ± 1.0 b	2.20 ± 0.83 b	3.33 ± 1.50 b	3.28 ± 1.50 b	1.25 ± 0.50 b
	Altura (cm)	6.30 ± 1.78 a	1.65 ± 0.61 b	1.34 ± 0.58 b	2.26 ± 0.94 b	2.71 ± 0.79 b	1.17 ± 0.17
	Sobrevivencia (%)	100 ± 0.0	77.78 ± 19.24	55.60 ± 19.24	66.70 ± 0.0	77.78 ± 19.24	44.44 ± 19.24
10/11/2022	Número de hojas	7.55 ± 1.13 a	3.16 ± 1.47 b	3.25 ± 0.95 b	4.0 ± 0.70 b	4.16 ± 1.74 b	3
	Altura (cm)	6.88 ± 1.78 a	2.10 ± 0.97 b	1.52 ± 0.35 b	2.62 ± 1.0 b	3.40 ± 1.40 b	2
	Sobrevivencia (%)	100 ± 0.0	66.70 ± 0.0	44.44 ± 19.24	55.60 ± 19.24	66.70 ± 0.0	11.11
19/12/2022	Número de hojas	7.90 ± 1.53 a	3.66 ± 1.03 b	4.0 ± 1.41 b	4.80 ± 0.83 b	4.83 ± 1.16 b	4
	Altura (cm)	7.48 ± 1.86 a	2.55 ± 1.01 b	1.85 ± 0.43 b	2.96 ± 1.15 b	4.26 ± 2.39 b	2
	Sobrevivencia (%)	100 ± 0.0	66.70 ± 0.0	44.44 ± 19.24	55.60 ± 19.24	66.70 ± 0.0	11.11
	Longitud de raíz	20.27 ± 7.03 a	5.25 ± 2.60 b	3.12 ± 1.31 b	5.50 ± 1.50 b	5.75 ± 3.09 b	

Para cada variable, los resultados muestran la media ± error estándar. Las letras indican las diferencias entre las medias usando la prueba de comparaciones múltiples de Tukey ( $p=0.05$ )

Para todas las variables de respuestas evaluadas durante los diferentes tiempos (**Cuadro 14**), el control (arena-planta) siempre presentó un 100 % de sobrevivencia, siendo estadísticamente significativo respecto a los tratamientos, estos resultados

muestran con ello un nivel menor de estrés al no estar en presencia de un suelo contaminado con Hg. Este mismo comportamiento se observó para la altura, la cual estuvo en un rango de 5.90 a 7.48 cm y un número de hojas en un rango de 7.55 a 8.22, mientras que los tratamientos presentaron un rango de 1.25 a 4.80 en número de hojas, 0.88 a 4.26 en altura y 4.44 a 77.78 en sobrevivencia. Cuando se presenta una situación de estrés (biótico o abiótico) las plantas reaccionan disminuyendo o deteniendo algunas de sus funciones fisiológicas básicas como lo son la fotosíntesis, respiración, transpiración y crecimiento (Beltrano y col., 2011). La fitotoxicidad se expresa con mayor facilidad en suelos ácidos y afecta directamente al crecimiento como a la formación de raíces laterales y secundarias (Beltrano y col., 2011). Como se puede observar en la **Figura 14**, la planta que no estuvo en contacto directo con el Hg tuvo valores mayores visibles en cuanto a su tamaño, número y color de hojas, siendo claro el contraste que puede ser estar en un ambiente no óptimo para su crecimiento.



Figura 14. Comparación de *N. glauca* a los 3 meses de edad en arena y jale.

Estudios realizados por Durango-Vargas y col. (2020) demuestran que la fitotoxicidad ocasionada por Hg en plantas de arroz se muestra con una clorosis en los ápices de las hojas y resultados similares fueron detectados para el caso de *N. glauca* (**Figura 15**). La fitotoxicidad ocasionada por compuestos mercuriales se ha reportado para algunas plantas como el arroz, el trigo y otros cereales donde se observa necrosis en la punta de las hojas, disminución del porcentaje de germinación, germinación anormal y reducción en la longitud de tallos y raíces (Durango-Vargas y col., 2020; Cavallini y col., 2008).



Figura 15. Fitotoxicidad en *N. glauca* causada por absorción de Hg.

Este estrés ocasionado por la presencia de metales pesados obliga a la planta a buscar estrategias activas y pasivas para evitar la entrada de los metales a su organismo, los cuales pueden ser la producción de ácidos orgánicos, antioxidantes, fitoquelatinas y prolina (Sánchez-García de la Torre, 2015).

Para los datos de longitud de raíz el control dio un mayor resultado siendo de 20.27 cm (**Cuadro 14**) con respecto a las plantas sometidas a los diferentes tratamientos en las cuales no hubo diferencia las cuales van en un rango de 3.13 a 5.80 cm (**Figura 17**).

Para el tratamiento de jale-planta desde el día 31 (13 de octubre del 2022) dejó de ser estadísticamente significativo puesto que solo una planta sobrevivió.

Sharma y col., 2020 y Girolkar y col., 2020, mencionan que el crecimiento de las plantas y la biomasa tienen una influencia directa en los efectos de la fitorremediación por microbios, principalmente especies de *Bacillus* y *Pseudomonas* pueden mejorar la fitorremediación al fomentar el crecimiento de las plantas. Se han propuesto diversas especies que gracias a su biomasa son ideales para poder acumular metales pesados en raíz, brote y hojas, como lo son *Nicotiana tabacum*, *Chenopodiaceae* *Typha latifolia*, *Helianthus annuus* L, *Cannabis sativa*, *Thelypteris palustris* y *Zea mays* (Tozser y col.; 2019, Hejna y col., 2020; Chauhan y Mathur, 2020; Sharma, 2021).

#### **5.10. Sobrevivencia de *N. glauca* expuesta a Hg.**

Se monitoreó la sobrevivencia de las plantas a partir del día 1 (15 de septiembre de 2022) al día 120 (19 de diciembre de 2022). A partir del día 31 fue menor del 11.1 % para el jale-planta que no contenía bacterias (**Cuadro 14**), lo cual podría señalar que las rizobacterias influyen en superar el estrés en la planta ocasionado por los metales pesados existentes. Cuando el contenido de Hg en el suelo alcanza niveles que rebasan los límites máximos permitidos para suelos (23 mg/kg para uso agrícola/residencial/comercial) (NOM-147-SEMARNAT/SSA1-2004) causan efectos inmediatos en las plantas, como inhibición del crecimiento y su desarrollo, ocasionando que este crecimiento sea lento o llegando al extremo de muerte por fitotoxicación (Prieto-Méndez y col, 2009). Este contenido de metales pesados en el suelo también suprime la composición cualitativa y cuantitativa de las comunidades microbianas, las cuales están influenciadas por su actividad metabólica y diversidad (Perpetuo y col., 2011; Ha y col., 2011; Ngo y col., 2020; Sharma y Rath, 2020).

Para el control (arena-planta) se tiene una sobrevivencia del 100 % (**Cuadro 14**), por lo tanto, la baja sobrevivencia de los demás tratamientos se le puede atribuir al alto contenido de metales pesados y contaminantes en el jale, incluido el Hg. No existe diferencia significativa para la sobrevivencia entre el control y los tratamientos con las bacterias, los cuales van de 44.4 a 66.7 % (**Cuadro 14**), por lo que la sobrevivencia de las plantas se debe, probablemente, a la inoculación de las rizobacterias.

Las bacterias han desarrollado una capacidad de sobrevivir en estos ambientes contaminados debido a su exposición constante y prolongada a los compuestos tóxicos. Algunas de las capacidades que han desarrollado las bacterias se incluyen la biosorción, bioacumulación y biotransformación de metales y metaloides, habilidades que han sido empleadas para la biorremediación ex situ o in situ de zonas contaminadas por las actividades mineras (Toledo-Hernández y col., 2020).

Costa y Duta (2011), Hassan y col. (2008), El Baz y col. (2015) han descrito diversos géneros bacterianos capaces de sobrellevar, bioacumular y biotransformar distintos metales pesados; de los que sobresalen *Bacillus sp.*, *Pseudomonas sp.*, *Actinomyces sp.*, *Serratia sp.*, *Enterobacter sp.*, *Thiobacillus sp.*, *Rhodobacter sp.*, *Agrobacterium sp.*, *Acidithiobacillus sp.*

### **5.11. Biomasa**

Para los resultados evaluados el 27 de noviembre del 2022 no hubo diferencia significativa para la masa de raíz en ninguno de los tratamientos inoculados con bacterias, que van en el rango de 0.1850 a 0.2767 g mientras que el control presentó valores más altos de 4.1633 g (**Figura 16 A**). Como se mencionó en el apartado anterior, este valor mayor se debió a que la planta no estuvo en un constante estrés por el Hg, dándole la oportunidad de poder desarrollarse plenamente tanto su masa aérea como su raíz.

