



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA CHAPINGO

UNIDAD REGIONAL UNIVERSITARIA DE ZONAS ÁRIDAS

Maestría en Ciencias en Recursos Naturales y Medio Ambiente en Zonas Áridas

“Fitorremediación de suelos contaminados con metales pesados mediante plantas de zonas áridas asistidas por PGPRs”

T E S I S

Que como requisito parcial

Para obtener el grado de:

**MAESTRO EN CIENCIAS EN RECURSOS NATURALES
Y MEDIO AMBIENTE EN ZONAS ÁRIDAS**

Presenta:

DIEGO ARMANDO RIVERA RODRÍGUEZ

Bajo la supervisión del Dr. Ricardo Trejo Calzada

Bermejillo, Durango, México. Junio 2023



APROBADA



inirap
Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias

Fitorremediación de suelos contaminados con metales pesados mediante plantas de zonas áridas asistidas por PGPRs

Tesis realizada por **DIEGO ARMANDO RIVERA RODRIGÚEZ** bajo la supervisión del Comité Asesor indicado, aprobada por el mismo y aceptada como requisito parcial para obtener el grado de:

MAESTRO EN CIENCIAS EN RECURSOS NATURALES Y MEDIO AMBIENTE EN ZONAS ÁRIDAS



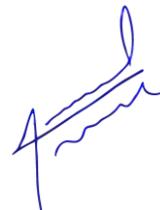
DIRECTOR

Dr. Ricardo Trejo Calzada



CO-DIRECTOR

Dr. Jorge Sáenz Mata



ASESOR

Dr. Jesús Guadalupe Arreola Ávila

Contenido

Contenido	iii
DATOS BIOGRÁFICOS	x
RESÚMEN GENERAL	xii
CAPÍTULO I	14
INTRODUCCIÓN GENERAL	14
1.1 OBJETIVOS	20
1.2 HIPÓTESIS GENERAL	21
LITERATURA CITADA	21
CAPITULO II	25
REVISION DE LITERATURA	25
LITERATURA CITADA	38
CAPITULO III	42
PROMOCION DE CRECIMIENTO DE <i>Prosopis laevigata</i> , <i>Vachellia farnesiana</i> y <i>Amaranthus hybridus</i> POR PGPRs.	42
3.1 RESUMEN	42
3.2 INTRODUCCIÓN	43
3.3 MATERIALES Y MÉTODOS	45
3.4 RESULTADOS Y DISCUSIÓN	49
3.5 CONCLUSIONES	57
LITERATURA CITADA	58

CAPÍTULO IV	60
PROMOCIÓN DE LA FITOEXTRACCIÓN DE METALES PESADOS POR PGPRS ASOCIADAS A <i>Prosopis laevigata</i> y <i>Vachellia farnesiana</i>	60
4.1 RESUMEN	60
4.2 INTRODUCCIÓN	61
4.3 MATERIALES Y MÉTODOS	63
4.3.1 Ubicación del área de estudio	63
4.3.2 Procedencia del material vegetal, sustrato y PGPRs	63
4.3.3 Diseño experimental	64
4.3.4. Establecimiento del experimento y conducción experimental	64
4.3.5 Análisis fisicoquímico de las muestras de suelo.....	65
4.3.6 Análisis nutrimental y de metales pesados en tejido vegetal.....	66
4.3.7 Análisis estadístico	66
4.4 RESULTADOS Y DISCUSIÓN	67
4.4.1 Análisis de suelo	67
4.4.2 Concentración de micronutrientes en <i>Vachellia farnesiana</i> y <i>Prosopis laevigata</i>	68
4.4.3 Concentración de macronutrientes en <i>Vachellia farnesiana</i> y <i>Prosopis laevigata</i>	69
4.4.4 Peso seco <i>Vachellia farnesiana</i> y <i>Prosopis laevigata</i>	74
4.5 CONCLUSIONES	75
LITERATURA CITADA	76

Índice de cuadros

Cuadro 1. Análisis químico de muestra compuesta del sitio.	67
Cuadro 2. Análisis químico del sustrato de las unidades experimentales.	68
Cuadro 3. Efecto en el contenido de micronutrientes en tejidos de <i>P. laevigata</i> y <i>V. farnesiana</i>	71
Cuadro 4. Efecto en el contenido de macronutrientes en tejidos de <i>P. laevigata</i> y <i>V. farnesiana</i>	72
Cuadro 5. Efecto en el contenido de metales pesados en tejidos de <i>P. laevigata</i> y <i>V. farnesiana</i>	73

Índice de figuras

Figura 1. Efecto de las rizóbacterias sobre la altura de *P. laevigata*, *farnesiana* y *A. hybridus* después de 40 días de la inoculación. Los asteriscos indican diferencias significativas entre plántulas inoculadas y el control sin inocular. Las barras representan la media de 4 plántulas para cada tratamiento con su respectiva barra de desviación estándar..... 51

Figura 2. Efecto de las rizóbacterias sobre las raíces secundarias de *P. laevigata*, *A. farnesiana* y *A. hybridus* 40 días después de la inoculación. Los asteriscos indican diferencias significativas entre plántulas inoculadas y el control sin inocular. Las barras representan la media de 4 plántulas para cada tratamiento con su respectiva barra de desviación estándar. 52

Figura 3. Efecto de las rizóbacterias sobre la longitud de raíz principal de *P. laevigata*, *A. farnesiana* y *A. hybridus* 40 días después de la inoculación. Los asteriscos indican diferencias significativas entre plántulas inoculadas y el control sin inocular. Las barras representan la media de 4 plántulas para cada tratamiento con su respectiva barra de desviación estándar. 52

Figura 4. Efecto de las rizóbacterias sobre peso total de *P. laevigata*, *A. farnesiana* y *A. hybridus* 30 días después de la inoculación. Los asteriscos indican diferencias significativas entre plántulas inoculadas y el control sin inocular. Las barras representan la media de 4 plántulas para cada tratamiento con su respectiva barra de desviación estándar..... 53

Figura 5. Efecto de las rizóbacterias sobre la altura de *P. laevigata*, *A. farnesiana* y *A. hybridus* 10 días después de la inoculación in vitro enriquecido con As y Zn. Los asteriscos indican diferencias significativas entre plántulas inoculadas y el

control sin inocular. Las barras representan la media de 5 plántulas para cada tratamiento con su respectiva barra de desviación estándar. 54

Figura 6. Efecto de las rizóbacterias sobre las raíces secundarias de *P. laevigata*, *A. farnesiana* y *A. hybridus* 10 días después de la inoculación in vitro. Los asteriscos indican diferencias significativas entre plántulas inoculadas y el control sin inocular. Las barras representan la media de 5 plántulas para cada tratamiento con su respectiva barra de desviación estándar. 55

Figura 7. Efecto de las rizóbacterias sobre la longitud de la raíz principal de *P. laevigata*, *A. farnesiana* y *A. hybridus* 10 días después de la inoculación in vitro. Los asteriscos indican diferencias significativas entre plántulas inoculadas y el control sin inocular. Las barras representan la media de 5 plántulas para cada tratamiento con su respectiva barra de desviación estándar. 56

Figura 8. Efecto de las rizóbacterias sobre el peso total de *P. laevigata*, *A. farnesiana* y *A. hybridus* 10 días después de la inoculación in vitro. Los asteriscos indican diferencias significativas entre plántulas inoculadas y el control sin inocular. Las barras representan la media de 5 plántulas para cada tratamiento con su respectiva barra de desviación estándar. 57

Figura 9. Área de muestreo. Sitio de muestreo en la mina Peñoles, San Pedro del Gallo, Durango. 64

Figura 12. Aporte al peso seco de tejidos vegetales de *Prosopis laevigata* (tallo y raíz). 745

Figura 13. Aporte al peso seco de tejidos vegetales de *Vachellia farnesiana* (tallo y raíz). 74

AGRADECIMIENTOS

Agradezco al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT) por la beca brindado para el desarrollo de esta investigación.

A la UACH-URUZA y a la FCB-UJED por brindar los medios para la realización de mis estudios de posgrado.

Al Dr. Ricardo Trejo Calzada por su dirección durante el proyecto y las grandes atribuciones realizadas durante mi periodo de estudios, por los conocimientos compartidos y paciencia brindada.

A mi comité asesor: Dr. Sáenz Mata y Dr. Jesús Guadalupe Arreola, por las observaciones realizadas a lo largo del desarrollo de este proyecto de investigación y por su disponibilidad para ayudarme.

Al M.C. Luis Gerardo Espinoza, al M.C. Cristo Omar Puente Valenzuela, a la M.C. Sahara Xolocotzi Acoltzi y mi amigo Jared García por ayudarme en la conducción experimental, salidas a campo y análisis de muestras.

Agradezco al Dr. Fabián y la secretaria Mary Miranda por facilitarme los tramites y la paciencia brindada durante todo este periodo.

A los profesores del posgrado que contribuyeron en mi formación durante mi periodo de estudios, principalmente el Dr. Ramón Trucios.

A los trabajadores por mantener las instalaciones en buenas condiciones y a los empleados del comedor por brindarme alimento durante mi estancia de investigación.

Y especialmente agradezco a Dios por darme salud y determinación para concluir este compromiso.

DEDICATORIA

Este trabajo es dedicado para mis dos grandes amores Laura y Antonella. Espero estén orgullosas de mi como yo lo estaré de ustedes toda la vida. Las amo.

Para Agustín y Rosario. Por haber criado al mejor maldito Biólogo que se ha parido y apoyarme cuando más lo necesitaba.

Dedicado a Héctor, Luis, y Farid Rivera. Mis mejores amigos.

Y especial dedicación para mi abuela Carmen y mi difunto abuelo Manuel, una abrazo hasta donde quiera que te encuentres abuelito. Gracias por darme un hogar, cariño y buenos recuerdos.

DATOS BIOGRÁFICOS

Nombre: Diego Armando Rivera Rodríguez

Fecha de nacimiento: 14 de Agosto de 1996

Lugar de nacimiento: Gómez Palacio Durango, México.

CURP: RIRD960814HDGVDG06

Profesión: Lic. Biología



Desarrollo académico

Preparatoria: CBTIS #4 Ciudad Lerdo, Durango (2012-2015)

Licenciatura: Universidad Juárez del estado de Durango. Gómez Palacio Durango (2015-2019)

5to Congreso de Diversidad Biológica FCB-UJED. Octubre 2022

PONENTE del tema: Promoción del crecimiento en cuatro especies vegetales de zonas áridas por rizobacterias promotoras de crecimiento vegetal

2do Congreso ISME Latino Americano, ISME-LAT 2021

PONENTE del tema: “Aislamiento y caracterización de rizobacterias promotoras de crecimiento vegetal de *Solanum elaeagnifolium* desarrollándose en suelos contaminados con metales pesados.”

3er Congreso de Diversidad Biológica FCB-UJED. Noviembre 2019

PONENTE en modalidad CARTEL del tema: “Aislamiento y caracterización de rizobacterias promotoras de crecimiento vegetal de *Solanum elaeagnifolium* desarrollándose en suelos contaminados con metales pesados.”

4to Congreso de Diversidad Biológica FCB-UJED. Octubre 2020

PONENTE en modalidad CARTEL del tema: “Aislamiento y caracterización de rizobacterias promotoras de crecimiento vegetal de *Solanum elaeagnifolium* desarrollándose en suelos contaminados con metales pesados.”

6to. Encuentro de Jóvenes Investigadores en el Estado de Durango

Exposición de cartel: ““Aislamiento y caracterización de rizobacterias promotoras de crecimiento vegetal de *Solanum elaeagnifolium* desarrollándose en suelos contaminados con metales pesados.”

RESÚMEN GENERAL

En años recientes la minería ha dado lugar a un aumento significativo de metales pesados en el suelo, ocasionando graves daños ambientales. La técnica de biorremediación en comparación con los métodos físicos y químicos es más eficiente. El objetivo de este trabajo fue evaluar PGPRs aisladas de la rizósfera de *S. elaeagnifolium* sobre la efectividad de *V. farnesiana* y *P. laevigata* en la biorremediación de suelos contaminados con metales pesados. Para la evaluación de compatibilidad de las cepas con las especies vegetales se estableció un experimento con un diseño de bloques al azar con arreglo en parcelas divididas y para el experimento en sustrato de jal de mina se realizó un diseño de parcelas divididas con tres repeticiones en el que las fuentes de variación fueron la especie vegetal (*V. farnesiana* y *P. laevigata*) y las cepas de PGPRs (ASMS4, ASMR4, ZN1S2 y una combinación de las tres cepas). Las rizóbacterias que influyeron significativamente en el crecimiento de las plantas *in vitro* respecto al control fueron ASMS4 y ASMR4. El suelo utilizado para el llenado de macetas resultó tener altas concentraciones de metales en relación con el límite permisible en la NOM-147-SEMARNAT/SSA1-2004, así como también el suelo circundante al sitio de donde se extrajo. Las plantas tuvieron escaso desarrollo en altura por el estrés de los metales pesados. El tejido que presentó mayor peso seco fue el tallo para ambas especies vegetales. Para el análisis químico de los tejidos vegetales encontramos que los macronutrientes se acumularon en mayor cantidad en la parte aérea, mientras que los microelementos y los metales pesados como el As y Pb su concentración fue mayor en raíces. *Prosopis laevigata* inoculada con la combinación de cepas rizóbacterianas mostró mayor efectividad de translocación de K a la parte aérea. La cepa ASMR4 se obtuvo mejor resultado en la acumulación de Pb en el tallo en comparación con los otros tratamientos. *V. farnesiana* inoculada con la cepa ZN1S2 obtuvo mejor rendimiento en la acumulación de K en el tallo y la cepa ASMS4 concentró mayor cantidad de As en la parte aérea de las plantas. El presente estudio permite explorar la utilización de plantas de zonas áridas asistidas por PGPR, para aumentar la capacidad de fitorremediación en suelos contaminados por metales pesados.

Palabras Clave: PGPR, Remediación de suelos, Metales pesados, Plantas de zonas áridas.

Tesis de Maestría en Ciencias, Posgrado en Recursos Naturales y Medio Ambiente en Zonas Áridas, Unidad Regional Universitaria de Zonas Áridas.

Autor: Diego Armando Rivera Rodríguez

Director de tesis: Dr. Ricardo Trejo Calzada

ABSTRACT

In recent years, mining has led to a significant increase in heavy metal contamination in soil, causing serious environmental damage. Compared to physical and chemical methods, bioremediation techniques have proven to be more efficient. The objective of this study was to evaluate PGPRs (Plant Growth-Promoting Rhizobacteria) isolated from the rhizosphere of *S. elaeagnifolium* regarding their effectiveness in the bioremediation of heavy metal-contaminated soils using *V. farnesiana* and *P. laevigata* as target plant species. To assess the compatibility of the strains with the plant species, a randomized block design experiment with a split-plot arrangement was conducted. Additionally, a split-plot design with three replications was employed for the experiment using mine tailings as the substrate. The sources of variation were the plant species (*V. farnesiana* and *P. laevigata*) and the PGPR strains (ASMS4, ASMR4, ZNIS2, and a combination of the three strains). The rhizobacteria that significantly influenced the in vitro growth of the plants compared to the control were ASMS4 and ASMR4. The soil used to fill the pots exhibited high metal concentrations exceeding the permissible limit stated in NOM-147-SEMARNAT/SSA1-2004, as did the soil surrounding the extraction site. The plants showed limited height development due to the stress caused by heavy metals. The stem exhibited the highest dry weight for both plant species. Chemical analysis of the plant tissues revealed that macronutrients accumulated in greater quantities in the aboveground parts, while the concentration of microelements and heavy metals such as As and Pb was higher in the roots. *Prosopis laevigata* inoculated with the combination of rhizobacterial strains demonstrated greater translocation effectiveness of K to the aboveground parts. The ASMR4 strain yielded better results in the accumulation of Pb in the stem compared to other treatments. *V. farnesiana* inoculated with the ZNIS2 strain exhibited improved performance in the accumulation of K in the stem, while the ASMS4 strain concentrated a higher amount of As in the aboveground parts of the plants. This study allows for the exploration of the use of arid zone plants assisted by PGPR to enhance the phytoremediation capacity of heavy metal contaminated soils.

Keywords: PGPR, Soil remediation, Heavy metals, Arid zone plants.

Thesis of master in Science, Posgraduate Recursos Naturales y Medio Ambiente en Zonas Áridas, Unidad Regional Universitaria de Zonas Áridas.

Author: Diego Armando Rivera Rodríguez

Advisor the thesis: Dr. Ricardo Trejo Calzada

CAPÍTULO I

INTRODUCCIÓN GENERAL

A escala global, las acciones humanas, como la agricultura, la industria y la minería, generan consecuencias graves para los ecosistemas. (Pratish, Kumar & Hu, 2018). La actividad minera provoca la deposición de metales pesados en el suelo como contaminante principal, los cuales son generados durante el proceso de refinamiento de los minerales extraídos. (Changfeng et al., 2019). Los desechos mineros son transportados y depositados en una zona conocida como "jal de mina", donde tradicionalmente se someten a tratamientos físicos y químicos para su manejo y mitigación (Hernández et al., 2009). La acumulación de desechos en vertederos o jales mineros constituye una preocupación ambiental de larga duración, causando impactos graves y persistentes en el ecosistema (Falagán, Grail & Johnson, 2017).

Los depósitos de residuos mineros están compuestos por mezclas de diversos metales y metaloides en forma de polvo. Estos elementos metálicos representan un riesgo ecológico debido a que no pueden degradarse en formas no tóxicas y persisten en el medio ambiente (Rostami et al., 2021). Los metales pesados como el zinc (Zn), cobre (Cu), molibdeno (Mo), manganeso (Mn), cobalto (Co) y níquel (Ni) desempeñan un papel esencial en procesos biológicos (Zhushan & Shuhua, 2020). Además de los metales esenciales antes mencionados, existen otros metales pesados altamente tóxicos, como el arsénico (As), plomo (Pb), cadmio (Cd), mercurio (Hg), cromo (Cr), aluminio (Al) y berilio (Be). Estos metales, cuando se presentan en concentraciones superiores a los valores óptimos, pueden causar reducción en la actividad de los organismos o en otras instancias la muerte (Xiong et al., 2014).

La salud de los organismos se ve afectada debido al polvo tóxico que generalmente es transportado por el viento y llega hasta ellos. Con el tiempo, estos contaminantes pueden alcanzar cuerpos de agua, tierras utilizadas para la agricultura y el subsuelo, contaminando así los mantos acuíferos subterráneos (Wei, Wei, & Viadero, 2011). Los metales pesados tienen efectos perjudiciales significativos en plantas, animales, seres humanos y microorganismos. Estos elementos nocivos afectan negativamente la calidad y producción de los cultivos, así como influyen en la calidad del aire y del agua (Sardar et al., 2013). La presencia de estos elementos tóxicos provoca anomalías morfológicas y trastornos metabólicos en los organismos, lo que a su vez resulta en una disminución en el rendimiento y productividad de los mismos (Amari, Ghnaya & Abdelly, 2017). La toxicidad de los metales pesados se incrementa en ambientes donde el suelo se vuelve ácido y deficiente en nutrientes, así como en casos donde la estructura del suelo es pobre, especialmente en entornos mineros (Mukhopadhyay & Maiti 2010). Es cierto que los metales pesados provenientes de fuentes antropogénicas tienden a tener una alta biodisponibilidad debido a que se encuentran en formas reactivas, solubles y móviles. Esto significa que tienen mayor capacidad para ser absorbidos y acumulados por los organismos vivos, lo que aumenta su potencial de causar impactos negativos en la salud y el medio ambiente al entrar en la red trófica (Fryzova et al., 2018).