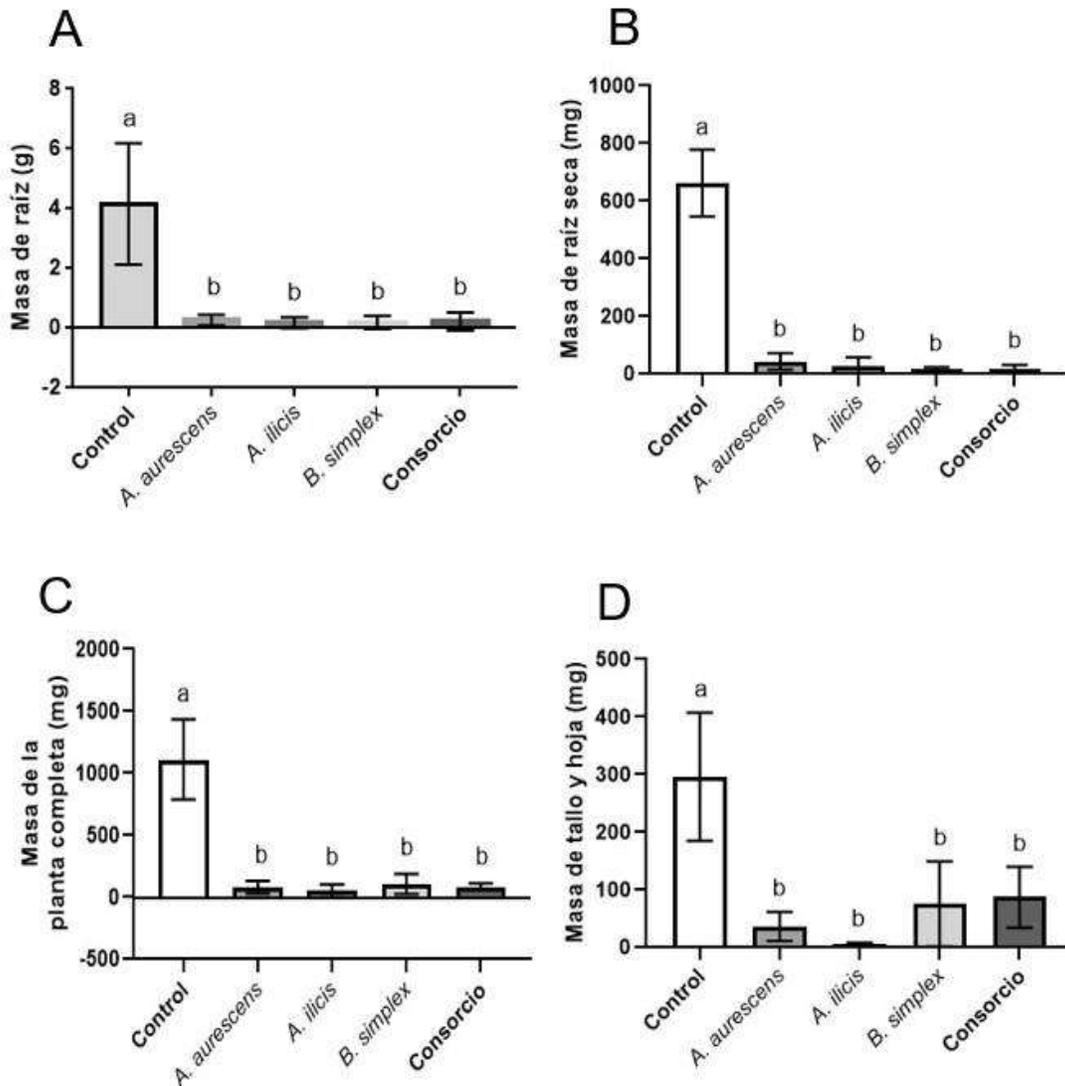


Figura 16. Biomasa de *N. glauca* a los cuatro meses de tratamiento. (A) masa de raíz en fresco (g); (B) masa de raíz en seco (mg); (C) masa de planta completa; (D) masa de tallo y hoja (mg).

Los valores en seco para la raíz para el control fue 663 mg siendo mayor que los resultados de los tratamientos de fitorremediación de 16 a 44 mg (**Figura 16 B**). Para la biomasa en planta completa (**Figura 16 C**) en donde incluye la masa de seca de tallo, hoja (**Figura 16 D**) y raíz se obtuvieron los siguientes valores para los tratamientos de 108 a 50 mg y el valor del control siendo mayor con 1111 mg.

En la **Figura 17 A** se puede observar al control después de los 4 meses donde la longitud de su raíz (**Cuadro 14**) fue de 20.27 cm. Para la comparación de longitud de raíz (**Figura 17 B**) se pueden observar a el control y a la única planta

sobreviviente del jale sin bacteria con una longitud de 5 cm. Debido a que fue la única planta que sobrevivió, no se obtuvieron repeticiones por lo que no se pudieron realizar comparaciones estadísticas. En los resultados obtenidos en la **Figura 16** se pueden observar a la planta completa, tanto las hojas, el tallo y la raíz del control y los tratamientos.

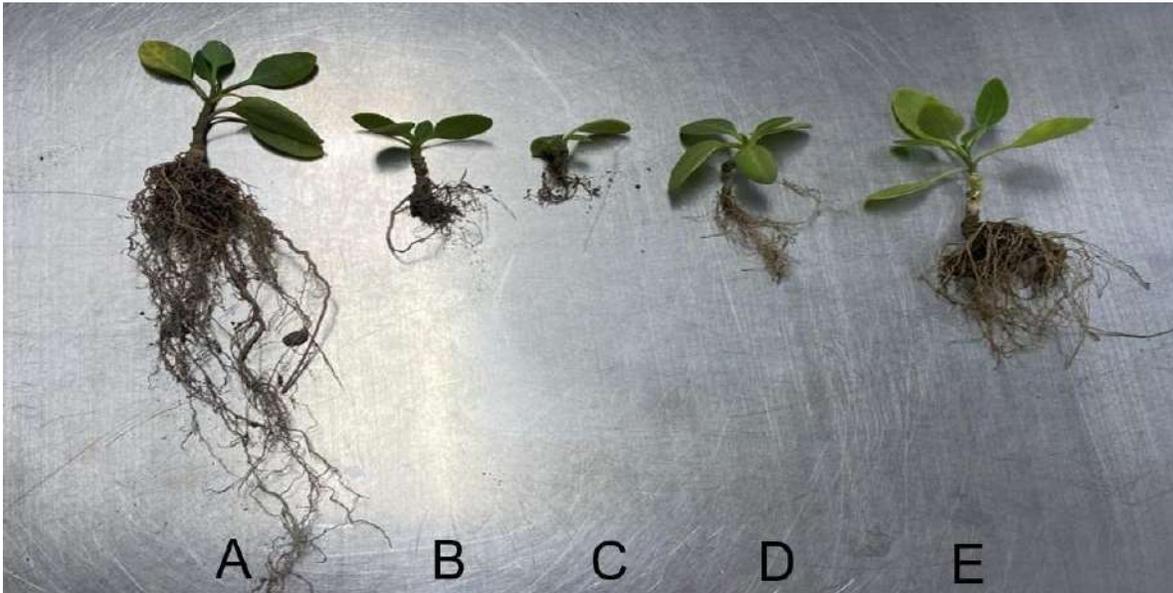


Figura 17. Comparación entre tratamientos. (A) Control; (B) *A. aurescens*; (C) *A. ilicis*; (D) *B. simplex*; (E) Consorcio.

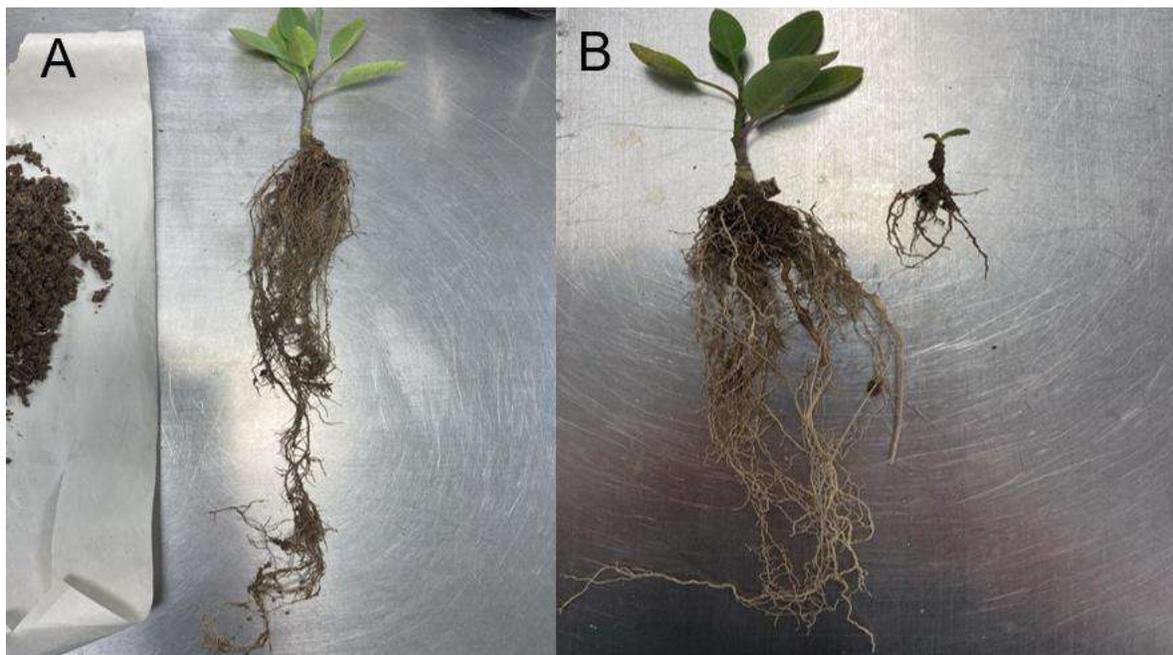


Figura 18. Plantas de *N. glauca* de 4 meses. (A) Control; (B) Comparación de control con jale sin bacteria.

Es visible la influencia de las bacterias en el desarrollo de la planta, el control y el consorcio siempre destacaron en cuanto a la mayor cantidad de biomasa, mejor color y mayor sobrevivencia.

### 5.12. Análisis microbiológicos.

Para las UFC por  $\text{cm}^2$  realizado en planta, tanto en tallo como en hoja, no se encontró una diferencia significativa, siendo el único diferente *A. aurescens* en tallo con un valor de 55,300. Los resultados de los tratamientos van en un rango de 3,925 a 16,625 (Figura 19).

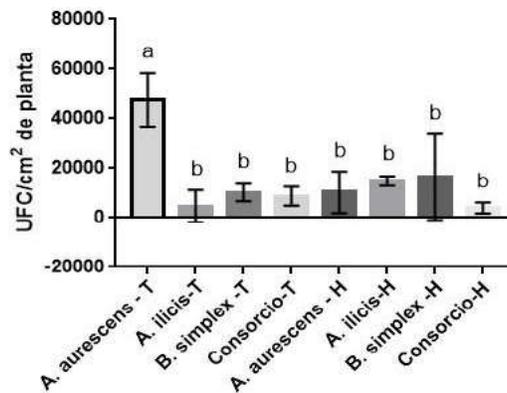


Figura 19. UFC/ $\text{cm}^2$  (unidades formadoras de colonias por centímetro cuadrado) en tallo y hoja de planta después de los 120 días de tratamiento.

Para las UFC por g realizado en suelo rizosférico, no se encontró una diferencia significativa, siendo *A. aurescens* el único diferente con un valor de  $1.33 \times 10^6$ . Para los demás tratamientos se obtuvo un rango que va de 50,000 a 443,667 (Figura 20).

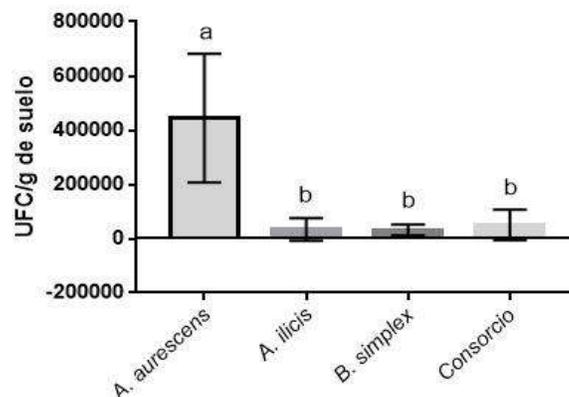


Figura 20. UFC/g de suelo después de 120 días de tratamiento.

En la **Figura 21** se pueden observar las colonias bacterianas aisladas de los diferentes tratamientos del tallo de *N. glauca* siguiendo la metodología descrita en el apartado 5.4.1.



Figura 21. Colonias bacterianas aisladas de tallo donde C3-1 fue el control, B1-1 *A. aurescens*, B2-1 *A. ilicis*, B3-1 *B. simplex* y T1-1 el consorcio.

### 5.13. Análisis del contenido de mercurio en planta y suelo.

Los arbustos de *N. glauca* tienen una altura promedio de hasta 6 metros y una lámina de 3-25 cm de largo (Rodríguez-Trejo, 2016), donde la biomasa promedio de una planta adulta es de 195 g, esto cuando no hay una condición de estrés por una alta conductividad eléctrica provocada principalmente por metales pesados (Falasca y col., 2019).

Si hipotéticamente se pudieran simular las condiciones como las de Falasca y col. (2019) utilizando *A. ilicis* como bacteria fijadora de Hg, 1.809 g/L como densidad aparente (Damas-Solano, 2022) y el valor inicial de la concentración de Hg en el jale (79 mg/kg) se podrían fijar 0.2736 mg de Hg por planta, lo cual podría fitorremediar 5.472 kg de Hg por hectárea con una densidad de 20,000 plantas.

Si las condiciones fueran ideales, donde todas las semillas germinan y llegan a una adultes plena, con una buena altura y un excelente porcentaje de biomasa, se podrían fijar 428.733 kg de Hg por hectárea y de acuerdo con el trabajo realizado tardaríamos 78.3 años en poder remediarlo, esto asumiendo que nuestras 20,000 plantas de *N. glauca* sobreviven a la fitotoxicación ocasionada por el Hg y que la concentración de Hg no aumentara.

Las plantas de las cuales se obtuvieron las semillas no median más de 2 metros, tenían poca biomasa (**Figura 22**) y en cuanto a cantidad, eran muy pocas, no más

de 15 plantas, lo que nos indicaba poca sobrevivencia, similar al presente trabajo. La sobrevivencia de plantas sin bacteria fue nula, no existe la opción de que las plantas sobrevivan a las concentraciones de Hg sin la presencia de las rizobacterias, lo cual nos habla de la gran influencia que tienen en el suelo.

Las rizobacterias tienen un papel fundamental para la sobrevivencia y la fijación del Hg en la planta, hablando estadísticamente y tomando a *A. ilicis* fue el tratamiento que más fijó Hg en la planta, y este se consideró el 100 % y la segunda bacteria que más fijó Hg fue *A. aurescens* con un 33.7 %. Es complejo fijar este Hg en la planta, puesto que el Hg se volatiliza y es liberado a la atmosfera en forma de  $Hg^0$ , el cual tiene un tiempo de residencia de alrededor de un año, mientras que en su forma oxidada  $Hg^{2+}$  tiene un tiempo de residencia de horas a meses (Caiza-Caiza, 2018). Esta porción de  $Hg^{2+}$  de la atmosfera se deposita en agua y suelo, transformándose en las formas tóxicas que fitotoxicaron a las plantas.

En la última década se le ha dado la importancia necesaria y urgente a poder buscar soluciones de estas formas tóxicas del Hg. Estas soluciones van en conjunto con la utilización de microorganismos y organismos, a continuación, en el **Cuadro 15** se presentan algunos trabajos con Hg.



Figura 22. *N. glauca* en jale Mina la Negra, Maconí.

Cuadro 15. Trabajos sobre fitorremediaciones de Hg.