La contaminación ambiental causada por metales pesados es un tema de gran interés científico. La preocupación por los efectos de esta contaminación en los ecosistemas ha impulsado a los investigadores a desarrollar tecnologías para evaluar, movilizar y remediar las áreas afectadas por metales pesados en el suelo y el agua. Estas tecnologías están destinadas a mejorar la comprensión de los impactos, así como a encontrar soluciones efectivas para minimizar y mitigar los efectos negativos en el medio ambiente (Voijant et al., 2011). En México, la contaminación ambiental causada por metales pesados ha superado los límites recomendados, lo que resulta perjudicial para todas las formas de vida. Debido a la considerable explotación minera en el país y la consecuente generación de grandes volúmenes de residuos, la investigación sobre este tema es de gran

interés. Comprender y abordar los impactos de la contaminación de metales pesados en el medio ambiente, así como desarrollar estrategias para prevenir y mitigar sus efectos negativos en la salud humana y los ecosistemas ha sido de gran interés en años recientes (SIAM, 2019). Se han utilizado alternativas remediadoras para reducir la cantidad de metales pesados en el suelo y así evitar que estos causen estragos al ecosistema. Es fundamental que las innovaciones tecnológicas destinadas a la remediación de la contaminación por metales pesados sean económicas y rentables para lograr una sustentabilidad ambiental a largo plazo.

Es cierto que existen diferentes técnicas para remediar suelos contaminados por metales pesados, que abarcan enfoques físicos, químicos y biológicos. Sin embargo, se ha observado que las técnicas químicas y físicas pueden presentar desafíos en términos de costos y logística de implementación. En los últimos años, ha habido un creciente interés en las técnicas biológicas, como la fitorremediación y la biorremediación utilizando microorganismos. Estas técnicas aprovechan la capacidad de las plantas y los microorganismos para absorber, degradar o inmovilizar los metales pesados presentes en el suelo (Dhaliwal, Singh & Taneja, 2020).

La fitorremediación es una técnica que utiliza plantas para el saneamiento del suelo contaminado. Una de las vertientes más avanzadas de la fitorremediación es la fitoextracción (Prieto et al., 2018). En la fitorremediación, se emplean plantas con la capacidad de absorber, translocar, bioacumular y degradar metales pesados presentes en el suelo. Estas plantas tienen la capacidad natural de tolerar altas concentraciones de metales pesados y, a través de sus mecanismos internos, pueden ayudar a reducir la contaminación del suelo. Sin embargo, hay algunos puntos desfavorables asociados con esta técnica. Uno de ellos es el lento crecimiento de ciertas plantas utilizadas en la fitorremediación. Algunas plantas hiperacumuladoras tienen un crecimiento más lento en comparación con otras especies de plantas, lo que puede requerir más tiempo para lograr resultados significativos en la remediación (Khan, 2020).

La investigación de la biorremediación de suelos contaminados por metales pesados se ha explorado la interacción beneficiosa entre los microorganismos y las plantas para acelerar el crecimiento y mejorar la eficacia del proceso de remediación. Los microorganismos pueden proporcionar una serie de beneficios a las plantas en suelos contaminados. Por ejemplo, pueden producir nutrientes y sustancias minerales que son esenciales para el crecimiento de las plantas, sintetizar fitohormonas, como auxinas, giberelinas y citoquininas. Además, producir sideróforos y también, tienen la capacidad de solubilizar fosfatos (Mitra, Chatterjee, & Gupta, 2021). La combinación de plantas fitorremediadoras y microorganismos con de promoción de crecimiento se ha propuesto como una técnica innovadora en la remediación del suelo para recuperar elementos contaminantes como lo son los metales pesados (Manoj et al., 2020).

Las bacterias presentes en la rizosfera que tienen la capacidad de promover el crecimiento vegetal se conocen como PGPR (Plant Growth Promoting Rhizobacteria) (Tak, Ahmad & Babalola, 2013). Estas bacterias colonizan las raíces y establecen una relación simbiótica con ellas, proporcionando una serie de beneficios para el crecimiento y desarrollo de las plantas (Beneduzi, Ambrosini y Passaglia, 2012). La rizósfera, es la zona estrecha del suelo específicamente influenciada por el sistema radicular (Wang et al., 2013). Esta zona suele ser más rica en nutrientes en comparación con otras partes el suelo. Esto se debe a la liberación de una variedad de exudados de plantas en la rizosfera. Los exudados son compuestos orgánicos, como aminoácidos, azúcares, ácidos orgánicos y compuestos fenólicos, que las plantas secretan a través de sus raíces. (Mahohi y Raiesi, 2021).

Las PGPR pueden conferir una serie de beneficios a las plantas mediante diferentes mecanismos. Algunos de estos mecanismos incluyen la solubilización y facilitación de nutrientes, la producción de sideróforos, la fijación del nitrógeno, la producción y regulación de fitohormonas, la disminución de contaminantes en el suelo y la resistencia contra patógenos. Estas interacciones simbióticas entre los microorganismos y las plantas son fundamentales para promover un

crecimiento y desarrollo saludable de las plantas (Konkolewska et al., 2020). El uso de rizóbacterias promotoras de crecimiento vegetal se considera una estrategia prometedora en la biorremediación de suelos contaminados por metales pesados. Estos microorganismos pueden desempeñar un papel importante en la mejora de la tolerancia de las plantas a los metales pesados, lo que permite la aclimatación y supervivencia de las plantas en ambientes con estos elementos tóxicos (Wenliang et al., 2020).

En trabajos previos se ha observado que algunas PGPR asisten plantas para su establecimiento en lugares contaminados por metales pesados en zonas áridas y semiáridas; tal es el caso de *Solanum elaeagnifolium* Cav. (Rivera, Saenz & Palacio, 2021). El nombre común de *S. elaeagnifolium* es trompillo, este es nativo de América del Norte y Central, y su distribución se extiende desde los Estados Unidos hasta el centro de México, abarcando también algunas áreas de Sudamérica. Es una planta adaptada a climas áridos y semiáridos. Esta especie se caracteriza por tener hojas simples con un margen entero a escasamente lobado, generalmente de menos de 4 cm de ancho. La planta está cubierta por una delgada capa continua de pelos estrellados gris-plateados, lo que le da una apariencia peculiar. La corola de las flores es de color morado o azul y tiene un diámetro de más de 2.5 cm. El fruto es pequeño, de menos de 2 cm de diámetro. Es importante tener en cuenta que el trompillo es considerado una planta tóxica en muchos países, incluido México. Contiene alcaloides tóxicos que pueden ser perjudiciales para la salud humana y animal si se ingieren. (Villaseñor, 1998). La capacidad de *S. elaeagnifolium* para tolerar condiciones adversas y establecerse en áreas perturbadas, incluidas las zonas agrícolas, puede atribuirse a su resistencia a la sequía y su capacidad para adaptarse a suelos de baja calidad. Además, su presencia en lugares perturbados puede deberse a su capacidad para colonizar rápidamente espacios abiertos y competir con otras especies vegetales. (Rzedowski, 2001).

Chinmayee y colaboradores en el 2012 llevaron a cabo un experimento con *Amaranthus hybridus* L. en condiciones de invernadero que consistió en una

prueba de búsqueda de rango y una prueba definitiva para varias concentraciones de metales pesados Cu, Zn, Cr, Pb y Cd. Las plantas se cultivaron en suelo tratado con diferentes concentraciones de metales dependiendo del nivel de umbral. Los bioorgánicos de la planta como azúcar soluble, proteínas, lípidos, fenol, aminoácidos y pigmentos fotosintéticos se estimaron después de 30 días de tratamiento. Los bioorgánicos mostraron una profunda variación en respuesta a la acumulación de metales pesados. La acumulación de Cu, Pb y Cd fue alta en las raíces seguido de tallo y hojas y la de Zn y Cr se mantuvo alta en las partes aéreas. En *A. hybridus*, el plomo y el cromo aumentaron la producción de pigmentos. Se observó un aumento constante en la bioacumulación de cobre, zinc y cadmio al aumentar la concentración del metal correspondiente en el suelo. *A. hybridus* no fue un hiperacumulador de metales ya que acumuló metales por debajo de 1.000 mg kg⁻¹, pero exhibió eficacia de fitoacumulación.

Khan y colaboradores en 2018 aislaron y caracterizaron rizóbacterias promotoras de crecimiento en plantas de *Helianthus annuus* L. comúnmente llamado girasol. Las cepas aisladas las utilizaron para asistir plantas fitorremediadoras. Los consorcios PGPR utilizados solos o en combinación con ácido salicílico (SA) mejoraron significativamente la acumulación de metales pesados en comparación con el control. El tratamiento con PGPR también estimuló la producción de IAA y GA, que ayudan a las plantas a tolerar el estrés. Las cepas más sobresalientes se identificaron como *Planomicrobium chinense* sp. nov., y *Bacillus cereus* Cohn. La investigación concluyó que el uso integrador de PGPR en combinación con SA resultó ser una estrategia eficaz para mejorar la fitorremediación de metales pesados y el crecimiento de las plantas en condiciones de estrés, particularmente en condiciones de deficiencia de agua.

En 2020 Delgado y colaboradores aislaron y caracterizaron bacterias promotoras de crecimiento vegetal de la rizósfera de *Solanum hindsianum* Benth. en el estado de Baja California. Evaluaron la efectividad de las PGPR para promover el crecimiento y para disminuir el daño ocasionado por *Fusarium oxysporum* f.

sp. lycopersici en plantas de tomate. Usando medios selectivos lograron aislar 348 cepas de 12 muestras de suelo de rizósfera y las evaluaron *in vitro*. Seis cepas, pertenecientes a los géneros *Pseudomonas*, *Bacillus*, *Streptomyces* y *Paenibacillus* mostraron capacidad de promover el crecimiento vegetal y cinco mostraron actividad antagónica.

Además del trompillo se ha estudiado el uso potencial de otras plantas nativas de zonas áridas para ser implementadas en el saneamiento de suelos. *Acacia farnesiana* (L.) Willd. ha dado buenos resultados en la bioacumulación de plomo (Landeros et al., 2011) caso similar es el quelite (*A. hybridus*), esta planta anual tiene muy buen rendimiento como planta fitoextractora, además de mostrar mayores resultados en combinación con microorganismos (Ortiz et al., 2009). Otra planta nativa de zonas áridas con potencial biorremediador es *Prosopis laevigata* (Humb. et Bonpl. ex Willd.) (Buendía et al., 2010), esta planta tiene características muy interesantes que le permite adaptarse a climas adversos. Sin embargo, son escasos los estudios que exploren la efectividad de las asociaciones de PGPR y especies vegetales de zonas áridas para la remediación de suelos contaminados con metales pesados. Por lo que este estudio tiene como objetivo evaluar la efectividad de la asociación de PGPR con tres especies vegetales de zonas áridas (*V. farnesiana*, *Pr. laevigata* y *A. hybridus*) para la remediación de suelos contaminados con metales pesados. La hipótesis de trabajo es que la asociación planta-PGPR es más efectiva para la fitorremediación que las plantas sin asociación.

1.1 OBJETIVOS

1.1.1 Objetivo general

Evaluar la efectividad de la asociación de PGPR con dos especies vegetales de zonas áridas (*V. farnesiana*, *P. laevigata*) en la fitorremediación de suelos contaminados por metales pesados

1.1.2 Objetivos específicos

- Determinar la concentración de metales pesados de las muestras de suelo del jal de mina, donde se desarrolla *S. elaeagnifolium*.
- Evaluar la compatibilidad de las cepas rizóbacterianas con las especies vegetales.
- Evaluar la capacidad de promoción de crecimiento de las rizóbacterias aisladas de la rizósfera de *S. elaeagnifolium* en *Vachellia farnesiana* y *Prosopis laevigata*, desarrolladas en suelos de jales mineros y determinar la concentración de metales pesados en los tejidos.

1.2 HIPÓTESIS GENERAL

Las cepas rizobacterianas aisladas de la rizósfera *S. elaeagnifolium* promueven el crecimiento de *Vachellia farnesiana* y *Prosopis laevigata*

Las rizóbacterias confieren capacidad de fitoextracción de metales pesados en *Vachellia farnesiana* y *Prosopis laevigata*.

LITERATURA CITADA

- Amari, T., Ghnaya, T. & Abdelly, C. (2017). Nickel, cadmium and lead phytotoxicity and potential of halophytic plants in heavy metal extraction, *South African Journal of Botany*, Volume 111, 99-110. <https://doi.org/10.1016/j.sajb.2017.03.011>.
- Beneduzi, A., Ambrosini, A., & Passaglia, L. (2012). Plant growth-promoting rhizobacteria (PGPR): their potential as antagonists and biocontrol agents. *Genetics and Molecular Biology*, 35(4, Suppl. 1), 1044-1051. <https://doi.org/10.1590/s1415-47572012000600020>
- Buendía-González, L., Orozco-Villafuerte, J., Estrada-Zúñiga, M. E., Barrera Díaz, C. E., Vernon-Carter, E. J., & Cruz-Sosa, F. (2010). In vitro lead and nickel accumulation in mesquite (*Prosopis laevigata*) seedlings. *Revista mexicana de ingeniería química*, 9(1), 01-09. Recuperado en 29 de abril de 2021, de http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1665-27382010000100001&lng=es&tlng

- Changfeng, L., Kehai, Z., Wenqiang, Q., Changjiu, T., Miao, Q., Xiaoming, Y. & Wenbing, H. (2019) A Review on Heavy Metals Contamination in Soil: Effects, Sources, and Remediation Techniques, *Soil and Sediment Contamination: An International Journal*, 28:4, 380-394, DOI: 10.1080/15320383.2019.1592108
- Chinmayee, M.D., Mahesh, B., Pradesh, S. et al. (2012). The Assessment of Phytoremediation Potential of Invasive Weed *Amaranthus spinosus* L.. *Appl Biochem Biotechnol* 167, 1550–1559 <https://doi.org/10.1007/s12010-012-9657-0>
- Delgado Ramírez, C.S. 2020. Aislamiento y caracterización de bacterias promotoras de crecimiento vegetal de la rizósfera de *Solanum hindsianum*. Tesis de Maestría en Ciencias. Centro de Investigación Científica y de Educación Superior de Ensenada, Baja California. 66 pp
- Dhaliwal, S.S., Singh, J., Taneja, P.K. (2020). Remediation techniques for removal of heavy metals from the soil contaminated through different sources: a review. *Environmental science and pollution research international*, 27(2), 1319–1333. <https://doi.org/10.1007/s11356-019-06967-1>
- Falagán, C., Grail, B. M., & Johnson D. B. (2017). New approaches for extracting and recovering metals from mine tailings. *Minerals Engineering*, 106, 71-78.
- Fryzova, R., Pohanka M., Martinkova, P., Cihlarova H., Brtnicky M., Hladky, J. & Kynicky, J. (2018) Oxidative Stress and Heavy Metals in Plants. *Reviews of environmental contamination and toxicology*, 245, 129–156. https://doi.org/10.1007/398_2017_7
- Hernandez-Acosta, E., Mondragon-Romero, E., Cristóbal-Acevedo, D., Rubinos-Panta, J. & Robledo-Santoyo, E. (2009). Vegetation, mining tailings and potentially toxic elements of a jal from Pachuca, Hidalgo, México. *Revista Chapingo, Serie Ciencias Forestales y del Ambiente*. 15. 109-114.
- Khan, N., Zandi, P., Ali, S., Mehmood, A., & Adnan Shahid, M. (2018). Impact of salicylic acid and PGPR on the drought tolerance and phytoremediation potential of *Helianthus annuus*. *Frontiers in Microbiology*, 9, 2507. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2018.02507>
- Khan, A. G. (2020). Promises and potential of in situ nano-phytoremediation strategy to mycorrhizo-remediate heavy metal contaminated soils using non-food bioenergy crops (*Vetiver zizinoide*s & *Cannabis sativa*). *International journal of phytoremediation*, 22(9), 900–915. <https://doi.org/10.1080/15226514.2020.1774504>
- Konkolewska, A., Piechalak, A., Ciszewska, L. et al. (2020). Combined use of companion planting and PGPR for the assisted phytoextraction of trace metals (Zn, Pb, Cd). *Environmental science and pollution research international*, 27(12), 13809–13825. <https://doi.org/10.1007/s11356-020-07885-3>

- Landeros-Márquez, O., Trejo-Calzada, R., Reveles-Hernández, M., Valdez-Cepeda, R. D., Arreola-Ávila, J. G., Pedroza-Sandoval A, & Ruíz-Torres, J. (2011) Uso potencial del huizache (*Acacia farnesiana* L. Will) en la fitorremediación de suelos contaminados con plomo. *Revista Chapingo serie ciencias forestales y del ambiente*, 17(spe), 11-20. <https://doi.org/10.5154/r.rchscfa.2010.08.059>
- Manoj, S.R., Karthik, C., Kadirvelu, K., Arulselvi, P.I., Shanmugasundaram, T., Bruno, B. & Rajkumar, M. (2020). Understanding the molecular mechanisms for the enhanced phytoremediation of heavy metals through plant growth promoting rhizobacteria: A review. *Journal of environmental management*, 254, 109779. <https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2019.109779>
- Mahohi, A. & Raiesi, F. (2021). The performance of mycorrhizae, rhizobacteria, and earthworms to improve Bermuda grass (*Cynodon dactylon*) growth and Pb uptake in a Pb-contaminated soil. *Environmental science and pollution research international*, 28(3), 3019–3034. <https://doi.org/10.1007/s11356-020-10636-z>
- Mitra, A., Chatterjee, S. & Gupta, D. (2021) Chapter 16 Plant-microbe interaction: Relevance for phytoremediation of heavy metals. *Handbook of Bioremediation*, 263-275 <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-819382-2.00016-8>
- Mukhopadhyay, S., & Maiti, S. K. (2010). Phytoremediation of metal mine waste. *Applied Ecology and Environmental Research*, 8(3), 207-222.
- Ortiz-Cano, H. G., Trejo-Calzada, R., Valdez-Cepeda, R. D., Arreola-Ávila, J. G., Flores-Hernández, A., & López-Ariza, B. (2009). Fitoextracción de plomo y cadmio en suelos contaminados usando quelite (*Amaranthus hybridus* L.) y micorrizas. *Revista Chapingo. Serie horticultura*, 15(2), 161-168.
- Pratish, A., Kumar, A. & Hu, Z. (2018). Adverse effect of heavy metals (As, Pb, Hg, and Cr) on health and their bioremediation strategies: a review. *International microbiology: the official journal of the Spanish Society for Microbiology*, 21(3), 97–106. <https://doi.org/10.1007/s10123-018-0012-3>
- Prieto-Méndez, J., Acevedo-Sandoval, O.A., Prieto-García F. & Trejo-González, N. (2018) Phytoremediation of soils contaminated with heavy metals. *Biodiversity Int J*. 2(4):362-376. DOI: 10.15406/bij.2018.02.00088
- Rostami, S., Kamani, H., Shahsavani, S. & Hoseini, M. (2021) Environmental monitoring and ecological risk assessment of heavy metals in farmland soils, *Human and Ecological Risk Assessment: An International Journal*, 27:2, 392-404, DOI: 10.1080/10807039.2020.1719030
- Rzedowski, G. R. (2001). *Flora fanerogámica del Valle de México*. Pátzcuaro, Michoacán, México.: Instituto de Ecología y Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad.
- Sardar, k., Ali, S., Hameed, s., Afzal, S., Samar, F., Shakoor, M. B., Bharwana, S. B., Tauqeer, H. M. (2013). Heavy Metals Contamination and what are the