Autor	Trabajo
Vidal-Durango y col., 2010.	Remediación de suelos contaminados con mercurio utilizando guarumo ( <i>Cecropia peltata</i> )
Zapata y col., 2017.	Efectos de la lombriz roja californiana ( <i>Eisenia foetida</i> ) sobre el crecimiento de microorganismos en suelos contaminados con mercurio de Segovia, Antioquia.
Puicon y col., s.f.	Bioremediation of soils polluted with mercury by using <i>Pseudomonas sp</i> isolated from informal mining zones.
Mariaca Restrepo y col., 2022.	Biorremediación de suelos contaminados por mercurio (Hg) utilizando la cepa <i>Pleurotus pulmonarius</i>

Cedeño Moreira y col., 2022.	Empleo de bacterias como alternativa de biorremediación en suelos contaminados con mercurio (Hg), Zinc (Zn), aluminio (Al) y cobre (Cu) con empleo de bacterias.
Montes y col., 2021.	Biorremediación de suelos contaminados con mercurio en el Bajo Cauca Antioqueño
Valenzuela-Cobos y col., 2022.	Eficiencia de los Hongos PLEUROTUS OSTREATUS Y ASPERGILLUS NIGER en la Biorremediación de Suelos Contaminados con Metales Pesados.
Muñoz-Chávez, 2017.	Evaluación in vitro de la capacidad de Maní forrajero ( <i>Arachis pintoi</i> W.C) y Guarumo ( <i>Cecropia peltata</i> L) en la biorremediación de suelos contaminados con mercurio.
Aguado y col., 2013.	Aislamiento y caracterización de rhizobia de leguminosas crecidas en suelos contaminados con mercurio para su uso en biorremediación.
García Cienfuegos y col., 2021.	Biorremediación de mercurio en suelos mediante Zea Mays Inoculado con Pseudomonas Pseudomonas Putida y la Adicción de Compost.

Para los análisis de Hg en planta se pudo observar una diferencia significativa entre los tratamientos, donde los resultados de *A. aurescens* (0.473 mg/kg) y *B. simplex* (0.60 mg/kg) son iguales entre sí. Se observa que la planta más tolerante y que retuvo más Hg fue la inoculada con *A. ilicis* con un valor de 1.403 mg/kg (**Figura 23**). Entre *A ilicis* y consorcio (0.933 mg/kg) no hubo diferencia significativa, debido a que el consorcio contenía a *A. ilicis*.

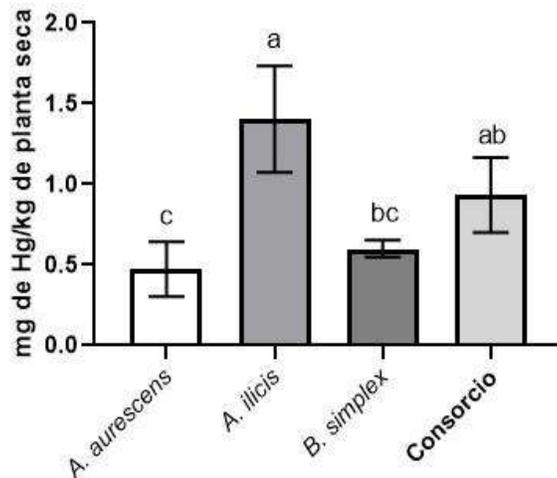


Figura 23. Contenido de Hg en planta sometida a fitorremediación.

Para el análisis inicial de Hg en suelo, el jale obtuvo un resultado de 79 mg/kg, mientras que para los resultados después de los tratamientos en suelo no hubo diferencia significativa, los cuales obtuvieron resultados de  $0.446 \pm 0.309$  mg/kg para el suelo inoculado con *A. aurescens*,  $0.476 \pm 0.011$  mg/kg para el consorcio y  $0.396 \pm 0.135$  mg/kg para el jale solo con planta.

Se tomó la decisión de solo mandar al laboratorio el tratamiento con *A. aurescens* porque tanto estadísticamente como visualmente fue el que mejor respuesta tuvo, desde su conteo de bacterias hasta la sobrevivencia de sus plantas, además de que se tomó en cuenta la bibliografía consultada donde *A. aurescens* siempre destacaba por su fijación de metales y contaminantes en el suelo (**Cuadro 9**). A pesar de que la estadística la proponía como la mejor opción se obtuvieron otros resultados para la fijación en planta, en la que destacó *A. ilicis* con un valor de 1.4033 mg/kg, al ser ambas del género *Arthrobacter* comparten similitudes en su metabolismo y en su mecanismo de respuesta al estrés, con lo cual se podría proponer a este género como la mejor opción a utilizar en fitorremediaciones.

## 6. CONCLUSIONES

El mercurio siempre ha existido en la naturaleza, por lo tanto, siempre hemos estado en contacto con él. Las malas prácticas en el manejo de residuos, la extracción excesiva de piedras preciosas por parte del sector minero y el desinterés del ser humano ante la contaminación ha ocasionado que este metal pesado esté en mayor abundancia en el suelo, ocasionando una contaminación que tardaría una vida humana en poderse remediar, aproximadamente 78.3 años.

Las bacterias *Arthrobacter aurescens*, *Arthrobacter ilicis* y *Bacillus simplex* demostraron ser especies bacterianas capaces de tolerar y fijar Hg y probablemente otros metales pesados en simbiosis con plantas ya establecidas en lugares contaminados, además de que también indicaron ser el factor principal de la sobrevivencia de la planta, ayudándole con el estrés ocasionado por la fitotoxicación. La presencia de Hg y otros metales pesados en el suelo influyeron en el crecimiento y desarrollo de *N. glauca*, ocasionando la poca sobrevivencia y fitotoxicación, como se pudo observar en la clorosis en las hojas y el lento crecimiento.

Por otra parte, estas especies de bacterias en simbiosis con *N. glauca* modificaron las propiedades fisicoquímicas en suelos mineros, disminuyendo su pH y por lo tanto aumentando todas las demás propiedades. Se demostró que las propiedades del suelo están estrechamente relacionadas entre sí, observando que cuando la M.O. aumenta, la CE y la CIC también, dejando a los nutrientes más disponibles para las plantas.

El presente trabajo logró determinar la efectividad de las bacterias y los cambios fisicoquímicos que sufrió el suelo a lo largo de 5 meses de experimentación, se necesita más tiempo para poder obtener mejores resultados en cuanto a la fijación de Hg, ya que se pudo observar que las plantas con bacterias estaban creciendo y desarrollándose lo mejor posible ante la fitotoxicación, quizá con un tiempo más prolongado se puedan lograr mejores valores de fijación en la planta.

## 7. BIBLIOGRAFÍAS

- Afzal**, M., Reichenauer, T., Sessitsch, A., Yousaf, S. (2012). The inoculation method affects colonization and performance of bacterial inoculant strains in the phytoremediation of soil contaminated with diesel oil. *International Journal of Phytoremediation*, 14(1), 35-47. <https://doi.org/10.1080/15226514.2011.552928>
- Aguado**, L., Fernández-Pascual, M. (2020). Aislamiento y caracterización de rizobias de leguminosas crecidas en suelos contaminados con mercurio para su uso en biorremediación. *DIGITAL.CSIC*. <https://digital.csic.es/handle/10261/200288>
- Arar**, M., Bakkour, R., Bernstein, A., Elsner, M. (2023). Microbial hydrolysis of atrazine in contaminated groundwater. *Chemosphere*, 322. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2023.138226>
- Bağrıaçık**, B., Dinçer, S., Sani, Z., Uslu, F., Yiğittekin, E. (2021). Engineering Properties of Sandy soil Improvement with *Bacillus Simplex*. *Research Square*. <https://doi.org/10.21203/rs.3.rs-340338/v1>
- Barrio-Vega**, N. (2017). Metales pesados en suelos y sus efectos sobre la salud. <https://hdl.handle.net/20.500.14352/20743>
- Beltrano**, J., Giménez, D. (2011). Estrés biótico y abiótico en las plantas. *Universidad Nacional de la Plata*, 2-8.
- Blanquer**, J., Ibáñez, S., Moreno-Ramón, H. (2010). La textura del suelo. *Universidad Politécnica de Valencia*. ResearchGate. [https://www.researchgate.net/publication/50839531\\_La\\_textura\\_del\\_suelo](https://www.researchgate.net/publication/50839531_La_textura_del_suelo)
- Brutti** L., Beltrán M., García-Salomone I. (2018). Ecología microbiana de la rizosfera de ryegrass utilizado para fitorremediar suelo contaminados con PAHs. En Disalvo L, García de Salamone I (Eds.), *Biorremediación de los Recursos Naturales* (pp. 102-125). (1ra ed.). Ediciones INTA.
- Buckman**, S., Buckman, J. (1991). Microbiología. En: Pulpa y papel, química y tecnología química (J. P. Casey, comp.). Vol. 2. LIMUSA. México.