- Impacts on Living Organisms. *Greener Journal of Environmental Management and Public Safety*, 2(4), 172–179. <http://doi.org/10.15580/gjemps.2013.4.060413652>
- SIAM. (2019). Sistema de administracion minera, secretaria de economia. Obtenido de <http://bit.ly/1IQJPgB>
- Tak H. I., Ahmad F. & Babalola O.O. (2013). Advances in the application of plant growth-promoting rhizobacteria in phytoremediation of heavy metals. *Reviews of environmental contamination and toxicology*, 223, 33–52. https://doi.org/10.1007/978-1-4614-5577-6_2
- Villaseñor-Rios, E. G. (1998). Catálogo de malezas de México. D.F, Mexico: Consejo Nacional Consultivo Fitosanitario. Fondo de Cultura Económica.
- Vojjant-Tangahu, B., Sheikh-Abdullah, S. R., Basri, H., Idris, M., Anuar, N. & Mukhlisin, M. (2011) "A Review on Heavy Metals (As, Pb, and Hg) Uptake by Plants through Phytoremediation", *International Journal of Chemical Engineering*, doi. <https://doi.org/10.1155/2011/939161>
- Wei, X., Wei, H., & Viadero, R. C., Jr (2011). Post-reclamation water quality trend in a Mid-Appalachian watershed of abandoned mine lands. *The Science of the total environment*, 409(5), 941–948. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2010.11.030>
- Wenliang, J., Lei, L., Xiaolian, J., Chengjiao, D., Yongxing, C., Jie W., Dengke, M., Wei, Z. & Yunqiang, W. (2020). Co-inoculation effect of plant-growth-promoting rhizobacteria and rhizobium on EDDS assisted phytoremediation of Cu contaminated soils. *Chemosphere*, 254, 126724. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2020.126724>
- Xiong, T., Leveque, T., Shahid, M., Foucault, Y., Mombo, S., & Dumat, C. (2014). Lead and cadmium phytoavailability and human bioaccessibility for vegetables exposed to soil or atmospheric pollution by process ultrafine particles. *Journal of environmental quality*, 43(5), 1593–1600. <https://doi.org/10.2134/jeq2013.11.0469>
- Zhushan, F. & Shuhua, X. (2020) The effects of heavy metals on human metabolism. *Toxicology mechanisms and methods*, 30(3), 167–176. <https://doi.org/10.1080/15376516.2019.1701594>

CAPITULO II

REVISION DE LITERATURA

2.1 Historia de los metales pesados

Los metales pesados han sido objeto de estudio por numerosos científicos a lo largo de la historia, y su descripción no puede atribuirse a una sola persona, sino que ha sido el resultado del trabajo conjunto de muchos investigadores. Desde los metales antiguos como el oro, la plata y el plomo, hasta los más recientemente identificados en la Edad Moderna, como el mercurio, el cadmio y el arsénico, los metales pesados han despertado interés y atención científica. Durante los siglos XVIII y XIX, destacados científicos como Georg Brandt, Martin Klaproth, John Dalton, Antoine Lavoisier, Jöns Jakob Berzelius y Robert Bunsen realizaron importantes contribuciones al estudio de los metales pesados y la química en general. En el siglo XX, la investigación en metalurgia y química de materiales permitió identificar y describir muchos otros metales pesados, así como descubrir los efectos perjudiciales que la exposición a estos elementos puede tener en la salud humana y los ecosistemas naturales (Hernández et al., 2022).

En la actualidad, se emplea el concepto de "metal pesado" de forma general para hacer referencia a los metales o metaloides que tienen la capacidad de generar riesgos de toxicidad (Aloway, 2013).

2.2 Características y distribución de los metales pesados

Los metales pesados son elementos químicos con una densidad superior a 5 g cm^{-3} y pueden ser tóxicos para los seres vivos en altas concentraciones. Entre estos se incluyen el plomo, el mercurio, el zinc, el cadmio, el arsénico y el cobre, entre otros. Estos elementos se encuentran en la naturaleza, aunque en diferentes concentraciones y su origen es geológico, proveniente de los procesos naturales que ocurren en la Tierra. Los metales pesados se encuentran en la corteza terrestre y pueden estar presentes en rocas, suelos y agua, entre otros.

Su liberación en el medio ambiente puede ocurrir a través de procesos geológicos como la actividad volcánica, los movimientos tectónicos, la erosión y la sedimentación. Estos procesos influyen en la concentración y distribución de los metales pesados en el medio ambiente, y su presencia varía según las características del suelo y la geología de cada lugar. Algunas zonas geológicas pueden contener depósitos de metales pesados que son explotados mediante la minería. Además de los procesos geológicos, los procesos biológicos y químicos también desempeñan un papel en el origen y la distribución de los metales pesados en la naturaleza. La actividad de microorganismos y otros seres vivos puede acumular o transformar los metales pesados en los ecosistemas, mientras que los procesos químicos pueden influir en su solubilidad y movilidad en el medio ambiente (Londoño, 2016).

2.3 Influencia humana en la presencia de metales pesados

En la actualidad, la actividad humana es uno de los principales factores que afectan la presencia de metales pesados en el medio ambiente. Las actividades industriales, mineras y agrícolas pueden liberar metales pesados al medio ambiente, lo que tiene consecuencias graves para la salud humana y la biodiversidad de los ecosistemas naturales. Estas sustancias tóxicas pueden ser emitidas al aire, liberadas en efluentes líquidos o aplicadas a través de productos químicos. La presencia de metales pesados en el medio ambiente puede tener efectos perjudiciales para la salud humana, como anemia, daño cerebral y disfunción renal causados por metales como el plomo. Además, la acumulación de metales pesados en los ecosistemas naturales puede afectar la biodiversidad y la productividad de los ecosistemas (Balali et al., 2021).

2.4 Metales pesados en suelo

Actualmente la contaminación del suelo por metales pesados (HM por sus siglas en inglés) representa un problema ambiental grave, estos elementos tóxicos a altas concentraciones generan estrés abiótico a los organismos que se desarrollan en este entorno. Se conoce que algunos de los HM se encuentran en

el suelo de manera natural, aunque estos aumentan sus concentraciones en el ecosistema por las actividades antropogénicas como lo son: la agricultura, ganadería, actividades domésticas, industria y sobre todo la minería (Shehata et al., 2019). Los HM disminuyen los servicios ecosistémicos que aporta el suelo e interviene en el desarrollo óptimo de microorganismos, animales y plantas (FAO, 2019).

Los HM resultan tóxicos para las plantas, en algunos casos se acumulan en sus tejidos como raíces, tallos y hojas. También suelen ser trasladados a las partes aéreas donde intervienen en procesos metabólicos y de desarrollo. Los HM pueden llegar a la red trófica y ser ingeridos directa e indirectamente por los humanos, afectando su salud (Shehata et al., 2019).

Se han desarrollado técnicas de remediación tanto in-situ como ex-situ para corregir la contaminación por metales pesados en sitios afectados. Estas técnicas incluyen el recubrimiento de superficies, la encapsulación, el lavado del suelo, la extracción electrocinética, la estabilización, la solidificación, la vitrificación, la fitorremediación y la biorremediación. Cada una de estas técnicas emplea diferentes mecanismos para reducir los efectos de la contaminación a través de procesos físicos, químicos y biológicos (Liu et al., 2018).

2.5 Técnicas de remediación

La remediación de suelos contaminados por metales pesados y otros contaminantes ha sido abordada mediante diversas técnicas que han demostrado su eficacia en numerosos estudios científicos. Entre las técnicas de remediación más utilizadas se encuentran:

1. Remediación química: Esta técnica implica el uso de productos químicos para reducir la disponibilidad de los contaminantes en el suelo, lo que facilita su eliminación o inmovilización. Algunos ejemplos de remediación química incluyen la adición de agentes precipitantes, el ajuste del pH mediante el uso de ácidos o

bases, y la incorporación de compuestos orgánicos que disminuyen la toxicidad de los contaminantes (Song et al., 2022).

2. Remedación física: Esta técnica se basa en procesos físicos para reducir la concentración de contaminantes en el suelo. Se utilizan métodos como la extracción del suelo contaminado, la aireación del suelo, el lavado con agua o la separación física de los contaminantes mediante cribado o tamizado (Song et al., 2022).

3. Remedación biológica: Biorremediación. - Esta técnica se enfoca en la utilización de microorganismos para estabilizar los contaminantes en el suelo, disminuyendo su movilidad y toxicidad. Los microorganismos promueven la formación de complejos metálicos inactivos y la reducción de los contaminantes a formas menos tóxicas. Fitorremediación. - Esta técnica se basa en el uso de plantas para absorber los contaminantes presentes en el suelo. Las plantas son capaces de eliminar los metales pesados a través de procesos como la acumulación en sus tejidos, la volatilización o la biotransformación (Cavada et al., 2021).

2.6 Biorremediación

La biorremediación es una técnica ampliamente utilizada para la restauración de suelos contaminados, incluyendo aquellos que han sido afectados por metales pesados. Esta estrategia se basa en el uso de microorganismos, plantas o enzimas para degradar, transformar o extraer los contaminantes del suelo, con el objetivo de restablecer su calidad original (Adams et al., 2015)

En la biorremediación de suelos contaminados por metales pesados, se emplean diferentes técnicas. Uno de los métodos más comunes es la fitorremediación, que implica el uso de plantas que tienen la capacidad de absorber o acumular los metales pesados presentes en el suelo. Estas plantas, denominadas hiperacumuladoras, pueden concentrar altas cantidades de metales en sus tejidos a través de procesos como la absorción radicular y la translocación hacia

partes aéreas. Una vez que los metales pesados son acumulados en las plantas, se pueden utilizar diferentes estrategias para su extracción, como la cosecha de las partes aéreas de las plantas o el corte y regeneración de las mismas. La fitorremediación ha demostrado ser efectiva en la eliminación de contaminantes como plomo, arsénico, cadmio y cromo, y presenta ventajas como su bajo costo, su capacidad de aplicación en grandes extensiones de suelo y su compatibilidad con otras técnicas de remediación (Adams et al., 2020).

Otro método de la biorremediación de suelos contaminados por metales pesados es la biodegradación. En este caso, se utilizan microorganismos específicos capaces de transformar los metales pesados en formas menos tóxicas o insolubles. Estos microorganismos pueden llevar a cabo procesos de biotransformación, donde los metales pesados son modificados químicamente a través de reacciones enzimáticas, o pueden facilitar la formación de complejos metálicos inactivos. La biodegradación es un proceso natural que ocurre en la naturaleza, pero puede ser estimulada y acelerada mediante la adición de microorganismos seleccionados o la optimización de las condiciones ambientales. Sin embargo, es importante tener en cuenta que la eficacia de la biodegradación puede variar dependiendo de factores como la disponibilidad de nutrientes, la concentración de metales pesados y la presencia de otros compuestos en el suelo (Jin et al., 2018).

Además de la fitorremediación y la biodegradación, la biorremediación de suelos contaminados por metales pesados también puede incluir técnicas de inmovilización. Esta estrategia busca reducir la movilidad y biodisponibilidad de los metales pesados en el suelo mediante la formación de complejos insolubles. Para lograr esto, se pueden agregar agentes químicos que reaccionen con los metales pesados y formen compuestos estables e insolubles, como fosfatos, carbonatos o silicatos. Estos compuestos inmovilizan los metales pesados, evitando su liberación al medio ambiente y reduciendo su potencial de toxicidad. Sin embargo, es importante considerar que la inmovilización no elimina los

metales pesados del suelo, sino que los confina en formas menos móviles y disponibles para los organismos (Ma et al., 2016).

2.7 Fitorremediación

La fitorremediación es una práctica utilizada para mitigar o reducir los efectos de los metales pesados en los suelos. Este enfoque se basa en el uso de plantas y sus interacciones con el suelo y la atmósfera para reducir la concentración y disponibilidad de los contaminantes.

En el caso de suelos contaminados con metales pesados, existen cuatro procesos principales de fitorremediación: la fitoextracción, la fitoestabilización, la fitovolatilización y la rizofiltración (Laghlimi et al., 2015).

La fitoextracción implica el uso de plantas hiperacumuladoras, es decir, aquellas capaces de acumular altas concentraciones de metales pesados en sus tejidos. Estas plantas extraen los contaminantes del suelo a través de sus raíces y los acumulan en sus partes aéreas. Posteriormente, se pueden recolectar y eliminar las plantas, junto con los metales pesados acumulados en ellas, lo que resulta en una reducción significativa de la concentración de contaminantes en el suelo.

La fitoestabilización, por otro lado, se centra en reducir la movilidad y biodisponibilidad de los metales pesados en el suelo. Se utilizan plantas que poseen la capacidad de formar complejos insolubles con los contaminantes, lo que limita su migración y reduce su toxicidad. Estas plantas actúan como agentes estabilizadores al promover la formación de estructuras químicas estables que retienen los metales pesados en el suelo.

La fitovolatilización es un proceso en el cual ciertas plantas tienen la capacidad de volatilizar los metales pesados a través de sus hojas. Los contaminantes son absorbidos por las raíces y posteriormente transportados a las partes aéreas de las plantas, donde son liberados en forma de compuestos volátiles. Estos compuestos pueden ser capturados y eliminados del entorno, reduciendo así la contaminación del suelo.

La rizofiltración es un proceso en el cual las raíces de las plantas actúan como filtros, atrapando y removiendo los metales pesados presentes en el agua del suelo. Las raíces contienen una serie de microorganismos y sustancias que promueven la absorción y retención de los contaminantes, evitando así su liberación al entorno.

En investigaciones recientes se han utilizado bacterias para asistir a las plantas en el proceso de fitorremediación (Sharma et al., 2023). Las interacciones entre las plantas y los microorganismos desempeñan un papel crucial en el saneamiento de sitios contaminados con metales pesados. Estas interacciones simbióticas o mutualistas pueden influir en la capacidad de las plantas para tolerar y remediar la contaminación, y ofrecen oportunidades prometedoras para mejorar los métodos de fitorremediación asistidos por microbios (Ma et al., 2016).

Los microorganismos, como bacterias y hongos, pueden asociarse con las raíces de las plantas en lo que se conoce como rizosfera. En esta zona, se establece una compleja red de interacciones entre las plantas y los microorganismos, en la cual los microorganismos benefician a las plantas al proporcionarles nutrientes, promover el crecimiento radicular y mejorar su resistencia al estrés, incluida la tolerancia a los metales pesados (Mustapha & Halimoon, 2015).

A las bacterias presentes en la rizosfera que promueven el crecimiento vegetal se le conoce como PGPR (por sus siglas en inglés). Estos microorganismos desempeñan un papel fundamental en la solubilización, movilización y transformación de los contaminantes metálicos, facilitando su absorción y acumulación por parte de las plantas. Algunas de estas rizobacterias tienen la capacidad de producir enzimas y compuestos quelantes que pueden descomponer los metales pesados, convirtiéndolos en formas menos tóxicas y más fácilmente disponibles para la absorción por parte de las plantas (El-Meihy et al., 2019).

2.8 Rizóbacterias promotoras de crecimiento vegetal (PGPR)

Las rizobacterias promotoras de crecimiento vegetal (PGPR, por sus siglas en inglés) desempeñan un papel crucial en la salud y el bienestar de las plantas. Estos microorganismos benéficos colonizan las raíces de las plantas, concretamente en una zona llamada rizosfera y establecen una relación simbiótica, beneficiando a las plantas hospedantes de varias formas (Kumar et al., 2017).

Una de las principales contribuciones de los PGPR a las plantas, es su capacidad para mejorar la adquisición de nutrientes. Estos microorganismos pueden solubilizar fosfatos y convertirlos en formas más disponibles para las raíces de las plantas (Ahmad et al., 2013). Los PGPR pueden producir hormonas vegetales, como las auxinas, que promueven el crecimiento de las raíces y mejoran la absorción de nutrientes del suelo. Las bacterias tienen la capacidad de sintetizar sideróforos y fitohormonas, como el IAA (ácido indolacético), que promueven el crecimiento de las plantas. Además, estas bacterias pueden solubilizar minerales esenciales como el potasio y el fósforo, haciéndolos más disponibles para las plantas. Otro beneficio importante, es su capacidad para reducir la producción excesiva de etileno, que ocurre durante condiciones de estrés en las plantas. Esto resulta en un aumento en la eficiencia de la nutrición de las plantas (Gontia et al., 2014).

Otro aporte importante de los PGPR es su capacidad para proteger a las plantas contra los microorganismos fitopatógenos. Estos microorganismos benéficos pueden producir compuestos antimicrobianos que inhiben el crecimiento de patógenos, así como competir por los recursos y el espacio en la rizosfera, impidiendo así el establecimiento y la proliferación de patógenos dañinos. Además, los PGPR pueden estimular las respuestas de defensa de las plantas, activando mecanismos de resistencia sistémica que fortalecen la capacidad de las plantas para enfrentar las infecciones patogénicas (Kumar et al., 2017).

Además de su papel en la adquisición de nutrientes y la protección contra patógenos, los PGPR también desempeñan un papel crucial en la promoción de la resistencia de las plantas a diversos estreses abióticos. Estos microorganismos pueden aumentar la tolerancia de las plantas al estrés hídrico, la salinidad, las altas temperaturas y otros factores ambientales como lo son los metales pesados. Esto se logra a través de complejos procesos metabólicos (Arora et al., 2021).

2.9 Mecanismos contra metales pesados

Las PGPR tienen la capacidad de transformar, inmovilizar, secuestrar y detoxificar los metales pesados presentes en el suelo. A través de procesos de reducción, oxidación o precipitación, estas bacterias pueden convertir los metales pesados en formas menos tóxicas o insolubles. Incluso algunas cepas de PGPR pueden reducir los iones metálicos a estados de oxidación más bajos, lo que disminuye su toxicidad. También las bacterias pueden formar complejos con los metales pesados, limitando su disponibilidad y minimizando su impacto negativo en las plantas. Además, influyen en el desarrollo y comportamiento de la planta para tolerar el estrés a los metales pesados (Manoj et al., 2020).

1. Producción de compuestos quelantes: Las PGPR secretan compuestos quelantes, como ácidos orgánicos y sideróforos. Estas moléculas tienen la capacidad de unirse a los metales pesados, formando complejos estables. Al hacerlo, reducen la disponibilidad de los metales para las plantas y disminuyen su toxicidad. Los sideróforos, en particular, son moléculas de alta afinidad que pueden quelar y transportar metales pesados, permitiendo que las bacterias los capturen y los mantengan alejados de las plantas hospedantes (Aguado et al., 2012).

2. Acumulación intracelular y precipitación: Algunas bacterias tienen la capacidad de acumular metales pesados dentro de sus células en forma de precipitados o complejos inactivos. Estos precipitados se depositan en estructuras intracelulares, como vesículas o gránulos, evitando que los metales

interfieran con las funciones vitales de la célula y protegiendo a la bacteria de su toxicidad. Esta acumulación intracelular puede ser acompañada por mecanismos de regulación génica que controlan la expresión de proteínas de unión a metales y transportadores (Nouvamo et al., 2016).

3. Activación de sistemas de resistencia: Las PGPR pueden activar mecanismos de resistencia en las plantas hospedantes frente a los metales pesados. Estas bacterias pueden inducir la síntesis de enzimas antioxidantes, como superóxido dismutasa, catalasa y peroxidasa, que juegan un papel fundamental en la neutralización de especies reactivas de oxígeno generadas en respuesta al estrés causado por los metales pesados. Además, las PGPR pueden estimular la producción de fitoalexinas, proteínas antimicrobianas y compuestos fenólicos en las plantas, fortaleciendo así su sistema de defensa y protegiéndolas contra los efectos dañinos de los metales pesados (Husna et al., 2023).

4. Modulación del sistema radicular: Las PGPR pueden influir en el desarrollo y crecimiento del sistema radicular de las plantas hospedantes. Estas bacterias pueden estimular la proliferación y ramificación de las raíces, lo que aumenta la superficie de absorción y mejora la capacidad de las plantas para adquirir nutrientes esenciales del suelo. Al hacerlo, las PGPR limitan la absorción de metales pesados por parte de las plantas, ya que compiten por los sitios de absorción y reducen la disponibilidad de los metales para su incorporación en las raíces (Manoj et al., 2020).

5. Secuestro extracelular: Algunas bacterias tienen la capacidad de secuestrar metales pesados fuera de sus células mediante la producción de exopolisacáridos u otros compuestos extracelulares. Estos compuestos forman una especie de barrera que atrapa los metales y evita que entren en contacto directo con las células bacterianas. Este mecanismo proporciona una protección adicional contra la toxicidad de los metales y permite que las bacterias mantengan su viabilidad en ambientes contaminados (Glick, 2012).

6. Enzimas de desintoxicación: Las PGPR pueden producir enzimas especializadas que tienen la capacidad de desintoxicar los metales pesados. Por ejemplo, algunas bacterias sintetizan enzimas como la metalotioneína y la glutatión S-transferasa, que se unen a los metales pesados y los transforman en formas menos tóxicas. Estas enzimas juegan un papel crucial en la protección de las células bacterianas contra los efectos negativos de los metales pesados y les permiten sobrevivir en ambientes contaminados (Pérez, 2020).

7. Transporte activo de metales: Las PGPR pueden poseer sistemas de transporte activo que les permiten acumular metales pesados en sus células. Estos sistemas de transporte pueden incluir proteínas de membrana que se encargan de capturar y transportar selectivamente los metales pesados hacia el interior de la célula bacteriana. Una vez dentro de la célula, los metales pesados pueden ser sequestrados o metabolizados de manera segura, evitando su acumulación perjudicial y protegiendo así a las bacterias de su toxicidad (Manoj et al., 2020).

8. Formación de biofilms: Las PGPR tienen la capacidad de formar biofilms, que son comunidades bacterianas altamente organizadas y adheridas a una superficie. Los biofilms proporcionan un entorno protector para las bacterias, ya que las células se encuentran encapsuladas en una matriz de polisacáridos que las aísla de las condiciones adversas, incluyendo la presencia de metales pesados. Este mecanismo de protección colectiva permite que las bacterias sobrevivan en ambientes contaminados y mantengan una población estable y funcional (Amina, 2016).

9. Interacciones con la microbiota del suelo: Las PGPR pueden interactuar de manera beneficiosa con otras bacterias y microorganismos presentes en el suelo. Estas interacciones pueden incluir la facilitación de la tolerancia a metales pesados a través de la comunicación química o la producción de metabolitos que promueven la resistencia conjunta. Además, la presencia de otras bacterias en el suelo puede influir en la composición y actividad de las comunidades

microbianas, lo que a su vez puede afectar la capacidad de las PGPR para tolerar y remediar los metales pesados (More et al., 2022).

Estos mecanismos demuestran la versatilidad y adaptabilidad de las PGPR en entornos contaminados por metales pesados. Al comprender y aprovechar estos mecanismos, podemos desarrollar estrategias más eficientes y sostenibles para la fitorremediación de suelos contaminados y utilizarlos en conjunto con plantas de zonas áridas.

2.10 Plantas de zonas áridas con potencial fitorremediador

2.10.1 *Prosopis laevigata* Humb. & Bonpl. ex Willd.

Prosopis laevigata, también conocida como mezquite, es una especie arbórea que presenta una amplia distribución geográfica en México. Esta especie se encuentra comúnmente en lugares perturbados, como sitios contaminados por metales, lo que sugiere su capacidad de adaptación a condiciones ambientales desfavorables. Se ha observado que *Prosopis laevigata* tiende a habitar con frecuencia en zonas áridas y semiáridas, donde se establece en asociación con otras especies de la familia Fabaceae, como *Pithecellobium dulce* (Roxb.) Benth. y *Vachellia farnesiana* (L.) Willd. Estos hallazgos han sido documentados en estudios realizados por Castañeda Bautista (2016) y Santoyo Martínez (2016), quienes han resaltado la presencia de *P. laevigata* en sitios contaminados por metales como una respuesta adaptativa ante condiciones adversas.

El mezquite es un árbol que alcanza una altura de 6 a 10 metros, con un tronco recto y una corteza lignificada que presenta fisuras de color negro. Sus hojas, caducas y compuestas, son bipinnadas y de un tono verde pálido, sin vellosidades. Sus flores, fragantes y de color blanco-amarillento, se agrupan en racimos axilares. El fruto del mezquite es una vaina casi cilíndrica, de tonalidad pardo-amarillenta a rojiza, y presenta una punta. Debido a su capacidad para resistir la sequía, el mezquite se utiliza en programas de reforestación de zonas áridas (Alanís y González, 2003).

La utilización de las plantas del género *Prosopis* en la fitorremediación de suelos contaminados por metales pesados ha despertado un creciente interés en la comunidad científica a nivel mundial y nacional. Numerosos estudios han evidenciado resultados prometedores que respaldan su efectividad como una herramienta valiosa en el proceso de recuperación de suelos afectados por la presencia de metales tóxicos. La capacidad de *Prosopis* para absorber y acumular metales pesados en su estructura radicular y tejidos ha sido ampliamente documentada, lo que la convierte en una opción destacada para la remediación de suelos contaminados. Su adaptabilidad a diversos entornos y condiciones adversas, así como su habilidad para establecer simbiosis con microorganismos benéficos, refuerzan su potencial como una especie vegetal clave en la restauración de áreas degradadas. Aunque se requieren más investigaciones para optimizar los protocolos de fitorremediación con *Prosopis* y evaluar los posibles efectos secundarios, los hallazgos existentes respaldan su consideración como una valiosa herramienta en la gestión de suelos contaminados por metales pesados (López, 2017).

2.10.2 *Vachellia farnesiana* a (L.) Willd.

El huizache (*Vachellia farnesiana*) es un árbol o arbusto perennifolio de la familia Fabaceae que se encuentra en diversas regiones tropicales y subtropicales de América. Se caracteriza por su tamaño, que puede oscilar entre 3 y 10 metros de altura, sus ramas espinosas y su frondoso follaje compuesto por hojas bipinnadas de color verde brillante. Su distribución geográfica abarca varios países, incluyendo México, Estados Unidos, Brasil y Argentina, entre otros, siendo una especie nativa del continente americano.

El huizache presenta un tronco generalmente tortuoso, con una corteza de tonalidades marrones oscuro o grisáceo y surcos longitudinales. Sus ramas son delgadas y flexibles, y están adornadas con espinas a lo largo de su extensión. Las hojas del huizache son bipinnadas, lo que significa que están divididas en numerosos pares de folíolos pequeños con forma de lanza. Además, al frotar las hojas se puede percibir un agradable aroma. Durante su periodo de floración, el

huizache produce flores diminutas y fragantes de color amarillo dorado. Estas flores se agrupan en inflorescencias esféricas conocidas como espigas, las cuales emergen de las axilas de las hojas (Rzedowski y Rzedowski, 2005).

Después de la floración, el huizache desarrolla vainas o legumbres alargadas de color marrón oscuro o negro. Estas vainas contienen semillas pequeñas y duras que son dispersadas mediante el viento o la intervención de animales.

El huizache es reconocido por su tolerancia y adaptabilidad a diferentes tipos de suelos y condiciones climáticas. Puede prosperar en suelos pobres, secos y salinos, e incluso puede sobrevivir períodos de sequía (Rzedowski y Rzedowski, 2005).

Los huizaches y el mezquite desempeñan un importante papel ecológico al actuar como fijadores de nitrógeno. Esto promueve el crecimiento de matorrales asociados y ayuda a prevenir la erosión del suelo (Valenzuela-Nuñez et al., 2014). *V. farnesiana* tiene un impacto positivo en áreas de cultivo abandonadas, colonizándolas en un período de 3 a 5 años (Estrada et al., 2004). Esta especie se valora y cultiva por su belleza ornamental y por su madera. Además, se utiliza como forraje y en la rehabilitación de suelos degradados para el control de la erosión (Vibrans, 2009).

LITERATURA CITADA

- Adams, G., Tawari Fufeyin, P., Eruke Okoro, S., & Ehinomen, I. (2020). Bioremediation, Biostimulation and Bioaugmentation: A Review. *International Journal of Environmental Bioremediation & Biodegradation*, 3(1), 28–39. <https://doi.org/10.12691/ijebb-3-1-5>
- Aguado-Santacruz, G. A., Moreno-Gómez, B., Jiménez-Francisco, B., García-Moya, E. y Preciado-Ortiz, R. E. (2012). Impacto de los sideróforos microbianos y fitosideróforos en la asimilación de hierro por las plantas: Una síntesis. *Revista Fitotecnia Mexicana*, 35(1), 9-21.
- Ahmad, M., Zahir, Z. A., Khalid, M., Nazli, F., & Arshad, M. (2013). Efficacy of *Rhizobium* and *Pseudomonas* strains to improve physiology, ionic balance and quality of mung bean under salt-affected conditions on farmer's fields. *Plant Physiology and Biochemistry*, 63, 170–176. <https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2012.11.024>

- Alanís-Flores, G.J. y González-Alanís D. (2003). Flora nativa ornamental para el área metropolitana de Monterrey. Primera edición. Universidad Autónoma de Nuevo León. 128 p.
- Alloway B.J. (2013). Heavy metals in soils, trace metals and metalloids in soils and their bioavailability. 3ra edición. Springer, Reading, Reino Unido, 587 pp. DOI: 10.1007/978-94-007-4470-7
- Amina, Meliani. (2016). Biofilm-Mediated Heavy Metals Bioremediation in PGPR *Pseudomonas*. Journal of Bioremediation & Biodegradation. 3. 370. 10.4172/2155-6199.1000370.
- Balali-Mood, M., Naseri, K., Tahergorabi, Z., Khazdair, M. R., & Sadeghi, M. (2021). Toxic mechanisms of five heavy metals: Mercury, lead, chromium, cadmium, and arsenic. *Frontiers in Pharmacology*, 12, 643972. <https://doi.org/10.3389/fphar.2021.643972>
- Cavada-Prado, K. A., González-Sánchez, C. S., Alanís-Rodríguez, E., & Collantes Chávez-Costa, A. L. (2021). Biorremediación de metales pesados en México: técnicas y tendencias de uso para aplicación en actividades mineras. *E-CUCBA*, (17), 06–17. <https://doi.org/10.32870/ecucba.vi17.205>
- Castañeda Bautista JA (2016) Estudio ecotoxicológico de los jales mineros en Huautla, Morelos: El caso de *Pithecellobium dulce* (Roxb) Beth. (Fabaceae). Dissertation, Universidad Autónoma del Estado de Morelos.
- El-Meihy, R. M., Abou-Aly, H. E., Youssef, A. M., Tewfike, T. A., & El-Alkshar, E. A. (2019). Efficiency of heavy metals-tolerant plant growth promoting bacteria for alleviating heavy metals toxicity on sorghum. *Environmental and Experimental Botany*, 162, 295–301. <https://doi.org/10.1016/j.envexpbot.2019.03.005>
- Estrada, E., C. Yen, A. Delgado, y J. A. Villareal. 2004. Leguminosas del centro del estado de Nuevo León, México. *Anales del Instituto de Biología. Serie Botánica* 75: 73-85.
- Figueiredo, M. V. B., Bonifacio, A., Rodrigues, A. C., Araujo, F. F., Choudhary, D. K., & Varma, A. (2016). Microbial-Mediated Induced Systemic Resistance in Plants. Springer. *Plant growth-promoting rhizobacteria: Key mechanisms of action*; pp. 23–37.
- Glick, B. R. (2012). Plant growth-promoting bacteria: mechanisms and applications. *Scientifica*, 2012, 963401. <https://doi.org/10.6064/2012/963401>
- Gontia-Mishra, I., Sasidharan, S., & Tiwari, S. (2014). Recent developments in use of 1-aminocyclopropane-1-carboxylate (ACC) deaminase for conferring tolerance to biotic and abiotic stress. *Biotechnology Letters*, 36, 889-898.
- Hernández-Caricio, C., Ramírez, V., Martínez, J. Quintero-Hernández, V., Baez, A., Munive, J. A., & Rosas-Murrieta, N. (2022). Los metales pesados en la

historia de la humanidad, los efectos de la contaminación por metales pesados y los procesos biotecnológicos para su eliminación: el caso de *Bacillus* como bioherramienta para la recuperación de suelos. *Alianzas y tendencias BUAP*, 7(27), 1–68. <https://doi.org/10.5281/zenodo.7091407>

- Husna, Hussain, A., Shah, M., Hamayun, M., Iqbal, A., Qadir, M., Alataway, A., Dewidar, A. Z., Elansary, H. O., & Lee, I.-J. (2023). Phytohormones producing rhizobacteria alleviate heavy metals stress in soybean through multilayered response. *Microbiological Research*, 266(127237), 127237. <https://doi.org/10.1016/j.micres.2022.127237>
- Jin, Y., Luan, Y., Ning, Y., and Wang, L. (2018). Effects and mechanisms of microbial remediation of heavy metals in soil: a critical review. *Appl. Sci.* 8 (8), 1336. doi:10.3390/app8081336
- Kumar, A., Verma, H., Singh, V. K., Singh, P. P., Singh, S. K., Ansari, W. A., Yadav, A., Singh, P. K., & Pandey, K. D. (2017). Role of *Pseudomonas sp.* in Sustainable Agriculture and Disease Management. In *Agriculturally Important Microbes for Sustainable Agriculture* (pp. 195–215). Springer Singapore.
- Laghlimi, M., Baghdad, B., Hadi, H. E., & Bouabdli, A. (2015). Phytoremediation mechanisms of heavy metal contaminated soils: A review. *Open Journal of Ecology*, 05(08), 375–388. <https://doi.org/10.4236/oje.2015.58031>
- Liu, L., Li, W., Song, W., & Guo, M. (2018). Remediation techniques for heavy metal-contaminated soils: Principles and applicability. *The Science of the Total Environment*, 633, 206–219. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2018.03.161>
- Londoño Franco, L. F., Londoño Muñoz, P. T., & Muñoz Garcia, F. G. (2016). LOS RIESGOS DE LOS METALES PESADOS EN LA SALUD HUMANA Y ANIMAL. *Biotecnología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial*, 14(2), 145. [https://doi.org/10.18684/bsaa\(14\)145-153](https://doi.org/10.18684/bsaa(14)145-153)
- López Fuentes, M. (2017). Mezquite (*Prosopis laevigata*) como alternativa para la recuperación de suelos contaminados por cobre. Benemérita Universidad Autónoma de Puebla.
- Ma, Y., Oliveira, R. S., Freitas, H., & Zhang, C. (2016). Biochemical and molecular mechanisms of plant-microbe-metal interactions: Relevance for phytoremediation. *Frontiers in Plant Science*, 7, 918. <https://doi.org/10.3389/fpls.2016.00918>
- Manoj, S. R., Karthik, C., Kadirvelu, K., Arulselvi, P. I., Shanmugasundaram, T., Bruno, B., & Rajkumar, M. (2020). Understanding the molecular mechanisms for the enhanced phytoremediation of heavy metals through plant growth promoting rhizobacteria: A review. *Journal of Environmental Management*, 254(109779), 109779. <https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2019.109779>

- Moore, J. A. M., Abraham, P. E., Michener, J. K., Muchero, W., & Cregger, M. A. (2022). Ecosystem consequences of introducing plant growth promoting rhizobacteria to managed systems and potential legacy effects. *The New Phytologist*, 234(6), 1914–1918. <https://doi.org/10.1111/nph.18010>
- Mustapha, M. U., & Halimoon, N. (2015). Microorganisms and biosorption of heavy metals in the environment: A review paper. *Journal of Microbial & Biochemical Technology*, 07(05). <https://doi.org/10.4172/1948-5948.1000219>
- Noumavo, P. A., Agbodjato, N. A., Baba-Moussa, F., Adjanohoun, A. & Baba-Moussa, L. (2016). Plant growth promoting rhizobacteria: Beneficial effects for healthy and sustainable agriculture. *African Journal of Biotechnology*, 15(27), 1452-1463. doi: 10.5897/ajb2016.15397.
- Pérez Martínez, R. (2020). Genómica estructural y caracterización molecular de bacterias simbiotes resistentes de metales pesados (tesis de maestría). uaem, Cuernavaca, Morelos.
- Rzedowski, G. C. de, y J. Rzedowski (coords.). 2005. Flora Fanerogámica del Valle de México. INE y Conabio. Pátzcuaro, Mich. 1406 p.
- Santoyo Martínez M (2016) Bioacumulación, daño genotóxico y cambios en la morfología foliar de *Acacia farnesiana* en los jales de Huautla, Morelos. Dissertation, Universidad Autónoma del Estado de Morelos.
- Sharma, J. K., Kumar, N., Singh, N. P., & Santal, A. R. (2023). Phytoremediation technologies and their mechanism for removal of heavy metal from contaminated soil: An approach for a sustainable environment. *Frontiers in Plant Science*, 14, 1076876. <https://doi.org/10.3389/fpls.2023.1076876>
- Song, P., Xu, D., Yue, J., Ma, Y., Dong, S., & Feng, J. (2022). Recent advances in soil remediation technology for heavy metal contaminated sites: A critical review. *The Science of the Total Environment*, 838(Pt 3), 156417. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2022.156417>
- Valenzuela-Núñez., L. M., M. Rivera-González, R. Trucios-Caciano, y J. C. Ríos-Saucedo. 2013. Características ecológicas y dasométricas de dos comunidades con mezquite (*Prosopis laevigata* [Humb. et Bonpl, ex Willd] M.C. Johnston) en el estado de Durango. *Tecnociencia Chihuahua* 7: 32-38.

CAPITULO III

PROMOCION DE CRECIMIENTO DE *Prosopis laevigata*, *Vachellia farnesiana* y *Amaranthus hybridus* POR PGPRs.