**Caiza-Caiza, G. (2018).** Mercurio en el suelo. Contaminación y remediación. *Universidad Complutense*, 3-5.

**Calvo, P., Zúñiga, D. (2010).** Caracterización Fisiológica de cepas *Bacillus spp.* aisladas de la rizosfera de papa (*Solanum tuberosum*). *Ecología Aplicada*, 9(1), 31-39. <http://www.scielo.org.pe/pdf/ecol/v9n1/a04v9n1>

**Cámara de Diputados del H. Congreso de la Unión. (2022).** Secretaría de Servicios Parlamentarios. Ley Minera [Monografía en internet]. Consultado el 5 de agosto de 2022. Disponible en: <https://www.diputados.gob.mx/LeyesBiblio/pdf/LMin.pdf>.

**Cámara Minera de México. (2020).** Importancia de la minería en México [Monografía de internet]. Consultado el 5 de agosto de 2022. Disponible en: [https://www.geomin.com.mx/pdf/panel/litio/ImportanciaMineria\\_MX\\_ForoLitio.pdf](https://www.geomin.com.mx/pdf/panel/litio/ImportanciaMineria_MX_ForoLitio.pdf).

**Camargo-García, J., Arias-Morales, J., Muñoz-paredes, D. (2015).** Evaluación del contenido de mercurio en suelos y lechos de quebradas en la zona minera de Miraflores, Quinchía Colombia. *Redalyc.org*. 64(2), 165-166. <https://doi.org/10.15446/acag.v64n2.40639>

**Camelo M., Vera S., Bonilla R. (2011).** Mecanismos de acción de las rizobacterias promotoras del crecimiento vegetal Corpoica. *Ciencia y Tecnología Agropecuaria*, 12(2), 159-166. <https://www.redalyc.org/pdf/4499/449945031010.pdf>

**Cao, Y., Li, L., Cheng, B., Dong, Y., Wei, J., Tian, X., Peng, Y., Zhou, L. (2018).** Pretreatment with NaCl Promotes the Seed Germination of White Clover by Affecting Endogenous Phytohormones, Metabolic Regulation, and Dehydrin-Encoded Genes Expression under Water Stress. *International Journal of Molecular Sciences*, 19(11), 3570. <https://doi.org/10.3390/ijms19113570>

**Carrasquero- Duran, A., Adams, M. (2002).** Comparación de métodos para el análisis de mercurio en suelos procedentes de el callao, estado bolívar, Venezuela. *Redalyc.org*. <https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=33906707>

**Castellanos, J. (2014).** Acidez del Suelo y su Corrección. Hojas Técnicas de Fertilab, México. 4 p.

**Cavallini, A., Natali, L., Durante M., Masert, B. (2008).** Mercury uptake, distribution and DNA affinity in durum wheat (*Triticum durum* Desf.) plants. *Sci. of The Total Environ*, 243, 119-127.

**Cedeno, A., Canchignia H. (2022).** Empleo de Bacterias como alternativa de Biorremediación en suelos contaminados con Mercurio (Hg), Zinc (Zn), Aluminio (Al) y Cobre (Cu) con empleo de bacterias. *Universidad Técnica Estatal de Quevedo*, 80.

**Cervantes-Martínez, J., Orihuela-Equihua, R., Rutiaga-Quiñones, J. (2017).** Acerca del Desarrollo y Control de Microorganismos en la Fabricación de Papel. [https://www.redalyc.org/journal/944/94454631001/html/#redalyc\\_94454631001\\_ref13](https://www.redalyc.org/journal/944/94454631001/html/#redalyc_94454631001_ref13)

**Chamekh, A., Chouario, R., Driss-Limam, R., Fersi, C., Kharbech, O., Khouatmeya, M. (2021).** Evidences for antioxidant response and biosorption potential of *Bacillus simplex* strain 115 against lead. *World Journal of Microbiology & Biotechnology*, 37(3). <https://doi.org/10.1007/s11274-021-03009-2>

**Cortés-D, D. (2013).** Relación espacial entre la conductividad eléctrica y algunas propiedades químicas del suelo. *SCiELO*, 55(37).

**Costa, A., Duta, F. (2001).** Bioaccumulation of copper, zinc, cadmium and lead by *Bacillus sp.*, *Bacillus cereus*, *Bacillus sphaericus* and *Bacillus subtilis*. *Microbiol*, 32, 1-5. doi: <http://dx.doi.org/10.1590/S1517-83822001000100001>

**Covarrubias, S., Peña-Cabriales, J. (2017).** Contaminación ambiental por metales pesados en México: problemática y estrategias de fitorremediación. *Instituto Politécnico Nacional, Unidad Irapuato*, 33, 7-21. [DOI: 10.20937/RICA.2017.33.esp01.01](https://doi.org/10.20937/RICA.2017.33.esp01.01)

**Cruz-Cárdenas** C., Chávez-Díaz I., Rojas-Anaya E., Ruíz-Ramírez S., SandovalCancino G., Santos-Villalobos S. (2021). Utilización de microorganismos para una agricultura sostenible en México: consideraciones y retos. *Revista Mexicana de*

*Ciencias Agrícolas*, 12(5), 899-910.  
<https://www.scielo.org.mx/pdf/remexca/v12n5/2007-0934-remexca-12-05-899.pdf>

**Cruz-Macías**, W., Larramendi, L., Salas-Marina, M., Hernández-García, V., Campos-Saldaña, R., Chávez-Hernández, M., Gordillo-Curiel, A. (2020). Efecto de la materia orgánica y la capacidad de intercambio catiónico en la acidez de suelos cultivados con maíz en dos regiones de Chiapas, México. *Terra Latinoamericana*, 38(3), 475–480. <https://doi.org/10.28940/terra.v38i3.506>

**De la Torre**, K. (2017). Minería al límite: la pesadilla del mercurio en la Sierra Gorda de México. *Periodismo Ambiental Independiente en Latinoamérica*.

**Diviesti**, K., Holz, R. (2023). Catalytic biomaterials for atrazine degradation. *Catalysts*, 13(1), 140. <https://doi.org/10.3390/catal13010140>

**Diviesti**, K., Holz, R., Russell-Parks, G., Trewyn, B. (2023). Atrazine Degradation Using Immobilized Triazine Hydrolase from *Arthrobacter aurescens* TC1 in Mesoporous Silica Nanomaterials. *ACS Environmental Au*, 3(6), 361–369. <https://doi.org/10.1021/acsenvironau.3c00036>

**Durango-Vargas**, M., Reina-Sepúlveda, M. (2020). Evaluación de la absorción de Mercurio (Hg) con diferentes concentraciones de cuatro variedades de arroz (*Oryza sativa* L.) sembrada en suelos de la mojana. *Universidad de Córdoba*.

**Durango-Vidal**, J., Marrugo-Negrete, J., Jaramillo-Colorado, B., Pérez-Castro L. (2010). Remediación de suelos contaminados con mercurio utilizando guarumo (*Cecropia peltata*). *Redalyc.org*, 27, 113-129. <https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=85215207007>

**El Baz**, S., Baz, M., Barakate, M., Hassani, L., Gharmali, A., Imziln, B. (2015). Resistance to and accumulation of heavy metals by actinobacteria isolates from

abandoned mining áreas. *Sci. World J. Article.* doi:

<https://doi.org/10.1155/2015/761834>.

**Enriquez, A., Cremona, M. (2022).** El nitrógeno del suelo y sus formas químicas. *INTA-CONICET*, 77, 36.

**Ertürk, Y., Çakmakçı, R., Erçişli, S., Haznedar, A. (2010).** Effects of plant growth promoting rhizobacteria (PGPR) on rooting and root growth of kiwifruit (*Actinidia deliciosa*) stem cuttings. *Biological Research*, 43(1).  
<https://doi.org/10.4067/s071697602010000100011>

**Estrada-Herrera, I., Hidalgo-Moreno, C., Guzman-Plazola, R., Almaraz Suarez, J., Navarro-Garza, H., Etchevers-Barra, J. (2017).** Indicadores de calidad de suelo para evaluar su fertilidad. *Agrociencia*, 51, 813–831.

**Falasca, S., Ulberich, A. (2011).** La maleza *Nicotiana glauca* (Graham) como cultivo energético en sectores áridos y semiáridos de Argentina. *Universidad Nacional Agraria La Molina*.

**Gallard-Martínez, F. (2017).** La conductividad eléctrica del suelo como indicador de la capacidad de uso de los suelos de la zona norte del Parque Natural de la Albufera de Valencia. *UNIVERSITAT POLITÈCNICA DE VALÈNCIA*, 1-7.

**García-Cienfuegos, R., Jaramillo, E., Tabares, J., Obregón, J., Osorno-Bedoya, L. (2021).** Biorremediación de mercurio en suelos mediante Zea Mays Inoculado con Pseudomonas Putida y la Adicción de Compost.  
<https://repository.unab.edu.co/handle/20.500.12749/16181>

**Goldstein, A., Krishnaraj, P. (2007).** Phosphate solubilizing microorganisms vs. phosphate mobilizing microorganisms: what separates a phenotype from a trait? In: First International meeting on microbial phosphate solubilization. *Springer*, 203-213.

**Grand, A., Michel, V. (2020).** Materia orgánica del suelo. Best soil. [Monografía de internet]. Consultado el 22 de diciembre de 2023. Disponible en:  
<https://orgprints.org/id/eprint/43417/7/MATERIA%20ORGA%CC%81NICA%20DEL>

[%20SUELO.pdf](#)

**Hansen, V.,** Bonnichesen, L., Jensen, L., López, S., Nicolaisen, M., Nunes, I., Nybroe, O., Sexlinger, K., Van Der Bom, F. (2019). Seed inoculation with *Penicillium bilaiae* and *Bacillus simplex* affects the nutrient status of winter wheat. *Biology and Fertility of Soils*, 56(1), 97–109. <https://doi.org/10.1007/s00374-019-01401-7>

**Haro-Altamirano, J.,** Osorio-Pillajo, D., Osorio-Rivera, M., Zambrano-Cárdenas G. (2022). Phytoremediation in agricultural soils, with high concentrations of sulfur, La Matriz, Guano, Chimborazo Province. *Polo del Conocimiento*, 5(51). DOI: [10.23857/pc.v5i1.1977](https://doi.org/10.23857/pc.v5i1.1977)

**Hassan, S.,** Abskharon S., El-Rab, G., Shoreit, A. (2008). Isolation, characterization of heavy metal resistant strain of *Pseudomonas aeruginosa* isolated from pollutes sites in Assiut city, Egypt. *Microbiol*, 48, 168-76. <https://doi.org/10.1002/jobm.200700338>

**Horton, R.,** Apel, W., Sheridan, P., Thompson, P. (2006). Low temperature reduction of hexavalent chromium by a microbial enrichment consortium and a novel strain of *Arthrobacter aurescens*. *BMC Microbiology*, 6(1). <https://doi.org/10.1186/1471-2180-6-5> [https://doi.org/10.38141/10791/0003\\_3](https://doi.org/10.38141/10791/0003_3)

**Imbargo-Tipanluisa, A. (2021).** Uso del falso tabaco (*Nicotiana glauca*) para control de la mosca de la fruta género *Anastrepha*. Cayambe, Pichincha, 2021. *Universidad Tecnológica de Cotopaxi*, 26-30.

**Innotec.** (27 de julio de 2022). *Hábitat y supervivencia de microorganismos*. Innotec Laboratorios. <https://www.innotec-laboratorios.es/habitat-y-supervivencia-demicroorganismos/>

**Jiang, Z.,** Shao, Q., Yu, L., Cao, B., Li, J., Ren, Z., Qu, J., Zhang, Y. (2023). Noval bio-organic fertilizer containing *Arthrobacter* sp. DNS10 alleviates atrazine-induced growth inhibition on soybean by improving atrazine removal and nitrogen accumulation. *Chemosphere*, 313. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2022.137575>

**Kang, W., Chen, L., Wang, Y., Zhu, X., Liu, X., Fan, H., Duan, Y. (2020).** Bacillus simplex treatment promotes soybean defence against soybean cyst nematodes: A metabolomics study using GC-MS. *PLOS ONE*, 15(8). <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0237194>

**Kang, W., Duan, Y., Lei, P. (2023).** Transcriptomic Changes in Soybean Underlying Growth Promotion and Defense Against Cyst Nematode After *Bacillus simplex* Sneb545 Treatment. *Gene*, 148080. <https://doi.org/10.1016/j.gene.2023.148080>

**Kundu, K., Marozava, S., Ehrl, B., Merl-Pham, J., Griebler, C., Elsner, M. (2019).** Defining lower limits of biodegradation: atrazine degradation regulated by mass transfer and maintenance demand in *Arthrobacter aurescens* TC1. *The ISME Journal*, 13(9), 2236–2251. <https://doi.org/10.1038/s41396-019-0430-z>

**Lara-Moreno, A., Díaz, F., Merchán, F., Morillo, E., Villaverde, J. (2022).** Bioremediation of a trifluralin contaminated soil using bioaugmentation with novel isolated bacterial strains and cyclodextrin. *Science of the Total Environment*, 840. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2022.156695>

**Layton, C., Corrales, L., Maldonado, E., Monroy, L., Sánchez L. (2011).** Vista de bacillus spp.; Perspectiva de su efecto biocontrolador mediante antibiosis en cultivos afectados por fitopatógenos. Disponible en: [https://revistas.unicolmayor.edu.co/index.php/nova/article/view/185/370#:~:text=El%20metabolismo%20de%20B.,gas%20carb%C3%B3nico\)%20como%20productos%20principales](https://revistas.unicolmayor.edu.co/index.php/nova/article/view/185/370#:~:text=El%20metabolismo%20de%20B.,gas%20carb%C3%B3nico)%20como%20productos%20principales).

**LeviRam, I., Chalifa-Caspi, V., Gillor, O., Gross, A., Henry, R., Herzberg, M., Lintern, A., McCarthy, D., Obayomi, O., Schang, C. (2023).** Engineering a biofilters microbiome with activated carbon and bioaugmentation to improve stormwater micropollutant removal. *Environmental Technology and Innovation*, 32, <https://doi.org/10.1016/j.eti.2023.103338>

**Lominchar, M., Millán R., Rodríguez, J., Sierra, M. (2010).** Estudio del Comportamiento y Distribución del Mercurio Presente en Muestras de Suelo Recogidas en la Ribera del Río Valdeazogues. *Informes Técnicos Ciemat*, 1-7.

**Macias-Ortega, C., (2018).** Fitorremediación de un suelo contaminado por metales pesados (As, Pb, Cd, Fe y Zn), con *Nicotiana glauca* en Torreón, Coahuila. *Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro*, 18-28.

**Mariaca-Restrepo, M., Zapata-Ocampo, P. (2022).** Biorremediación de suelos contaminados por mercurio (Hg) utilizando la cepa *Pleurotus pulmonarius*. <https://repository.ces.edu.co/handle/10946/7206>

**Marrero-Coto, J., Amores-Sánchez, I., Coto-Pérez, O. (2012).** Fitorremediación, una tecnología que involucra a plantas y microorganismos en el saneamiento ambiental. *ICIDCA. Sobre los Derivados de la Caña de Azúcar*, 46(3), 52-61. <https://www.redalyc.org/pdf/2231/223124988007.pdf>

**Metales pesados.** (s.f.). Ministerio Para La Transición Ecológica Y El Reto Demográfico. [Monografía en internet]. Consultado el 18 de enero de 2022.

Disponible en: [https://www.miteco.gob.es/es/calidad-y-evaluacionambiental/temas/atmosfera-y-calidad-del-aire/emisiones/probamb/metales\\_pesados.html](https://www.miteco.gob.es/es/calidad-y-evaluacionambiental/temas/atmosfera-y-calidad-del-aire/emisiones/probamb/metales_pesados.html)

**Miranda, E., (2019).** Devenir histórico de la Minería Mexicana. *Geomimet*, [Monografía en internet]. Consultado el 18 de enero de 2022. Disponible en: <https://www.revistageomimet.mx/2020/10/devenir-historico-de-la-mineriamexicana/>

**Mongodin, E., Daugherty, S., DeBoy, R., Emerson, J., Grinberg, V., Khouri, H., Nelson, K., Radune, D., Riggs, F., Sadowsky, M., Shapir, N., Shvartzbeyn, A., Vamathevan, J., Wackett, L. (2006).** Secrets of Soil Survival Revealed by the Genome Sequence of *Arthrobacter aurescens* TC1. *PLOS Genetics*, 2(12), 214. <https://doi.org/10.1371/journal.pgen.0020214>

**Montero, S., Díaz, I., Espinosa, E. (2014).** APLICACIÓN y BENEFICIOS DE LOS INÓCULOS BACTERIANOS EN LA FITORREMEDIACIÓN DE SUELOS CONTAMINADOS CON HIDROCARBUROS. *Kuxulkab'*, 18(35), 39-40. <https://doi.org/10.19136/kuxulkab.a18n35.256>

**Montes, N., Quintero, H., Vásquez, A. (2021).** Biorremediación de suelos contaminados con mercurio en el Bajo Cauca Antioqueño. *Universidad Unab*.