3.1 RESUMEN

La aplicación de rizóbacterias promotoras de crecimiento vegetal (PGPRs, por sus siglas en inglés) potencializa el desarrollo de diversas especies vegetales. Estos microorganismos colonizan la rizosfera de las plantas y establecen una relación simbiótica, beneficiando a las plantas hospedantes. Sin embargo, son escasos los estudios sobre los efectos de las PGPRs en el crecimiento de especies de zonas áridas. El objetivo de este estudio fue evaluar la efectividad en la promoción de crecimiento de la asociación de PGPRs aisladas de ambientes áridos, con tres especies vegetales de zonas áridas (*Vachellia farnesiana*, *Prosopis laevigata* y *Amaranthus hybridus*). Las cepas rizóbacterianas utilizadas fueron ASMS4, ASMR4 y ZN1S2. Se llevaron a cabo dos experimentos. En el primer experimento se utilizó un diseño de bloques al azar con arreglo en parcelas divididas, Los factores variables fueron las cepas de PGPRs (tres) y las especies vegetales (tres). En el segundo experimento se utilizó un diseño completamente al azar en tubos falcon con medio MS semisólido enriquecido con 50 ppm de Zn y As. Los factores variables fueron los mismos que en el experimento anterior. Los parámetros que se tomaron en cuenta para ambos análisis de promoción de crecimiento fueron longitud de raíz principal, raíces secundarias y peso fresco de la planta. Los resultados obtenidos en el ensayo de las charolas de germinación nos indican que las cepas rizóbacterianas en se comportan diferente para cada especie vegetal. ASMR4 y ASMS4 mostraron mayor promoción de crecimiento en *P. laevigata* y *V. farnesiana*. Mientras que ZN1S2 promovió mayor desarrollo de raíces secundarias en *A. hybridus* y *V. farnesiana*. La eficacia de las cepas rizóbacterianas se demostró en los distintos parámetros evaluados. La inoculación *in vitro* individual de las plantas con las cepas rizóbacterianas aumentó la altura, la longitud de la raíz, las raíces secundarias y la biomasa de las plantas respecto al control. Es importante destacar que los estudios *in vitro* ofrecen una perspectiva inicial y controlada de los efectos de las PGPR en las plantas. El presente estudio permite explorar la utilización de PGPR en plantas de zonas áridas para aumentar su desarrollo y establecimiento.

Palabras clave: PGPR, Rizosfera, Simbiosis, Plantas de zonas áridas, Jal de mina.

Tesis de Maestría en Ciencias, Posgrado en Recursos Naturales y Medio Ambiente en Zonas Áridas, Unidad Regional Universitaria de Zonas Áridas.

Autor: Diego Armando Rivera Rodríguez

Director de tesis: Dr. Ricardo Trejo Calzada

3.2 INTRODUCCIÓN

Las zonas áridas y semiáridas en México son de gran importancia, ya que abarcan aproximadamente el 54% de la superficie del país y albergan a más del 40% de la población nacional. Estas áreas se distribuyen principalmente en las regiones norte y centro de México (Rzedowski, 1978). Las zonas áridas se definen como aquellas áreas que reciben una precipitación pluvial media anual inferior a 350 mm. Por otro lado, se consideran zonas semiáridas a aquellas que reciben entre 350 y 700 mm de precipitación pluvial media anual. En ambos casos, la cantidad de lluvia que cae durante el año es menor que la evaporación potencial máxima anual, lo que indica un déficit hídrico. La vegetación de las zonas áridas y semiáridas mexicanas es diversa y se adapta a las condiciones de sequedad o escasez hídrica. En estas áreas, predominan las plantas leñosas de porte bajo, como arbustos y árboles pequeños. También son comunes las plantas suculentas, que tienen la capacidad de almacenar agua en sus tejidos, y las gramíneas, que forman matorrales xerófilos y pastizales (Paz y Díaz, 2018).

Esta vegetación adaptada a la aridez juega un papel importante en el ecosistema de las zonas áridas, ya que contribuye a la retención del suelo y al ciclo del agua. Además, es refugio y fuente de alimento para una variedad de especies animales, muchas de ellas también adaptadas a las condiciones extremas. La conservación de estas áreas es esencial para preservar su biodiversidad y asegurar el sustento de las comunidades que dependen de ellas. La gestión sostenible de los recursos naturales en las zonas áridas mexicanas es fundamental para evitar la desertificación y promover la resiliencia de los ecosistemas y las poblaciones que los habitan. Las zonas áridas se distinguen por ser entornos donde la evaporación del agua supera ampliamente la cantidad de precipitación que reciben. Esto significa que la pérdida de agua por evaporación es mucho mayor que la entrada de agua a través de la lluvia. Como resultado, la disponibilidad de agua es escasa y constituye un factor limitante para la vida vegetal y animal en estas regiones (Montaño et al., 2016).

Además de la escasez de agua, las zonas áridas se caracterizan por presentar temperaturas extremas, con altas temperaturas diurnas y bajas temperaturas nocturnas. Estas fluctuaciones térmicas pueden ser desafiantes para la supervivencia de organismos adaptados a estas condiciones. Otra característica importante de las zonas áridas es la baja disponibilidad de nutrientes en el suelo. La escasa precipitación limita la lixiviación de minerales y nutrientes, lo que resulta en su acumulación en el suelo. Sin embargo, la baja actividad biológica y la falta de materia orgánica hacen que estos nutrientes sean poco accesibles para las plantas, dificultando su crecimiento y desarrollo (González, 2012).

En la búsqueda de alternativas más prácticas y accesibles para mejorar la tolerancia de las plantas al estrés por sequía y metales pesados, se ha investigado el papel de las rizobacterias promotoras del crecimiento vegetal (PGPR). Estas bacterias forman parte de la rizósfera, la zona que rodea las raíces de las plantas, y pueden establecer asociaciones beneficiosas con ellas (Niu et al, 2017).

Las PGPR tienen la capacidad de beneficiar a las plantas de varias maneras. Por un lado, pueden mejorar la disponibilidad de nutrientes para las plantas al solubilizar compuestos inorgánicos, como el fósforo, y producir sustancias que promueven la absorción de nutrientes. También pueden estimular el crecimiento de las raíces y aumentar la absorción de agua por parte de las plantas. Además, las PGPR pueden promover la resistencia de las plantas al estrés abiótico, como la sequía y los metales pesados. Estas bacterias pueden producir compuestos que actúan como reguladores del crecimiento vegetal, promoviendo la adaptación de las plantas a condiciones adversas. También pueden inducir respuestas de defensa en las plantas, fortaleciendo su capacidad para hacer frente al estrés y reducir el daño causado por la sequía (Cassan et al., 2009).

Una ventaja de utilizar las PGPR como una estrategia para mejorar la tolerancia de las plantas a la sequía y metales pesados es que su aplicación puede ser más sencilla y menos costosa en comparación con otras técnicas, como la ingeniería genética. Estas bacterias pueden aplicarse directamente al suelo o tratarse las

semillas antes de la siembra, lo que facilita su implementación en prácticas de reforestación (Niu et al, 2017).

Aunque aún se requiere más investigación, el uso de rizóbacterias promotoras del crecimiento vegetal muestra un potencial prometedor como una alternativa viable y sostenible para mejorar la tolerancia de las plantas a la sequía y mitigar los efectos del estrés por metales pesados. Debido a la escasez de estudios en plantas de zonas áridas y PGPRs el objetivo del presente estudio es evaluar la compatibilidad de cepas rizóbacterianas aisladas de *S. elaeagnifolium* con 3 especies vegetales. Esto permite explorar el uso alternativo de planta-PGPR para recuperar sitios impactados en zonas áridas.

3.3 MATERIALES Y MÉTODOS

3.3.1 Ubicación geográfica del área de estudio

Se establecieron dos experimentos en el laboratorio de ecología microbiana de la Facultad de Ciencias Biológicas UJED. Ubicado en Gómez palacio Durango, México. Coordenadas 25°35' 13" N, 103° 30' 04" E, con una altitud de 1136 msnm.

3.3.2 Diseño y conducción experimental

Para la evaluación de la capacidad de la PGPRs para promover crecimiento se empleó un diseño experimental de bloques al azar con arreglo en parcelas divididas y cuatro repeticiones. Los factores variables fueron las cepas de PGPR (ASMR4, ASMS4 y ZN1S2) y las especies vegetales (*V. farnesiana*, *P. laevigata* y *A. hybridus*). Las parcelas grandes fueron las cepas empleadas, mientras que las subparcelas fueron las especies.

Para el crecimiento *in vitro* se utilizó un diseño experimental completamente al azar donde los parámetros de desarrollo de las plántulas (Longitud de raíz principal, raíces secundarias, peso de parte aérea y peso de raíz) se analizaron

mediante un análisis de varianza (ANOVA) con una prueba de Tukey como *Post hoc*, con nivel de significancia de $P < 0.05$.

3.3.3 Pruebas de germinación

Con el propósito de cuantificar la capacidad de germinación de las semillas de *V. farnesiana*, *P. laevigata* y *A. hybridus*, se llevó a cabo un ensayo de germinación. Para esta prueba se colocaron 4 repeticiones de 15 semillas sembradas en macetas con sustrato estéril conformado por peatmoss (2:4), vermiculita (1:4) y perlita (1:4). Se consideró semilla germinada cuando la plántula emergida alcanzó un centímetro de alto (Camacho, 1993). El porcentaje de semillas viables se determinó en función de las semillas germinadas, como se indica en la siguiente ecuación:

$$PV = (SG/TS) \times 100$$

Donde

PV= Porcentaje de viabilidad

SG = Número de semillas germinadas

TS = Total de semillas empleadas

3.3.4 Capacidad de la PGPRs para promover crecimiento

La colecta de las semillas de *V. farnesiana*, *P. laevigata* y *A. hybridus* se realizaron en el municipio de Bermejillo, Durango (25° 53' 12.6" N, 103° 37' 14.5" O). Se trasladaron a un área controlada en el laboratorio de ecología microbiana FCB UJED. Las semillas de *A. hybridus* se desinfectaron dentro de un tubo eppendorf con hipoclorito de sodio al 20 %, agitándose durante 5 minutos en el vortex, posteriormente se enjuagaron con agua destilada estéril cuatro veces, posteriormente las semillas se pusieron en vernalización para eliminar la latencia a 4°C durante 48 horas. Las semillas de *V. farnesiana* y *P. laevigata* se desinfectaron y escarificaron en agua hirviendo durante 10 minutos (Martínez,

1994) y se dejaron remojando durante 24 horas para emblandecer la testa y eliminar la latencia. Las semillas se colocaron en una cámara bioclimática con fotoperiodos de 16 horas luz y 8 de oscuridad a 25°C en charolas de germinación, las cuales se llenaron con un sustrato elaborado con una mezcla de turba (peat moss) (2:4), vermiculita (1:4) y perlita (1:4) previamente esterilizadas.

Se empleó un diseño experimental de bloques al azar con arreglo en parcelas divididas y cuatro repeticiones. Los factores variables fueron las cepas de PGPR (ASMR4, ASMS4 y ZN1S2) y las especies vegetales (*V. farnesiana*, *P. laevigata* y *A. hybridus*). Las parcelas grandes fueron las cepas empleadas, mientras que las subparcelas fueron las especies. Una vez sembradas las semillas en las charolas, éstas se colocaron en una cámara bioclimática con fotoperiodos de 16 horas luz y 8 de oscuridad a 25°C.

Para realizar las inoculaciones de las rizóbacterias en *V. farnesiana*, *P. laevigata* y *A. hybridus* se procedió a ajustar el número de bacterias que se usaron de la siguiente manera: las cepas bacterianas se seleccionaron del cepario y se pusieron en crecimiento en medio sólido Luria Bertini (LB). Las cajas se incubaron de 24 a 48 horas a 30 °C. Posteriormente las bacterias se pusieron en crecimiento en medio líquido (LB) por 16 horas a 30 °C en agitación constante (200 rpm). Se tomó un mililitro del crecimiento bacteriano y se pasaron a un tubo Eppendorf, enseguida se centrifugaron a 6,000 rpm por cinco minutos, se retiró el sobrenadante, se agregó un mililitro de PBS al 0.5 %, se mezcló por medio del vortex hasta disolver la pastilla bacteriana, se volvió a centrifugar, se enjuagó cuatro veces para obtener colonias limpias (libres de medio de cultivo); después del lavado de las cepas se adicionó un mililitro de PBS (0.5 %), se realizaron diluciones seriadas hasta 10⁻³, y se llevaron a cabo el recuento de las células bacterianas en microscopio, utilizando una cámara Neubauer. Posteriormente se realizó el ajuste de la concentración de la suspensión bacteriana a 1x10⁸ UFC/ml.

Cada semilla de los distintos tratamientos se inoculó con una suspensión bacteriana de 1ml respectivamente a una concentración de 1x10⁸ UFC al momento de la siembra, en el momento de la germinación y cuando apareció la

primer hoja verdadera utilizando cada una de las rizóbacterias según corresponda al tratamiento (ASMR4, ASMS4 y ZN1S2). Se regó diariamente con agua destilada y se tomó la altura de cada planta. A los 40 días de la germinación se tomaron los siguientes datos; longitud de la raíz, número de raíces secundaria y peso fresco.

3.3.5 Crecimiento in vitro de *V. farnesiana*, *P. laevigata* y *A. hybridus* con PGPRs en un medio con As y Zn

Para este experimento se utilizó un diseño experimental completamente al azar donde los parámetros de desarrollo de las plántulas (longitud de raíz principal, raíces secundarias, altura y peso total) se analizaron mediante un análisis de varianza (ANOVA) con una prueba de Tukey como Post hoc, con nivel de significancia de $P < 0.05$. Los análisis se llevaron a cabo utilizando el software Graph Pad Prism 6.

Se trabajó *in vitro* con semillas de *V. farnesiana*, *P. laevigata* y *A. hybridus* las cuales fueron lavadas con cloro al 20 % durante 5 minutos para su desinfección, posteriormente se enjuagaron con agua destilada estéril cuatro veces. Las semillas se pusieron en vernalización a 4 °C durante 48 horas. Posteriormente las semillas se colocaron individualmente en tubos falcon de 15 ml con medio Murashige y Skoog (MS) semisolido enriquecido con 50 ppm de As y Zn, se pusieron en una cámara bioclimática con un fotoperiodo de 16 horas luz y 8 de oscuridad a 25 °C. Para el ensayo se realizaron 5 repeticiones por especie vegetal para cada bacteria y las combinaciones entre ellas. Las cepas bacterianas utilizadas para el ensayo son ASMS4, ASMR4 y ZN1S2.

La inoculación de las semillas se realizó con 20 µL de una suspensión bacteriana de 1×10^8 UFC. Una vez inoculadas en las condiciones antes mencionadas se dejaron 10 días hasta observar el desarrollo de raíces y hojas en plántulas (10 días en incubación). Los parámetros que fueron evaluados en cada plántula son: peso fresco total de las plántulas, longitud de raíz y número de raíces secundarias.

3.4 RESULTADOS Y DISCUSIÓN

3.4.1 Porcentaje de germinación de semillas

Para evaluar la calidad de una colección de semillas de manera confiable, se recomienda realizar un ensayo de germinación utilizando una muestra representativa de las semillas. Los resultados obtenidos en este ensayo permiten determinar la viabilidad del lote de semillas, así como la máxima germinación que se puede esperar (Flolliott y Thames, 1983).

Las semillas de *P. laevigata* tuvieron el mayor porcentaje de germinación con 83%, seguida por las semillas de *V. farnesiana* con 80% y *A. hybridus* con 70%. En la naturaleza, el proceso de germinación de las semillas de *P. laevigata* y *V. farnesiana*, dos especies de leguminosas, suele enfrentar dificultades debido a la presencia de una cubierta dura e impermeable que impide la penetración del agua. Esta característica dificulta la absorción de agua y, por lo tanto, inhibe la germinación efectiva de las semillas. Con el objetivo de superar esta latencia y mejorar la eficiencia de germinación se empleó agua hervida para el ablandamiento de la testa. Diversos investigadores como González y colaboradores (2005) sugieren emplear estos tratamientos pregerminativos. Este tratamiento está diseñado para romper la cubierta dura de las semillas y así facilitar el proceso de germinación.

Los resultados obtenidos por Rodríguez (1996) reportan un porcentaje de germinación del 97% para las semillas de mezquite y un 68% para las semillas de huizache. Estos valores indican que las semillas de mezquite tienen una alta capacidad de germinación, mientras que las semillas de huizache presentan un porcentaje ligeramente inferior. Es importante tener en cuenta que los porcentajes de germinación pueden variar dependiendo de varios factores, como las condiciones ambientales, el estado de las semillas y las características genéticas de las plantas. Por lo tanto, es posible que se observen diferencias en los resultados entre estudios realizados en diferentes lugares y en diferentes momentos.

Las semillas de *A. hybridus* en este ensayo se colocaron superficialmente en el sustrato, esto concuerda con las observaciones de Valdez et al. (2015), quienes encontraron que *A. hybridus* tiene una mayor capacidad de germinación cuando las semillas se encuentran a una menor profundidad del suelo (entre 10 y 30 mm). Esta observación sugiere que la disponibilidad de humedad y oxígeno, así como la escasa presencia de luz, son condiciones favorables para la germinación exitosa de *A. hybridus*. Estos factores son consistentes con la información proporcionada por Baskin (2014) quien también destaca la importancia de la humedad, el oxígeno y la oscuridad en el proceso de germinación. Sin embargo, los estudios señalan que, a mayores profundidades del suelo, a pesar de que la oscuridad y la humedad siguen presentes, pueden existir otros factores limitantes para la emergencia de las plántulas de *A. hybridus*. Estos factores podrían incluir la concentración de oxígeno y la presencia de luz.

3.4.2 Crecimiento de plántulas inoculadas PGPRs

Uno de los aspectos clave en el estudio fue la altura de las plántulas, ya que es un indicador importante del crecimiento y desarrollo de las plantas. El análisis de ANOVA indicó que la cepa rizobacteriana que superó en altura al control sin inocular fue ASMS4 para el caso de *V. farnesiana* (Figura 1). En *P. laevigata* y *A. hybridus* no hubo diferencia significativa. Un mayor crecimiento en altura puede ser indicativo de un desarrollo estructural más fuerte, lo que a su vez puede mejorar la capacidad de las plantas para competir por la luz solar y aumentar su capacidad fotosintética tal y como lo describen Domínguez et al (2012). Estos autores en un trabajo similar investigaron los efectos de la inoculación de *Azospirillum brasilense* CECT 590 en plántulas de *Prosopis juliflora*. El análisis reveló que la inoculación con la rizobacteria *A. brasilense* CECT 590 tuvo un

impacto significativo en el crecimiento en altura de las plántulas de esa especie vegetal.