<http://hdl.handle.net/20.500.12749/22819>

**Moscoso-Pérez, C. (2003).** Determinación de metales formadores de vapor Tesis. Departamento de Química Analítica. *Universidad de A Coruña*. <http://hdl.handle.net/2183/18385>

**Musto, A., Bosisio, D., Do-Nascimento, M., Iserte, J., Orellana, M., Ramírez, E., Rota, R., Stephan, B. (2013).** *Manual de microbiología y parasitología* (2da ed.). Universidad Nacional Arturo Jauretche.

**NOM-021-RECNAT-2000. (2002).** Especificaciones de fertilidad, salinidad y clasificación de suelos. Estudios, muestreos y análisis (2da ed.). Diario Oficial.

**NOM-147-SEMARNAT/SSA1-2004. (2007).** Que establece criterios para determinar las concentraciones de remediación de suelos contaminados por arsénico, bario, berilio, cadmio, cromo hexavalente, mercurio, níquel, plata, plomo, selenio, talio y/o vanadio. Diario Oficial.

**NOM-147-SEMARNAT/SSA1-2004. (2007).** Que establece criterios para determinar las concentraciones de remediación de suelos contaminados por arsénico, bario, berilio, cadmio, cromo hexavalente, mercurio, níquel, plata, plomo, selenio, talio y/o vanadio. Especificaciones de fertilidad, salinidad y clasificación de suelos. Diario Oficial.

**Nosál'ová, L., Willner, J., Fornalczyk, A., Saternus, M., Sedláková-Kaduková, J., Píknová, M., & Pristaš, P. (2022).** Diversity, heavy metals, and antibiotic resistance in culturable heterotrophic bacteria isolated from former lead–silver–zinc mine heap in Tarnowskie Gory (Silesia, Poland). *Archives of Microbiology*, 205(1).

<https://doi.org/10.1007/s00203-022-03369-9>

**Olmos, J., Gavilán, A., Gavilán, I., Rosiles, R., Santos, E., Suárez, S. (2015).** Especiación y cuantificación de mercurio en suelos contaminados con residuos de minería. *Instituto Nacional de Ecología, Unidad de Gestión Ambiental, Departamento de Nutrición Animal, Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, UNAM*, 1-8. <https://www.researchgate.net/publication/266233847>

**ONU. (2022).** Evaluación mundial de la contaminación del suelo. *In* FAO, UNEP. eBooks. <https://doi.org/10.4060/cb4827es>

**Osorio-Vega, N. (2009).** Microorganismos del suelo y su efecto sobre la disponibilidad y absorción de nutrientes por las plantas. En Sociedad Colombiana de la Ciencia del Suelos & Centro Nacional de Investigaciones de Café (Eds.), *Materia orgánica biología del suelo y productividad agrícola: Segundo seminario regional comité regional eje cafeteero* (pp. 43–71). Cenicafé.

**Osorio-Vega, N. (2012).** pH del suelo y disponibilidad de nutrientes. *Manejo integral del suelo y nutrición vegetal*, 1(4), 3.

**Patiño-Torres, C., Sanclemente-Reyes, O. (2014).** Los microorganismos solubilizadores de fósforo (MSF): una alternativa biotecnológica para una agricultura sostenible. *Universidad Libre Colombiana*, 10(2), 288-297.

**Pérez-Rosales, A., Galvis-Spínola, A., Bugarín-Montoya, R., Hernández-Mendoza, T., Vázquez-Peña, A., Rodríguez-González, A. (2017).** Capacidad de intercambio catiónico: descripción del método de la tiourea de plata (AgTU<sup>n+</sup>)\*. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas*, 8(1), 171-177.

**Posada A, Mejía D, Polanco-Echeverry D, Cardona J. (2021).** Rizobacterias promotoras de crecimiento vegetal (PGPR): Una revisión sistemática 1990-2019. *Revista de Investigación Agraria y Ambiental*. [http://portal.amelica.org/ameli/jatsRepo/130/1302302012/html/#redalyc\\_1302302012\\_ref14](http://portal.amelica.org/ameli/jatsRepo/130/1302302012/html/#redalyc_1302302012_ref14)

**Prieto-Méndez, J., González-Ramírez, C., Román-Gutiérrez, A., Prieto-García, F. (2009).** Contaminación y fitotoxicidad en plantas por metales pesados provenientes de suelo y agua. *Universidad Autónoma de Hidalgo*, 10(1), 29-44.

**Puicon, Y., Hurtado, J. (s.f.).** Bioremediación de suelos contaminados con mercurio utilizando *Pseudomonas* sp. aisladas de zonas de minería informal. *Universidad Peruana Cayetano Heredia*.

**Reyes, Y., Vergara, I., Torres, O., Díaz-Lagos, M., Gonzáles-Jimenez, E. (2016).** Contaminación por metales pesados, implicaciones en salud, ambiente y seguridad alimentaria. *Ingeniería, Investigación y Desarrollo*, 16(2), 66-77.

**Rodríguez-Eugenio, N., McLaughlin, M., Pennock, D. (2019).** La contaminación del suelo: una realidad oculta (3ra ed.). *FAO*.

**Rodríguez-Heredia, D. (2017).** Intoxicación ocupacional por metales pesados. *Universidad del Oriente, SciELO*, [http://scielo.sld.cu/scielo.php?pid=s1029-30192017001200012&script=sci\\_arttext](http://scielo.sld.cu/scielo.php?pid=s1029-30192017001200012&script=sci_arttext)

**Rodríguez-Trejo, D. (s.f.)** *Nicotiana glauca* Graham. [Monografía en internet].

Consultado el 27 de diciembre de 2023. Disponible en: <file:///C:/Users/danie/Downloads/Nicotiana%20glauca%20Graham%20-Solanaceae.pdf>

**Sajjaphan, K., Blackmon, B., Palmer, M., Sadowsky, M., Sajjaphan, K., Shapir, N., Wackett, L. (2004).** *Arthrobacter aurescens* TC1 Atrazine Catabolism Genes *trzN*, *atzB*, and *atzC* Are Linked on a 160-Kilobase Region and Are Functional in *Escherichia coli*. *Applied and Environmental Microbiology*, 70(7), 4402–4407. <https://doi.org/10.1128/aem.70.7.4402-4407.2004>

**Sánchez-García de la Torre, V. (2015).** Tolerancia al estrés por cadmio y mercurio en *Medicago* spp. Análisis de los mecanismos implicados y potencial aplicación en fitorremediación. *Universidad Autónoma de Madrid*.

**Schwartz, A., DeMason, D., Diener, A., Fujishige, N., Hanamoto, K., Herbold, C., Hirsch, A., Maymon, M., Ortiz, I., Sanders, E., Vijanderan, J., Villella, W. (2013).** *Bacillus simplex*—A Little Known PGPB with Anti-Fungal Activity—Alters Pea Legume Root Architecture and Nodule Morphology When Coinoculated with *Rhizobium leguminosarum* bv. *viciae*. *Agronomy*, 3(4), 595–620. <https://doi.org/10.3390/agronomy3040595>

**SE.** Secretaría de Economía. Gobierno de México. (2022). Minería. [Monografía en internet]. Consultado el 4 de febrero de 2022. Disponible en: <https://www.gob.mx/se/acciones-y-programas/mineria>.

**Secretaría de Minería.** (2022). Servicio Geológico Mexicano. Panorama minero del estado de Querétaro.

**SEMARNAT.** Secretaría de Medio Ambiente y Recursos Naturales. (2007). Instituto Nacional de Ecología y Cambio Climático. [Monografía en internet]. Consultado el 3 de agosto de 2022. Disponible en:

<http://www2.inecc.gob.mx/publicaciones2/libros/372/fuentes.html#:~:text=Dentro%20de%20los%20contaminantes%20que,%2C%20cromo%2C%20cadmio%2C%20compuestos%20t%C3%B3xicos>.

**SEMARNAT.** Secretaría de Medio Ambiente y Recursos Naturales. (2007). Manual de suelos mexicanos. [Monografía de internet]. Consultado el 3 de agosto de 2022. Disponible en:

[https://apps1.semarnat.gob.mx:8443/dgeia/informe\\_12/pdf/Cap3\\_suelos.pdf](https://apps1.semarnat.gob.mx:8443/dgeia/informe_12/pdf/Cap3_suelos.pdf).