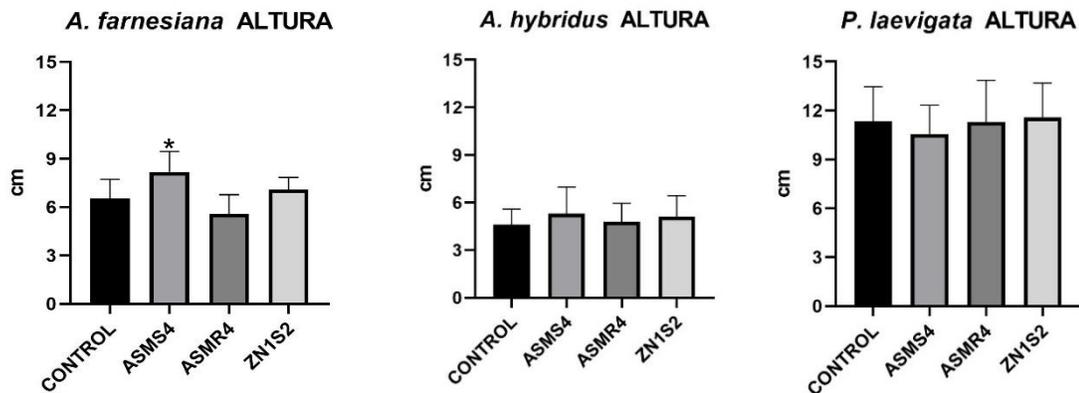


Figura 1. Efecto de las rizóbacterias sobre la altura de *P. laevigata*, *V. farnesiana* y *A. hybridus* después de 40 días de la inoculación. Los asteriscos indican diferencias significativas entre plántulas inoculadas y el control sin inocular. Las barras acotadas representan la desviación estándar de la media de 4 plántulas para cada tratamiento.

Uno de los resultados más importantes obtenidos en las confrontaciones fue el incremento en la promoción del crecimiento de raíces secundarias ya que su desarrollo es fundamental para la salud y nutrición de la planta, en este análisis se encontró que en mezquite las cepas rizóbacterianas ASMS4 y ASMR4 superan el número de raíces secundarias en comparación con el tratamiento control; en quelite la cepa ASMR4 indujo un mayor número de raíces secundarias, esto parece indicar que se comporta mejor en especies anuales con pocos requerimientos nutricionales. Mientras que en huizache fue la cepa ZN1S2 la que promovió un número significativamente mayor de raíces (Figura 2). Las bacterias se comportan diferente entre especies, debido a fisiología y las necesidades nutricionales específicas de cada una. En el trabajo de Domínguez se observó que la inoculación con *A. brasilense* CECT 590 también aumentó el potencial de crecimiento de las raíces. Esto indica una influencia positiva en el desarrollo del sistema radicular, lo cual es fundamental para la captación de agua y nutrientes del suelo.

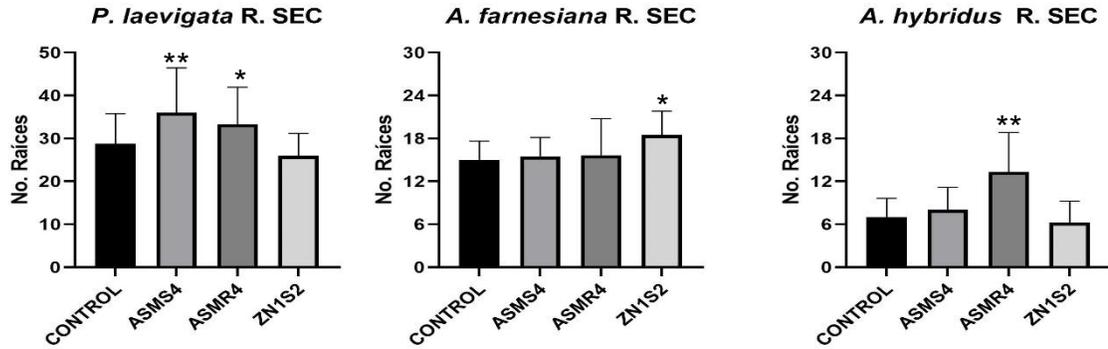


Figura 2. Efecto de las rizóbacterias sobre las raíces secundarias de *P. laevigata*, *A. farnesiana* y *A. hybridus* 40 días después de la inoculación. Los asteriscos indican diferencias significativas entre plántulas inoculadas y el control sin inocular. Las barras acotadas representan la desviación estándar de la media de 4 plántulas para cada tratamiento.

El análisis de ANOVA indicó que las solo una rizóbacteria superó en longitud de raíz principal respecto al control sin inocular, esta fue ASMR4 en mezquite. Las raíces de las plantas no inoculadas fueron similares en comparación con las plantas inoculadas con PGPR (figura 3). En ocasiones no hay un efecto significativo en la promoción del crecimiento la longitud de la raíz principal, debido a que se desarrollan mayor número de raíces secundarias (Marulanda et al., 2006).

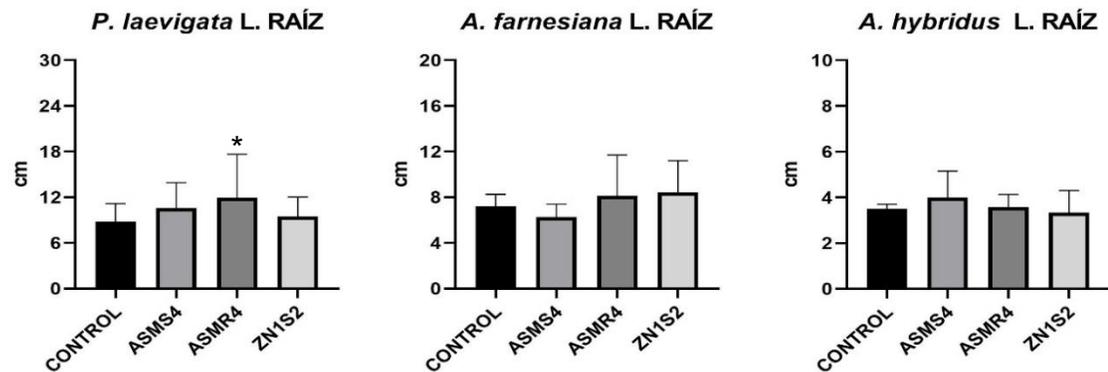


Figura 3. Efecto de las rizóbacterias sobre la longitud de raíz principal de *P. laevigata*, *A. farnesiana* y *A. hybridus* 40 días después de la inoculación. Los asteriscos indican diferencias significativas entre plántulas inoculadas y el control sin inocular. Las barras acotadas representan la desviación estándar de la media de 4 plántulas para cada tratamiento.

El peso fresco total de la planta fue otra de las variantes que se tomaron en cuenta en este proyecto, teniendo como resultados de las confrontaciones que 2 de las 3 rizóbacterias ensayadas tuvieron una mayor capacidad de incrementar

el peso fresco de las plántulas de *A. hybridus* (Figura 4). El quelite al ser una especie herbácea anual de rápido crecimiento, tiene una mayor acumulación de biomasa en un periodo corto, en comparación con las especies vegetales perennes como lo son *P. laevigata*, *V. farnesiana*. El efecto de la inoculación de rizóbacterias promotoras de crecimiento vegetal (PGPR) en el incremento de la biomasa de las plantas es un tema ampliamente estudiado en la investigación científica. Estos resultados están en concordancia con lo mencionado por Llorente y colaboradores (2016), quienes señalaron que el aumento de la biomasa vegetal en toda la planta es un efecto común de las rizóbacterias promotoras del crecimiento vegetal.

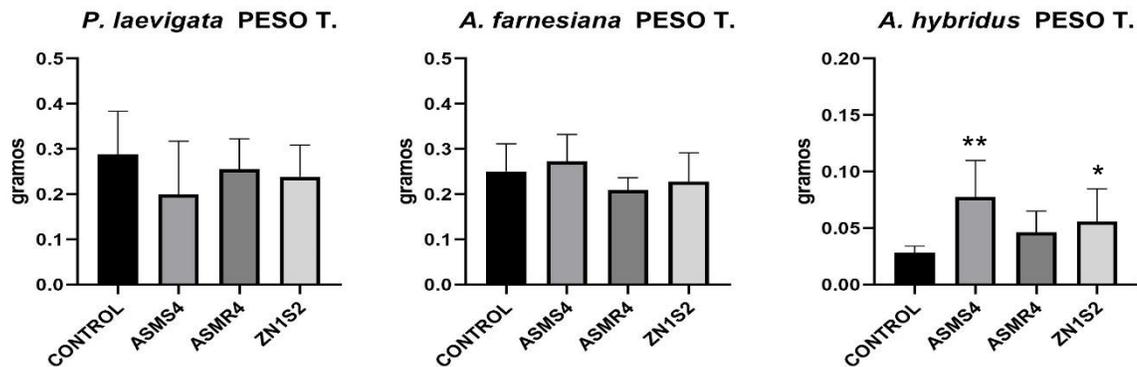


Figura 4. Efecto de las rizóbacterias sobre peso fresco de *P. laevigata*, *A. farnesiana* y *A. hybridus* 30 días después de la inoculación. Los asteriscos indican diferencias significativas entre plántulas inoculadas y el control sin inocular. Las barras acotadas representan la desviación estándar de la media de 4 plántulas para cada tratamiento.

3.4.4 Crecimiento *in vitro* de *V. farnesiana*, *P. laevigata* y *A. hybridus* con PGPRs

La altura de las plántulas como parámetro es un indicador importante del crecimiento y desarrollo de las plantas. El análisis de ANOVA indicó que las cepas rizobacterianas que superaron en altura al control sin inocular fueron ASMR4 y ASMS4 para *P. laevigata*. Para el caso de *V. farnesiana* ASMS4, ASMR4 y ZN1S2 tuvieron un efecto significativo en el desarrollo de altura. En *A. hybridus* no hubo diferencia entre los tratamientos y el control (Figura 5). El crecimiento inicial de mezquite y huizache fue exponencial comparado con el quelite, el quelite fue más

susceptible a los metales pesados en el desarrollo de altura. Comparado en el experimento anterior, para este hubo mejor respuesta de en la promoción del crecimiento de las rizóbacterias a pesar de que el medio estaba enriquecido con As y Zn. Es muy probable que las bacterias sean más susceptibles de desarrollarse mejor en este sustrato.

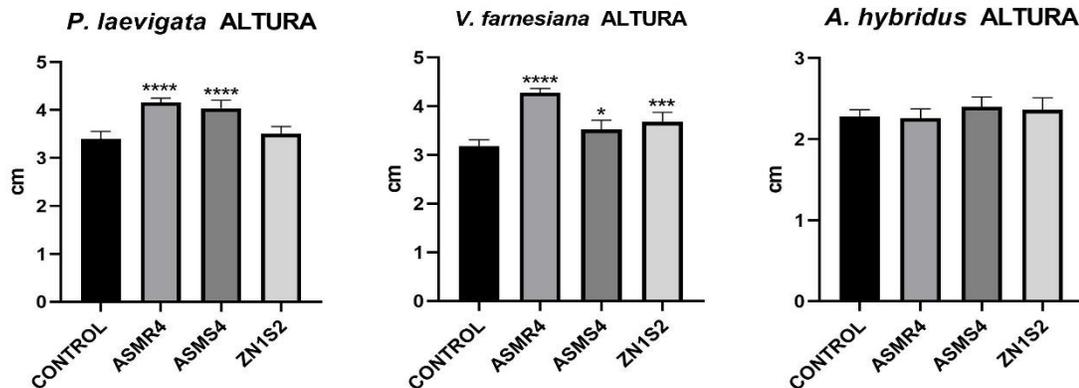


Figura 5. Efecto de las rizóbacterias sobre la altura de *P. laevigata*, *A. farnesiana* y *A. hybridus* 10 días después de la inoculación in vitro enriquecido con As y Zn. Los asteriscos indican diferencias significativas entre plántulas inoculadas y el control sin inocular. Las barras acotadas representan la desviación estándar de la media de 5 plántulas para cada tratamiento.

Se observó un incremento en la promoción del crecimiento de raíces secundarias de *P. laevigata* y *V. farnesiana* con las cepas ASMS4, ASMR4 y ZN1S2. Estas plantas superan el número de raíces secundarias en comparación con el tratamiento control (Figura 6). esto demuestra que las rizóbacterias trabajan de manera diferente dependiendo de la especie vegetal. en plantas perennes lograron tener mayor promoción en el desarrollo de raíces secundarias, en la especie anual *A.hybridus* no hubo diferencia significativa entre los tratamientos y el control. De acuerdo con Vacheron et al. (2013), las PGPR pueden inducir una reducción en el crecimiento de la raíz principal y favorecer el crecimiento y desarrollo de las raíces secundarias y pelos radicales. Esto puede llevar a una disminución en la longitud de la raíz principal, pero a su vez, se produce un aumento en la ramificación de las raíces secundarias, lo que contribuye al incremento total de la biomasa.

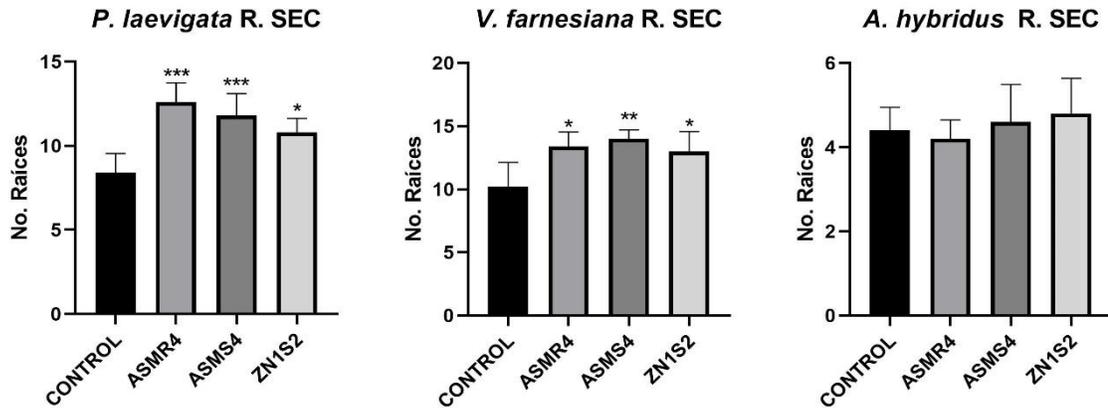


Figura 6. Efecto de las rizóbacterias sobre las raíces secundarias de *P. laevigata*, *A. farnesiana* y *A. hybridus* 10 días después de la inoculación *in vitro*. Los asteriscos indican diferencias significativas entre plántulas inoculadas y el control sin inocular. Las barras acotadas representan la desviación estándar de la media de 5 plántulas para cada tratamiento.

El análisis de estadístico mostró que hubo diferencia significativa en *P. laevigata* y *V. farnesiana* con las cepas ASMS4, ASMR4 y ZN1S2 respecto al control sin inocular (Figura 7). Esto puede explicarse por el efecto de las PGPR en la modificación de la estructura de la raíz. En un estudio *in vitro* similar realizado por Delgado (2020) determinó el efecto de las PGPR aisladas de *Solanum hindsianum* en la promoción del crecimiento de plantas de tomate. Los resultados mostraron que las plantas inoculadas con los seis aislados bacterianos experimentaron un incremento en la longitud de raíz principal de las plantas. El incremento en la longitud radicular observado en este estudio sugiere que los aislados bacterianos utilizados aumentan el crecimiento general de las plantas de tomate en el entorno *in vitro*.

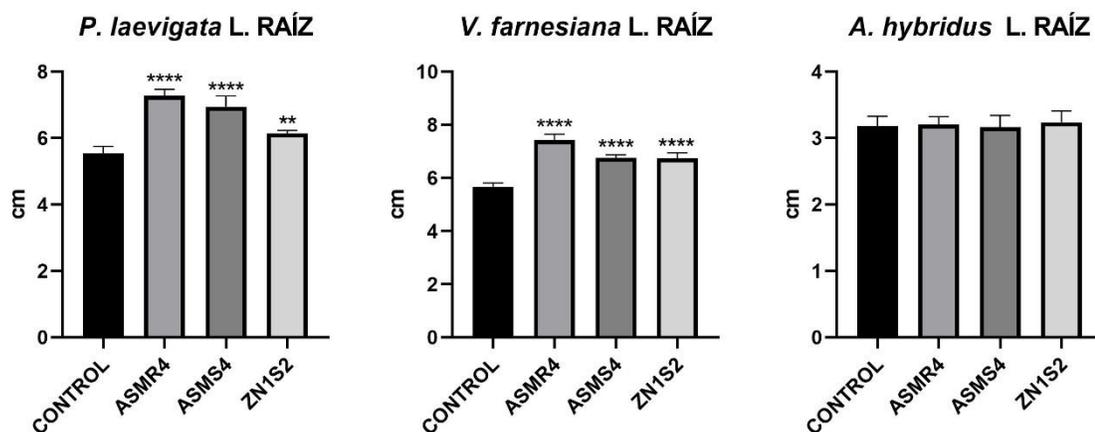


Figura 7. Efecto de las rizóbacterias sobre la longitud de la raíz principal de *P. laevigata*, *A. farnesiana* y *A. hybridus* 10 días después de la inoculación in vitro. Los asteriscos indican diferencias significativas entre plántulas inoculadas y el control sin inocular. Las barras acotadas representan la desviación estándar de la media de 5 plántulas para cada tratamiento.

Otra variante en el análisis estadístico fue el peso fresco total de la planta, al menos 2 de las 3 rizóbacterias ensayadas tuvieron la capacidad de incrementar el peso fresco de las plántulas de *P. laevigata* (Figura 8). Al desarrollar mayor longitud de raíz y más cantidad de raíces secundarias esto se traduce en mayor biomasa. En el peso fresco de *A. hybridus* entre los tratamientos y el control no hubo diferencia significativa, esto concuerda con el desarrollo de raíces secundarias y longitud de raíz principal donde tampoco la hubo. En 2013 Criollo et al. realizaron una investigación para evaluar PGPR en *Pennisetum clandestinum*. Se identificaron dos cepas de bacterias, 4K y 5B, como *Stenotrophomona ssp.* y *Pseudomona ssp.*, respectivamente. Estas cepas se caracterizaron por su eficiencia in vitro. Las bacterias demostraron promover el crecimiento vegetal en *Pennisetum clandestinum* a los 100 y 130 días de muestreo. En comparación con el grupo de control, se observó un incremento significativo en el peso fresco y seco de las plantas. Estos resultados demuestran que la inoculación de PGPR representa una alternativa biotecnológica prometedora para mejorar el desarrollo de las plantas.

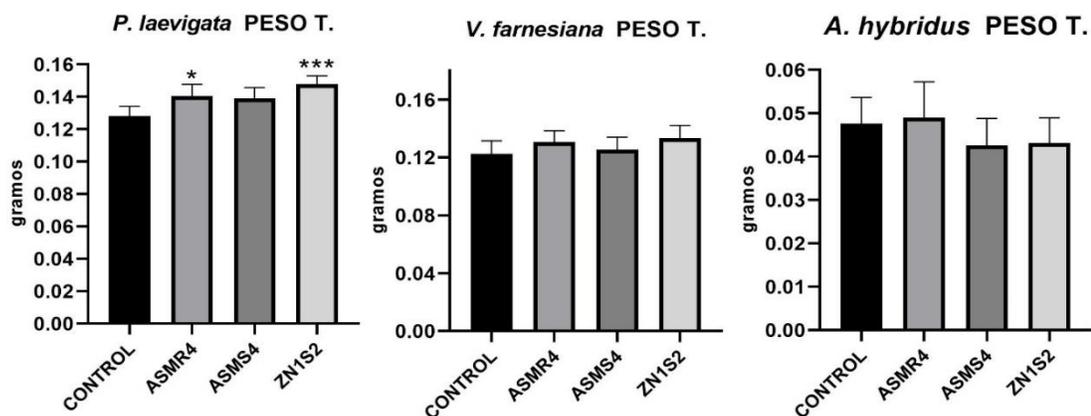


Figura 8. Efecto de las rizóbacterias sobre el peso total de *P. laevigata*, *A. farnesiana* y *A. hybridus* 10 días después de la inoculación *in vitro*. Los asteriscos indican diferencias significativas entre plántulas inoculadas y el control sin inocular. Las barras representan la media de 5 plántulas para cada tratamiento con su respectiva barra de desviación estándar.