**SEMARNAT.** Secretaria de Medio Ambiente y Recursos Naturales. (2021). Programa Nacional de Remediación de Sitios Contaminados 2021-2024. Diario Oficial de la Federación.

**Sharma, P.** (2021). Efficiency of bacteria and bacterial assisted phytoremediation of heavy metals: An update. *Bioresource Technology*, 328, 124-835. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2021.124835>

**Sikorski, J., Brambilla, E., Kroppenstedt, E., Tindall, B.** (2008). The temperatureadaptive fatty acid content in *Bacillus simplex* strains from 'Evolution Canyon', Israel. *Microbiology*, 154(8), 2416–2426. <https://doi.org/10.1099/mic.0.2007/016105-0>

**Silva, V., Mateus, C., Moreira-Santos, M., Ribeiro, R., Teixeira, T., Viegas, C.** (2015). Evaluation of *Arthrobacter aurescens* Strain TC1 as Bioaugmentation Bacterium in

Soils Contaminated with the Herbicidal Substance Terbutylazine. *PLOS ONE*, 10(12). <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0144978>

**Solera-Sánchez, J. (2020)**. Estudio computacional de una comunidad microbiana capaz de degradar un herbicida en distintos ambientes. Universidad Politécnica de Madrid, Disponible en: [https://oa.upm.es/65970/1/TFG\\_JAVIER\\_SOLERA\\_SANCHEZ.pdf](https://oa.upm.es/65970/1/TFG_JAVIER_SOLERA_SANCHEZ.pdf)

**Soria, R., Lucas-Borja, M., Miralles, I., Ortega, R., Rodríguez-Berbel, N., Tortosa, A. (2023)**. Short-Term Response of Soil Bacterial Communities after Prescribed Fires in Semi-Arid Mediterranean Forests. *Fire*, 6(4), 145. <https://doi.org/10.3390/fire6040145>

**Stivers, L. (2023)**. Introducción a los Suelos: La Calidad de los Suelos. *Pennsylvania State University*. <https://extension.psu.edu/introduccion-a-los-suelosla-calidad-de-los-suelos>

**Strong, L., Johnson, G., Rosendahl, C., Sadowsky, M., Wackett, L. (2002)**. *Arthrobacter aurescens* TC1 Metabolizes Diverse s-Triazine Ring Compounds. *Applied and Environmental Microbiology*, 68(12), 5973–5980. <https://doi.org/10.1128/aem.68.12.5973-5980.2002>

**Suzuki, Y., Banfield, J. (2004)**. Resistance to, and Accumulation of, Uranium by Bacteria from a Uranium-Contaminated Site. *Geomicrobiology Journal*, 21(2), 113–121. <https://doi.org/10.1080/01490450490266361>

**Tafur, C., Yeni, A., Pantoja Q., Elías, B. (2019)**. Modelo de decaimiento de biomasa de la especie *Taraxacum officinale* para predecir el potencial de fitorremediación de suelos agrícolas contaminados y asistidos con enmiendas orgánicas ácidas. Universidad César Vallejo, 1-4. <https://repositorio.ucv.edu.pe/handle/20.500.12692/57741>

**Tang, J., Dong, F., Huang, J., Li, Q., Pan, D., Wang, J., Wu, X., Yao, J. (2023)**. Characterization and catalytic mechanism of a direct demethylsulfide hydrolase for catabolism of the methylthiol-s-triazine prometryn. *Journal of Hazardous Materials*,

446. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2022.130708>

**Toledo-Hernández**, E., Santana-Flores, A., Sánchez-Ayala, A., Romero-Ramírez, Y., Ortega-Acosta, S. Á., Toribio-Jiménez, J. (2020). Aislamiento e identificación de bacterias tolerantes y bioacumuladoras de metales pesados, obtenidas de los jales mineros El Fraile, México. *Terra Latinoamericana*, 38(1), 67. <https://doi.org/10.28940/terra.v38i1.430>

**Torres-Gonzales**, Y., Hinojosa-Benavides, R., Rojas-Carrizales, A., SalasContrenas, W. (2021). Fitorremediación de Suelos Contaminados por Metales Pesados. *Scientific Research Journal*, 1(1), 27–32. <https://doi.org/10.53942/srjci.v1i1.43>

**UNAD**. Universidad Nacional Abierta y a Distancia. ECAMPA. (2019). PRACTICAS DE BIORREMEDIACIÓN EN SUELOS Y AGUAS. *UNAD*, (1ra ed.), 8-24.

**UNAM**. Universidad Nacional Autónoma de México. (s.f.). Metales pesados en el suelo, 66. [Monografía de internet]. Consultado el 18 de enero de 2022 enero.

Disponible en: [http://biblioteca-digital.sag.gob.cl/documentos/medio\\_ambiente/criterios\\_calidad\\_suelos\\_aguas\\_agricolas/pdf\\_suelos/5\\_metales\\_pesados\\_suelo.pdf](http://biblioteca-digital.sag.gob.cl/documentos/medio_ambiente/criterios_calidad_suelos_aguas_agricolas/pdf_suelos/5_metales_pesados_suelo.pdf)

**Valentine**, N., Balkwill, D., Bolton, H., Drake, G., Kingsley, M., Plymale, A. (1996). Biosorption of cadmium, cobalt, nickel, and strontium by a *Bacillus simplex* strain isolated from the vadose zone. *Journal of Industrial Microbiology*, 16(3), 189–196. <https://doi.org/10.1007/bf01570003>

**Valenzuela-Cobos**, J., Villota-García, V. (2022). Eficiencia de los Hongos PLEUROTUS OSTREATUS Y ASPERGILLUS NIGER en la Biorremediación de Suelos Contaminados con Metales Pesados. <https://repositorio.unemi.edu.ec/handle/123456789/6074>

**Verhulst**, N., François, I., Grahmann, K., Cox, R., Govaerts, B. (2015). Eficiencia del uso de nitrógeno y optimización de la fertilización nitrogenada en la agricultura de conservación. CIMMYT, 1-2.

**Verma**, R., Shrivastava, A. (2023). Radiation Tolerant Life Forms and Methods Used to Remediate Radioactive Wastes from Soil. *An International Quarterly Scientific Journal*, 22(3), 1363-1373. <https://doi.org/10.46488/NEPT.2023.v22i03.023>

**Villarreal-Delgado**, M., Cira-Chávez, L., De Los Santos-Villalobos, F., EstradaAlvarado, M., Parra-Cota, F., Villa-Rodríguez, E. (2018). El género *Bacillus* como agente de control biológico y sus implicaciones en la bioseguridad agrícola. *Revista Mexicana De Fitopatología*, 36(1). <https://doi.org/10.18781/r.mex.fit.1706-5>

**Weinberg**, J. (2010). Introducción a la contaminación por mercurio por las ONG. *IPEN* (1ra ed.).

**Yang**, Q., Shi, Y., Xin, Y., Yang, T., Zhang, L., Gu, Z., Li, Y., Ding, Z., & Shi, G. (2023). Insight into the Cold Adaptation Mechanism of an Aerobic Denitrifying Bacterium: *Bacillus simplex* H-b. *Applied and Environmental Microbiology*, 89(2). <https://doi.org/10.1128/aem.01928-22>

**Yang**, Q., Yang, T., Shi, Y., Xin, Y., Zhang, L., Gu, Z., Li, Y., Ding, Z., & Shi, G. (2021). The nitrogen removal characterization of a cold-adapted bacterium: *Bacillus simplex* H-b. *Bioresource Technology*, 323. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2020.124554>

**Zapata**, T., Martínez, L., Posada, E., Gonzáles, M., Saldarriaga, J. (2017) Efectos de la lombriz californiana (*Eisenia foetida*), sobre el crecimiento de microorganismos en suelos contaminados con mercurio se Segovia, Antioquia. *Ciencia e Ingeniera Neogradina*, 27(1), 77-90. <https://doi.org/10.18359/rcin.1911>

**Zhang**, J., Gao, Y., Pan, T., Wang, K., Wang, M., Yu, Z. (2022). Biodegradation of Crystalline and Nonaqueous Phase Liquid-Dissolved ATRAZINE by *Arthrobacter* sp. ST11 with Cd<sup>2+</sup> Resistance. *Catalysts*, 12, 147-156. <https://doi.org/10.3390/catal12121653>