3.5 CONCLUSIONES

Las semillas de *P. laevigata* tuvieron el mayor porcentaje de germinación con 83%, seguida por las semillas de *V. farnesiana* con 80% y *A. hybridus* con 70%.

Los resultados obtenidos en el ensayo de las charolas de germinación nos indican que las cepas rizóbacterianas en se comportan diferente para cada especie vegetal. ASMR4 y ASMS4 mostraron mayor promoción de crecimiento en *P. laevigata* y *V. farnesiana*. Mientras que ZN1S2 promovió mayor desarrollo de raíces secundarias en *A. hybridus* y *V. farnesiana*. La eficacia de las cepas rizóbacterianas se demostró en los distintos parámetros evaluados.

La inoculación *in vitro* individual de las plantas con las cepas rizóbacterianas aumentó la altura, la longitud de la raíz, las raíces secundarias y la biomasa de las plantas respecto al control. Es importante destacar que los estudios *in vitro* ofrecen una perspectiva inicial y controlada de los efectos de las PGPR en las plantas. Para validar plenamente estos resultados y comprender su aplicabilidad en condiciones de campo, se requieren estudios adicionales que consideren una variedad de factores ambientales como el sustrato en el que se desarrollan.

Según los resultados aquí encontrados se acepta la hipótesis.

LITERATURA CITADA

- Ál Cassán, F., Maiale, S., Masciarelli, O., Vidal, A., Luna, V., and Ruiz, O. (2009). Cadaverine production by *Azospirillum brasilense* and its possible role in plant growth promotion and osmotic stress mitigation. *Eur. J. Soil Biol.* 45, 12–19. doi: 10.1016/j.ejsobi.2008.08.003
- Baskin, C.C.; Baskin, J.M. 2014. *Seeds: Ecology, Biogeography, and Evolution of Dormancy and Germination*. Second ed. Academic Press (San Diego). 169p.
- Delgado Ramírez, C.S. 2020. Aislamiento y caracterización de bacterias promotoras de crecimiento vegetal de la rizósfera de *Solanum hindsianum*. Tesis de Maestría en Ciencias. Centro de Investigación Científica y de Educación Superior de Ensenada, Baja California. 66 pp
- Flolliott, P., Thames, J. (1983). *Recolección, manipuleo, almacenaje y pre-tratamiento de las semillas de prosopis en América Latina*. Roma, Italia: FAO.
- González M., F. (2012). *Las zonas áridas y semiáridas de México y su vegetación*. Secretaría de Medio Ambiente y Recursos Naturales (Semarnat) e Instituto Nacional de Ecología (INE). Tlalpan, D. F., México. 173 p.
- González Cervantes, G., Rivas Medina, G., Sánchez Cohen, I., Valencia Castro, C. M., & Villanueva Díaz, J. (2005). *Morfología y escarificación de la semilla de mezquite, huizache y ahuehuete*. Técnica Pecuaria en México.
- Llorente, B. E., Alasia, M. A., and Larraburu, E. E. (2016). Biofertilization with *Azospirillum brasilense* improves in vitro culture of *Handroanthus ochraceus*, a forestry, ornamental and medicinal plant. *N. Biotechnol.* 33, 32–40. doi: 10.1016/j.nbt.2015.07.006
- Montaño, N. M., Ayala, F., Bullock, S. H., Briones, O., García-Oliva, F., García-Sánchez, R., Maya, Y., Perroni, Y., Siebe, C., Tapia-Torres, Y., Troyo, E., & Yopez, E. (2016). Almacenes y flujos de carbono en ecosistemas áridos y semiáridos de México: Síntesis y perspectivas. *Terra Latinoamericana*, 34, 39-59.
- Niu, X., Song, L., Xiao, Y., & Ge, W. (2017). Drought-tolerant plant growth-promoting rhizobacteria associated with Foxtail millet in a semi-arid agroecosystem and their potential in alleviating drought stress. *Frontiers in Microbiology*, 8, 2580. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2017.02580>
- Domínguez Núñez, J. A., Muñoz, D., Planelles, R., Grau, J. M., Artero, F., Anriquez, A., & Albanesi, A. (2012). Inoculation with *Azospirillum brasilense* enhances the quality of mesquite *Prosopis juliflora* seedlings. *Forest Systems*, 21(3), 364. <https://doi.org/10.5424/fs/2012213-02135>

- Paz P., F. y H. Díaz S. (2018). Relaciones entre la precipitación, producción de biomasa e índices espectrales de la vegetación: alcances y limitaciones. *Terra Latinoamericana* 36:153-168. Doi: 10.28940/terra.v36i2.235
- Rzedowski, J. (1978). *Vegetación de México*. Limusa. 432 p.
- UNCCD (1994).. *Elaboración de una Convención Internacional de Lucha contra la Desertificación en los Países Afectados por Sequía Grave o Desertificación, en particular en África. Texto Final de la Convención*. Disponible en: www.unccd.int.
- Vacheron, J., Desbrosses, G., Bouffaud, M.-L., Touraine, B., Moëgne-Loccoz, Y., Muller, D., Legendre, L., Wisniewski-Dyé, F., & Prigent-Combaret, C. (2013). Plant growth-promoting rhizobacteria and root system functioning. *Frontiers in Plant Science*, 4, 356. <https://doi.org/10.3389/fpls.2013.0035>
- Valdez-Eluterio, G., Uscanga-Mortera, E., Kohashi-Shibata, J., García-Nava, R., Martínez-Moreno, D., Torres-García, J., & García-Esteva, A. (2015). Tamaño de semilla, granulometría del sustrato y profundidad de siembra en el vigor de semilla y plántula de dos malezas. *Agrociencia*, 49(8), 899-915.

CAPÍTULO IV

PROMOCIÓN DE LA FITOEXTRACCIÓN DE METALES PESADOS POR PGPRS ASOCIADAS A *Prosopis laevigata* y *Vachellia farnesiana*.

4.1 RESUMEN

En años recientes la minería ha dado lugar a un aumento significativo de metales pesados en el suelo, ocasionando graves daños ambientales. La técnica de remediación biológica o biorremediación, en comparación con los métodos físicos y químicos, presenta ventajas en términos de eficiencia, costo e impacto ambiental para la remediación de suelos contaminados por metales pesados. El objetivo de este trabajo fue evaluar PGPRs aisladas de la rizósfera de *S. elaeagnifolium* en *Vachellia farnesiana* y *Prosopis laevigata* desarrolladas en suelos de jales mineros y determinar la concentración de metales pesados en los tejidos. El diseño experimental fue en parcelas divididas con tres repeticiones en el que las fuentes de variación fueron la especie vegetal (*Vachellia farnesiana* y *Prosopis laevigata*) y las cepas de PGPRs (ASMS4, ASMR4, ZN1S2 y una combinación de las tres cepas). El suelo utilizado para el llenado de macetas resultó tener altas concentraciones de metales en relación al límite permisible en la NOM-147-SEMARNAT/SSA1-2004, así como también el suelo circundante al sitio de donde se extrajo. Las plantas sufrieron estrés al momento del trasplante, esto ocasionó poco desarrollo de altura lo que se traduce en escasa acumulación de biomasa. El tejido que presentó mayor peso fresco fue el tallo para ambas especies vegetales. Para el análisis químico de los tejidos vegetales encontramos que los macronutrientes tienden a acumularse en mayor cantidad en la parte aérea, mientras que los microelementos y los metales pesados como el As y Pb su concentración es mayor en raíces. *Prosopis laevigata* inoculada con la combinación de cepas rizóbacterianas mostró tener mayor efectividad de translocación de K a la parte aérea. Con ASMR4 se obtuvo mejor resultado en la acumulación de Pb en el tallo en comparación con los otros tratamientos. *V. farnesiana* inoculada con la cepa ZN1S2 obtuvo mejor rendimiento en la acumulación de K en el tallo y la cepa ASMS4 concentró mayor cantidad de As en la parte aérea de las plantas. El presente estudio permite explorar la utilización de plantas de zonas áridas asistidas por PGPR para aumentar la capacidad de fitorremediación en suelos contaminados por metales pesados.

Palabras clave: PGPR, Metales pesados, Suelo, Plantas de zonas áridas.

Tesis de Maestría en Ciencias, Posgrado en Recursos Naturales y Medio Ambiente en Zonas Áridas, Unidad Regional Universitaria de Zonas Áridas.

Autor: Diego Armando Rivera Rodríguez

Director de tesis: Dr. Ricardo Trejo Calzada

4.2 INTRODUCCIÓN

En las últimas décadas, el rápido crecimiento de la industrialización ha dado lugar a un aumento significativo en la presencia de metales pesados en el medio ambiente, generando inquietud en la sociedad a nivel mundial (Ashraf et al., 2019). Los metales pesados son elementos químicos metálicos que se caracterizan por tener densidades relativamente altas. Entre los metales pesados y metaloides más comunes se encuentran el cromo (Cr), mercurio (Hg), arsénico (As), plomo (Pb), cobre (Cu), zinc (Zn), níquel (Ni) y cadmio (Cd). Estos elementos pueden ser de origen natural o resultado de actividades humanas, como la minería (Chen et al., 2016).

Los metales pesados no se pueden degradar a elementos menos tóxicos por medio de procesos biológicos o físicos. Esta propiedad los convierte en contaminantes persistentes en el suelo y pueden permanecer en el ambiente durante un tiempo bastante prolongado. Por lo tanto resulta imprescindible implementar medidas de remediación con el fin de prevenir la entrada de metales pesados en los entornos terrestres, atmosféricos y acuáticos, y mitigar así la contaminación del suelo (Sayqal & Ahmed, 2021).

La remediación ambiental se puede conceptualizar como el conjunto de acciones encaminadas a la eliminación o reducción de los contaminantes presentes en sedimentos, aguas subterráneas, aguas superficiales y suelos. Este proceso tiene como objetivo primordial lograr la restauración del equilibrio y la integridad del ecosistema (Kalita & Baruah, 2020). La remediación de suelos contaminados por metales pesados abarca una amplia gama de enfoques y estrategias, que van desde métodos físicos y químicos hasta procesos biológicos. Aunque los métodos físicos y químicos han demostrado éxito en la remediación ambiental, también presentan ciertas desventajas que deben tenerse en cuenta. Estas desventajas incluyen baja eficiencia, altos costos y generación de lodos tóxicos (Chi y Gao, 2015).

La técnica de remediación biológica o biorremediación, en comparación con los métodos físicos y químicos, presenta diversas ventajas en términos de eficiencia, costo, impacto ambiental y facilidad de implementación. Este enfoque de remediación ambiental utiliza microorganismos, plantas u otros organismos vivos para degradar, transformar o inmovilizar los contaminantes presentes en el medio ambiente. Sin embargo, es importante tener en cuenta que la biorremediación puede ser un proceso relativamente lento porque depende de diversos factores, como la disponibilidad de nutrientes, la temperatura y el pH del medio ambiente, así como las características de los microorganismos o plantas utilizados. En algunos casos, puede requerir más tiempo en comparación con los métodos convencionales (Sayqal & Ahmed, 2021).

Los metales pesados son de naturaleza tóxica y persistente, por lo tanto, es crucial implementar medidas adecuadas de remediación para reducir la exposición y los riesgos asociados con los metales pesados, además de evitar la incorporación de metales pesados en la red trófica. Durante las últimas décadas, se ha logrado utilizar de manera exitosa las PGPRs para aumentar la capacidad de las plantas de resistir tanto el estrés abiótico como lo son los metales pesados. Asimismo, se ha fortalecido su habilidad para llevar a cabo la fitorremediación (Bhanse et al., 2022). Sin embargo, son escasos los estudios de PGPRs con plantas de zonas áridas para la remediación de suelos contaminados con metales pesados. Esto implica la implementación de prácticas biotecnológicas más rentables y sustentables. En este trabajo se evaluó la capacidad de fitoextracción de metales pesados por *P. laevigata* y *V. farnesiana* con PGPRs.

4.3 MATERIALES Y MÉTODOS

4.3.1 Ubicación del área de estudio

El experimento se llevó a cabo en el invernadero de la Unidad Regional Universitaria de Zonas Áridas de la Universidad Autónoma Chapingo, en Bermejillo, Durango, México, ubicado en las coordenadas geográficas 25°53' 46" N, 103° 36' 03" E, con una altitud de 1116 msnm.

4.3.2 Procedencia del material vegetal, sustrato y PGPRs

Se utilizaron plantas de *P. laevigata* y *V. farnesiana* un año con la finalidad de asegurar su supervivencia durante el trasplante al sustrato contaminado por metales pesados

El suelo empleado como sustrato fue tomado de las presas de jales de mina ubicadas en la localidad de Peñoles, este pueblo está situado en el Municipio de San Pedro del Gallo (en el Estado de Durango) cuyas coordenadas son las siguientes: 25°39' 13" N, 104° 32' 33" E (Figura 9).

Las rizobacterias promotoras del crecimiento vegetal (PGPR) utilizadas en este experimento fueron las cepas: ASMS4, ASMR4 y ZN1S2, pertenecientes a la colección microbiana del Laboratorio de Ecología Microbiana de la Facultad de Ciencias Biológicas de la Universidad Juárez del Estado de Durango, Gómez Palacio, Durango, México.



Figura 9. Área de muestreo. Sitio de muestreo en la mina Peñoles, San Pedro del Gallo, Durango.

4.3.3 Diseño experimental

El experimento se condujo con un diseño de parcelas divididas con tres repeticiones en el que las fuentes de variación fueron la especie vegetal (*Vachellia farnesiana* y *Prosopis laevigata*) y las cepas de PGPRs (ASMS4, ASMR4, ZN1S2 y una combinación de las tres cepas).

La unidad experimental estuvo constituida por una maceta con una planta. En las macetas se colocaron 2 kg de suelo obtenido de jales de la mina Jesús María ubicada en Peñoles, Durango. El experimento se estableció en condiciones invernadero de julio a septiembre de 2022.

4.3.4. Establecimiento del experimento y conducción experimental

Para la preparación de cada una de las unidades experimentales (UE), 2 kg de suelo con jal de mina previamente analizada fueron colocados en cada maceta.

Inmediatamente después, se procedió a realizar el trasplante de *Vachellia farnesiana* y *Prosopis laevigata* para su posterior inoculación.

Para la preparación de los inóculos bacterianos, las tres cepas fueron inoculadas individualmente en medio líquido Luria Bertani (LB) y colocadas en una incubadora durante 24 h a 30 °C, con agitación de 200 rpm. Las concentraciones bacterianas se ajustaron a 1×10^9 UFC mL⁻¹. 10 ml.

La inoculación se hizo en el momento del trasplante y 15 días después con 10 ml de suspensión bacteriana a una concentración de 1×10^9 UFC mL⁻¹. Después de 3 meses se tomó el peso seco de la raíz y parte aérea. Asimismo, se cuantificó la concentración de metales pesados (plomo, arsénico, zinc y cobre) en raíz y parte aérea mediante espectrofotometría de absorción atómica.

El muestreo de suelo se realizó de acuerdo con la metodología descrita en la NMX-AA-132-SCFI-2006 por medio de cuatro muestras compuestas. Se almacenaron en bolsas con cerrado hermético y se transportaron para su análisis físico químico al Laboratorio de Suelo, Agua, Planta de la URUZA Chapingo en Bermejillo, Durango. Además, se tomó una muestra de la mezcla homogénea del suelo utilizado para el llenado de macetas. La cuantificación de los metales pesados en suelo por medio de un espectrofotómetro de absorción atómica *FAAS Perkin Elmer AAnalyst 700*.

4.3.5 Análisis fisicoquímico de las muestras de suelo

La digestión de muestras compuestas de suelo y el sustrato de las macetas se llevaron a cabo el procedimiento establecido en la Norma Oficial Mexicana NOM-021-RECNAT-2000: Se preparó una solución de DTPA 0.005 M. Para preparar un litro, se disolvieron 14.9 g de trietanolamina (TEA), 1.97 g de reactivo DTPA y 1.47 g de CaCl₂ 2H₂O en aproximadamente 300 ml de agua desionizada, se agitó hasta disolver los reactivos, se llevó a un volumen de 900 ml y ajustó el pH a 7.3 con ácido clorhídrico. Finalmente completar a un volumen de un litro con agua.

Muestras de 1g de suelo previamente tamizado y secado a 105°C se colocaron en matraces Erlenmeyer y se agregaron 20 ml de DTPA. Los frascos se taparon con papel Parafilm asegurándolo con una liga. La mezcla en los frascos se agitó horizontalmente a 120 oscilaciones por minuto durante dos horas. Terminado el agitado separó la solución del suelo, mediante un filtrado con papel Whatman No. 42. Para el análisis se utilizó un blanco sin suelo. Los extractos obtenidos se emplearon para la determinación de cobre, zinc, cadmio, plomo y arsénico mediante espectrofotometría de absorción atómica en un equipo.

4.3.6 Análisis nutrimental y de metales pesados en tejido vegetal

El análisis de micro, macronutrientes y metales pesados en tejidos vegetales fue realizado por el Laboratorio Nacional de Servicios de Análisis de Agua, Suelo, Planta y Atmósfera del CENID RASPA del INIFAP

4.3.7 Análisis estadístico

La base de datos se procesó con uso del Software Statistical Analysis System (SAS, 2009) versión 9.0 con el cual se realizó una prueba de rango múltiple de medias Tukey ($P \leq 0.05$). La comparación se analizó entre los resultados de las concentraciones de metales pesados en tallo y raíces.

4.4 RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.4.1 Análisis de suelo

Las muestras de suelo resultaron con altas concentraciones de cobre, zinc, plomo, cadmio y arsénico, respecto de lo previsto en la NOM-147-SEMARNAT/SSA1-2004. Esta norma como concentraciones de referencia totales (CRT) un máximo de 22 ppm de concentración de arsénico, 37 ppm de cadmio y 400 ppm de plomo para el uso agrícola. El pH del suelo fue ligeramente ácido con una conductividad eléctrica alta (Cuadro 1) Olaniran y colaboradores en un trabajo realizado en 2013 sobre la biodisponibilidad de los metales pesados en el suelos nos muestran que a niveles de pH ácido, los metales pesados tienden a formar especies iónicas libres, con más protones disponibles para saturar los sitios de unión de metales, por lo tanto, el metal pesado se vuelve más biodisponible, lo que aumenta su toxicidad para los microorganismos y las plantas.

Cuadro 1. Análisis químico de muestra compuesta del sitio.

Muestra	Arsénico (mg kg ⁻¹)	Plomo (mg kg ⁻¹)	Cadmio (mg kg ⁻¹)	Cobre (mg kg ⁻¹)	Zinc (mg kg ⁻¹)	pH	CE (dS m ⁻¹)
P1	176.3	563.8	38.91	20.29	1400.56	5.91	2.4
P2	163.5	452.94	48.27	39.34	1361.94	6.68	2.3
P3	195.8	662.93	39.06	60.35	1193.71	6.3	2.3
P4	198.2	525.02	35.39	45.58	301.75	6.98	2.4
LP							

Para la muestra compuesta se obtuvo los valores medios de los metales pesados más abundantes (expresados en ppm), de pH y conductividad eléctrica (CE).

La muestra del sustrato de las macetas resultó tener en promedio altas concentraciones de plomo, cadmio y arsénico respectivamente (Cuadro 2) en relación con los valores del límite permisible establecidos en la NOM-147-SEMARNAT/SSA1-2004.

Cuadro 2. Análisis químico del sustrato de las unidades experimentales.

Macronutrientes (mg kg ⁻¹)	K 316	Ca 1500	Mg 102	Na 16
Micronutrientes (mg kg ⁻¹)	Cu 54	Fe 40	Zn 1066	Mn 33
HM (mg kg⁻¹)	As 456	Pb 810		
Otros	pH 7.2	CE (dS m⁻¹) 2.8		

Para la muestra del sustrato de las macetas se obtuvo los valores medios de los micronutrientes, macronutrientes, metales pesados (HM) (expresados en ppm), de pH y conductividad eléctrica (CE).

4.4.2 Concentración de micronutrientes en *Vachellia farnesiana* y *Prosopis laevigata*.

El análisis de microelementos nos arrojó que en *Prosopis laevigata* solo hubo diferencia significativa en el contenido de Mn (415.06 mg kg⁻¹) de la raíz con el tratamiento de la combinación de cepas, los otros tratamientos se comportaron similar. En el caso de *Vachellia farnesiana* la acumulación de Zn (546.47 mg kg⁻¹) en raíz fue significativamente mayor en comparación con el resto de los tratamientos (cuadro 3). En general para ambas plantas la acumulación de micronutrientes fue mayor en las raíces que en tallos. En la raíz de *Prosopis laevigata* el Fe fue el elemento mayormente acumulado y el menor fue Cu. Para *Vachellia farnesiana* los resultados del análisis en raíces se comportaron de manera similar. Se observó mayor acumulación de micronutrientes en la parte aérea de la planta, aunque la acumulación de micronutrientes en las plantas puede variar según el tipo de nutriente y la especie de planta en cuestión. Sin embargo, generalmente los micronutrientes tienden a acumularse en mayor cantidad en los tejidos vegetales especializados, como las hojas jóvenes, los brotes y los órganos reproductivos (Hochmuth et al., 2012).

4.4.3 Concentración de macronutrientes en *Vachellia farnesiana* y *Prosopis laevigata*.

El análisis de macroelementos mostró en *Prosopis laevigata* inoculada con la combinación de cepas rizóbacterianas mayor acumulación de K en el tallo (1.6580%), y menor concentración en raíz (0.6856%) en comparación con los otros tratamientos. Esto parece indicar que la combinación de las rizóbacterias inhibe la concentración de K en raíz y la moviliza a los tejidos aéreos. en el contenido de P no hubo diferencia significativa entre los tratamientos, sin embargo, se observa mayor acumulación de este elemento en el tallo en comparación con la raíz. En el caso de *Vachellia farnesiana* la se obtuvo mayor acumulación de K en tallo con la cepa ASMS4 (1.6423%), en raíz la cepa con mejor comportamiento fue ZN1S2 (0.9410%). Para P no hubo diferencia significativa entre los tratamientos. Se observaron concentraciones similares en ambos tejidos (Cuadro 4). El fósforo se encuentra principalmente en las raíces de las plantas, ya que es esencial para el desarrollo de las raíces y la captación de nutrientes. En cambio, el potasio se acumula en todas las partes de la planta, pero se concentra especialmente en los tejidos vegetales que requieren un suministro rápido de energía, como las hojas jóvenes y los tejidos en crecimiento (Hochmuth et al., 2012).

El análisis de metales pesados en *Prosopis laevigata* inoculada ASMR4 mostró diferencia significativa en la acumulación Pb en el tallo (22.543 mg kg⁻¹) en comparación con los otros tratamientos, en As no hubo diferencia significativa para ningún tratamiento. Además, se obtuvo mayor concentración de As y Pb en la raíz en comparación con la parte aérea. *Vachellia farnesiana* presentó mayor acumulación de As en tallo con la cepa ASMS4 (7.473 mg kg⁻¹). Para Pb no hubo diferencia significativa entre los tratamientos (Cuadro 5). Es notable que la combinación de las cepas disminuye la acumulación de Pb para ambas especies vegetales. Los resultados concuerdan con lo descrito Kabata (201) quien menciona que el Pb en las plantas se acumula principalmente en las raíces, mientras que su presencia en las estructuras reproductivas es mínima. Esto implica que las raíces de las plantas son el principal sitio de absorción y

almacenamiento de plomo (Kabata, 2010). Sin embargo, es importante tener en cuenta que la acumulación y distribución de plomo puede variar dependiendo de la especie vegetal. Según el estudio realizado por Burlo et al. en 1999, se encontró que, en las plantas, el arsénico (As) se acumula principalmente en las raíces, representando aproximadamente el 85% del total de As. El resto se distribuye entre los brotes, con un 14%, y los frutos, con solo un 1% de acumulación de As.

Cuadro 3. Efecto de rizóbacterias en el contenido de micronutrientes en tejidos de *P. laevigata* y *V. farnesiana*.

<i>Prosopis laevigata</i>								
Tratamientos	Cu (mg kg ⁻¹)		Fe (mg kg ⁻¹)		Zn (mg kg ⁻¹)		Mn (mg kg ⁻¹)	
	Tallos	Raíz	Tallos	Raíz	Tallos	Raíz	Tallos	Raíz
ASMS4	8.107 Ba	66.590 Aa	149.3 Ba	4825.8 Aa	100.77 Ba	338.27 Aa	55.78 Ba	203.97 Ab
ASMR4	11.200 Ba	67.323 Aa	538.2 Aa	4424.7 Aa	199.47 Aa	376.60 Aa	61.53 Aa	246.27 Aab
ZN1S2	10.430 Ba	60.063 Aa	431.0 Ba	4849.7 Aa	99.78 Ba	353.15 Aa	98.00 Ba	187.81 Ab
COMB	8.590 Ba	66.163 Aa	202.3 Ba	7073.1 Aa	96.29 Ba	357.72 Aa	60.38 Ba	415.06 Aa
CONTROL	5.690 Ba	57.577 Aa	160.2 Ba	4981.3 Aa	57.48 Ba	283.19 Aa	46.30 Ba	156.55A b
<i>Vachellia farnesiana</i>								
Tratamientos	Cu (mg kg ⁻¹)		Fe (mg kg ⁻¹)		Zn (mg kg ⁻¹)		Mn (mg kg ⁻¹)	
	Tallos	Raíz	Tallos	Raíz	Tallos	Raíz	Tallos	Raíz
ASMS4	6.753 Ba	77.68 Aa	219.9 Aa	3458 Aa	59.76 Ba	546.47 Aa	68.80 Aa	159.94 Aa
ASMR4	8.880 Ba	47.96 Aa	296.7 Aa	3209 Aa	62.73 Aa	257.82 Ab	56.07 Aa	89.86 Aa
ZN1S2	7.770 Aa	47.18 Aa	462.6 Aa	1364 Aa	106.84 Aa	250.23 Ab	71.55 Aa	84.41 Aa
COMB	5.787 Ba	79.38 Aa	327.1 Aa	4910 Aa	70.29 Ba	360.05 Aab	59.71 Ba	155.59 Aa
CONTROL	6.333 Ba	61.04 Aa	469.7 Aa	5355 Aa	79.20 Ba	306.85 Aab	66.05 Ba	144.05 Aa

Prueba Tukey ($\alpha=0.5$) Cifras con la misma letra mayúscula dentro de la misma fila según tipo de planta y nutriente son estadísticamente iguales. Cifras con la misma letra minúscula dentro de la misma columna según tipo de planta y nutriente son estadísticamente iguales.

Cuadro 4. Efecto de rizóbacterias en el contenido de macronutrientes en tejidos de *P. laevigata* y *V. farnesiana*.

Tratamientos	<i>P. laevigata</i>				<i>V. farnesiana</i>			
	K (%)		P (%)		K (%)		P (%)	
	Tallos	Raíz	Tallos	Raíz	Tallos	Raíz	Tallos	Raíz
ASMS4	1.5073 Aab	0.8160 Bab	0.1016 Aa	0.2593 Aa	1.6423 Aa	0.8520 Bab	0.1436 Aa	0.1733 Aa
ASMR4	1.2700 Aab	0.8600 Aab	0.1196 Ba	0.1870 Aa	0.9660 Ac	0.6133 Ab	0.1176 Aa	0.1183 Aa
ZN1S2	1.0717 Ab	0.9143 Aa	0.0863 Aa	0.1550 Aa	1.1747 Abc	0.9410 Ba	0.1340 Aa	0.0853 Ba
COMB	1.6580 Aa	0.6856 Bb	0.1213 Ba	0.3776 Aa	1.4060 Aab	0.8120 Bab	0.1563 Aa	0.1170 Aa
CONTROL	1.4733 Aab	0.9463 Aa	0.1223 Aa	0.3400 Aa	1.2673 Aabc	0.7673 Bab	0.1670 Aa	0.2336 Aa

Prueba Tukey ($\alpha=0.5$) Cifras con la misma letra mayúscula dentro de la misma fila según tipo de planta y nutriente son estadísticamente iguales. Cifras con la misma letra minúscula dentro de la misma columna según tipo de planta y nutriente son estadísticamente iguales

Cuadro 5. Efecto de rizóbacterias en el contenido de metales pesados en tejidos de *P. laevigata* y *V. farnesiana*.

Tratamientos	<i>P. laevigata</i>				<i>V. farnesiana</i>			
	As		Pb		As		Pb	
	Tallos	Raíz	Tallos	Raíz	Tallos	Raíz	Tallos	Raíz
ASMS4	3.593 Ba	22.197 Aa	8.300 Aab	130.42 Aa	7.473 Ba	32.603 Aa	20.290 Ba	130.42 Aa
ASMR4	7.793 Aa	23.210 Aa	22.543 Ba	130.27 Aa	4.277 Aab	17.653 Aa	14.580 Ba	91.56 Aa
ZN1S2	5.593 Aa	29.087 Aa	13.207 Bab	146.18 Aa	3.560 Bb	26.260 Aa	11.873 Aa	146.18 Aa
COMB	2.500 Ba	17.140 Aa	3.703 Ab	81.51 Aa	1.853 Bb	25.333 Aa	6.947 Ba	81.51 Aa
CONTROL	1.997 Ba	27.047 Aa	9.660 Bab	166.97 Aa	2.307 Ab	23.673 Aa	8.620 Ba	166.97 Aa

Prueba Tukey ($\alpha=0.5$) Cifras con la misma letra mayúscula dentro de la misma fila según tipo de planta y nutriente son estadísticamente iguales. Cifras con la misma letra minúscula dentro de la misma columna según tipo de planta y nutriente son estadísticamente iguales.

4.4.4 Peso seco *Vachellia farnesiana* y *Prosopis laevigata*.

Al finalizar los experimentos se tomaron los valores del peso seco de tallos y raíces de *Vachellia farnesiana* y *Prosopis laevigata*. no hubo diferencia significativa entre las medias de los tratamientos. Los valores más altos de peso seco fueron en tallo para ambas especies vegetales y en todos los tratamientos (Figura 12 y 13). La ausencia de diferencias significativas pudiera deberse al tiempo relativamente corto de interacción entre las PGPRs y las especies vegetales.

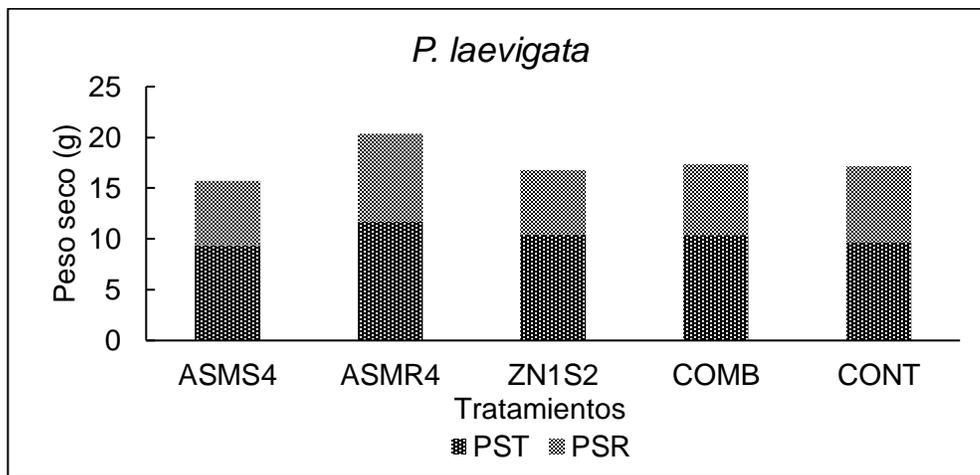


Figura 10. Aporte al peso seco de tejidos vegetales de *Prosopis laevigata* (tallo y raíz).

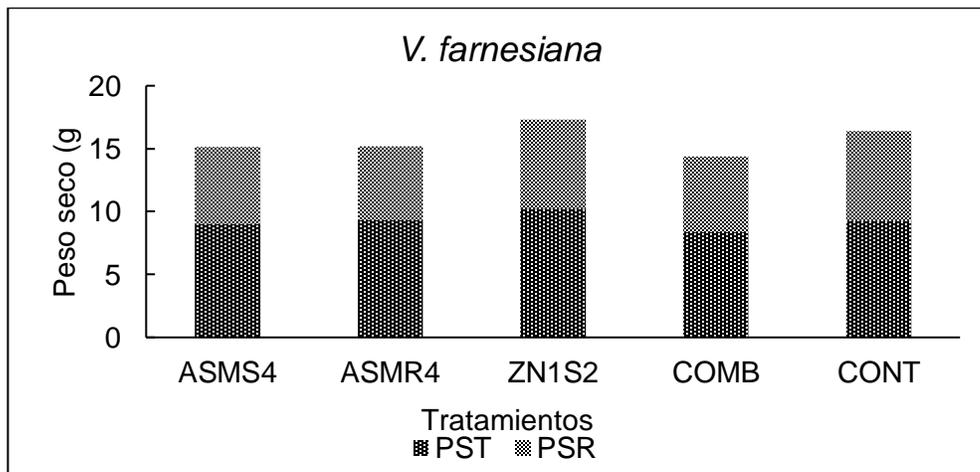


Figura 11. Aporte al peso seco de tejidos vegetales de *Vachellia farnesiana* (tallo y raíz).

4.5 CONCLUSIONES

El suelo utilizado para el llenado de macetas resultó con relativamente altas concentraciones de metales con relación al límite permisible en la NOM-147-SEMARNAT/SSA1-2004. Las plantas de todos los tratamientos presentaron mayor peso seco en el tallo para ambas especies vegetales. Sin embargo, no hubo efecto de las PGPRs sobre esta variable.

Los macronutrientes tendieron a acumularse en mayor cantidad en la parte aérea, mientras que los microelementos y los metales pesados como el As y Pb su concentración fue mayor en raíces.

Prosopis laevigata inoculada con la combinación de cepas rizóbacterianas mostró una mayor translocación de K a la parte aérea. Con ASMR4 se obtuvo mejor resultado en la acumulación de Pb en el tallo en comparación con los otros tratamientos.

V. farnesiana inoculada con la cepa ZN1S2 obtuvo mejor rendimiento en la acumulación de K en el tallo y la cepa ASMS4 concentró mayor cantidad de As en la parte aérea de las plantas.

Aunque los métodos físicos y químicos han demostrado éxito en la remediación de suelos contaminados con metales pesados es de gran importancia seguir explorando técnicas biotecnológicas más rentables y sustentables como lo es la utilización de plantas de zonas áridas asistidas por PGPR para aumentar la capacidad de fitorremediación en suelos contaminados por metales pesados.

LITERATURA CITADA

- Ashraf, S., Ali, Q., Zahir, Z. A., Ashraf, S., and Asghar, H. N. (2019). Phytoremediation: environmentally sustainable way for reclamation of heavy metal polluted soils. *Ecotox. Environ. Safe.* 174, 714–727. doi: 10.1016/j.ecoenv.2019.02.068
- Bhansé, P., Kumar, M., Singh, L., Awasthi, M. K., & Qureshi, A. (2022). Role of plant growth-promoting rhizobacteria in boosting the phytoremediation of stressed soils: Opportunities, challenges, and prospects. *Chemosphere*, 303(Pt 1), 134954. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2022.134954>
- Burlo, F., Guijarro, I., Carbonell-Barrachina, A. A., Valero, D., & Martínez-Sánchez, F. (1999). Arsenic species: effects on and accumulation by tomato plants. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 47(3), 1247–1253. <https://doi.org/10.1021/jf9806560>
- Chen, B., Stein, A. F., Castell, N., Gonzalez-Castanedo, Y., De La Campa, A. S., and De La Rosa, J. (2016). Modeling and evaluation of urban pollution events of atmospheric heavy metals from a large Cu-smelter. *Sci. Total. Environ.* 539, 17–25. doi: 10.1016/j.scitotenv.2015.08.117
- Chi, J., & Gao, J. (2015). Effects of *Potamogeton crispus* L.–bacteria interactions on the removal of phthalate acid esters from surface water. *Chemosphere*, 119, 59–64. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2014.05.058>
- Federación. 2 de marzo de 2007. Suman, J., Uhlik, O., Viktorova, J., and Macek, T. (2018). Phytoextraction of heavy metals: a promising tool for clean-up of polluted environment? *Front Plant Sci.* 9:1476. doi: 10.3389/fpls.2018.0147
- Hochmuth, G. J., Maynard, D., Vavrina, C., Hanlon, E., & Simonne, E. (2012). Plant tissue analysis and interpretation for vegetable crops in Florida: HS964/EP081 rev. 10/2012. EDIS, 2012(10). <https://doi.org/10.32473/edis-ep081-2004>
- Kabata-Pendias, A. (2010). *Trace Elements in Soils and Plants*. CRC Press.
- Kalita, E., & Baruah, J. (2020). Environmental remediation. En *Colloidal Metal Oxide Nanoparticles* (pp. 525–576). Elsevier.
- Olaniran, A. O., Balgobind, A., & Pillay, B. (2013). Bioavailability of heavy metals in soil: impact on microbial biodegradation of organic compounds and possible improvement strategies. *International Journal of Molecular Sciences*, 14(5), 10197–10228. <https://doi.org/10.3390/ijms140510197>
- Sayqal, A., & Ahmed, O. B. (2021). Advances in heavy metal bioremediation: An overview. *Applied Bionics and Biomechanics*, 2021, 1609149. <https://doi.org/10.1155/2021/1609149>
- SEMARNAT (2007). Norma Oficial Mexicana NOM147-SEMARNAT/SSA1-2004. Secretaría de Medio Ambiente y Recursos Naturales. Diario Oficial de la