



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA METROPOLITANA
UNIDAD AZCAPOTZALCO



“Determinación de la capacidad de remoción de cromo hexavalente en suelo usando *Helianthus annuus gigante* y *belleza otoñal*”

**Para obtener el grado de
MAESTRA EN CIENCIAS E INGENIERÍA AMBIENTAL**

Línea de Generación y Aplicación del Conocimiento: Protección y
Control Ambiental

Presenta

I.Q. Ana Lilia Hernández Bobadilla

Asesora

Dra. Marisol Espinoza Castañeda

Ciudad de México

Diciembre, 2024

Resumen

El presente trabajo de investigación propone una técnica de tratamiento para atender la problemática de suelos contaminados con cromo hexavalente (Cr (VI)), el cual provoca daños significativos al medio ambiente, así como al ser humano debido a su alta toxicidad y permanencia. Por lo que, en este trabajo se evaluó un proceso de fitorremediación como alternativa para tratar un suelo contaminado con Cr (VI), debido a diversas ventajas; bajo costo de aplicación, buena eficiencia y que no requiere de personal especializado para realizarlo, ya que puede llevarse a cabo con prácticas agronómicas convencionales.

Por lo que, en este trabajo se evaluó la eficiencia de procesos de fitorremediación aplicados en suelo acondicionado con Cr (VI), haciendo uso de las especies *Helianthus annuus*, en sus variantes de belleza otoñal y gigante, en un periodo de 8 a 10 semanas. Se evaluaron 2 procesos de fitorremediación por especie, donde en uno de ellos tenía la variante de contar con la presencia de *Pseudomonas sp.* en uno de ellos, por adición. Durante los procesos se determinó la concentración de Cr (VI) en las partes subterráneas y aéreas de las plantas utilizadas, en cada uno de los 4 procesos.

Los sistemas de fitorremediación tuvieron una concentración inicial de Cr (VI) de $90.63 \pm 0.018 \text{ mg kg}^{-1}$, para el *H. annuus* belleza otoñal se obtuvo una remoción del 80.17% y un 54.72 % para el *H. annuus* gigante, a las 10 semanas, ambos en ausencia de *Pseudomonas sp.*. En el caso de los sistemas de fitorremediación en presencia de éste microorganismo, se partió de una concentración inicial de $93.15 \pm 0.03 \text{ mg kg}^{-1}$ donde para el caso del *H. annuus* belleza otoñal para la semana 10 se logró remover un 87.12 % de la concentración inicial y un 57.53% de la concentración inicial para el *H. annuus* gigante.

Con lo anterior se demuestra que es más eficiente el *H. annuus* gigante en ausencia de *Pseudomonas sp.*, caso contrario a la especie belleza otoñal donde obtuvo una mayor remoción a las 10 semanas en presencia del microorganismo.

Por lo anterior la propuesta de utilizar la técnica de fitorremediación para suelos contaminados con Cr (VI) es viable, ya que el *H. annuus* demostró una alta eficiencia en la remoción del Cr (VI) presente en el suelo.

Abstract

This research paper proposes a treatment technique to attend the contaminated soils issue with hexavalent chromium (Cr (VI)), which causes significant damage to the environment, as well as to humans due to its high toxicity and permanence. Therefore, in this research a phytoremediation process was evaluated as an alternative to treat a contaminated soil with Cr (VI), due to several advantages; low application cost, good efficiency and that it does not require specialized personnel to carry it out, since it can be carried out with conventional agronomic practices.

Therefore, in this research, the efficiency of phytoremediation processes applied to soil conditioned with Cr (VI) was evaluated, using the species *Helianthus annuus*, in its autumn beauty and giant variants, in a period of 8 to 10 weeks. Two phytoremediation processes were evaluated per species, where one of them had the variant of having the presence of *Pseudomonas sp.* in one of them, by addition. During the processes, the concentration of Cr (VI) in the underground and aerial parts of the used plants was determined, in each of the 4 processes.

The phytoremediation systems had an initial Cr (VI) concentration of $90.63 \pm 0.018 \text{ mg kg}^{-1}$, for *H. annuus* autumn beauty a removal of 80.17% was obtained and 54.72% for *H. annuus* giant, at 10 weeks, both in *Pseudomonas sp.* Absence. In the case of phytoremediation systems in the presence of this microorganism, an initial concentration of $93.15 \pm 0.03 \text{ mg kg}^{-1}$ was used where for the case of *H. annuus* autumn beauty for week 10 it was possible to remove 87.12% of the initial concentration and 57.53% of the initial concentration for *H. annuus* giant.

For the above, it is demonstrated that *H. annuus* giant is more efficient in the absence of *Pseudomonas sp.*, opposite case the autumn beauty species where it obtained a greater removal after 10 weeks in the presence of microorganism.

Because of the above, the proposal to use the phytoremediation technique to contaminated soils with Cr (VI) is viable, since *H. annuus* demonstrated high efficiency in removing Cr (VI) present in the soil.

Agradecimientos

A la Dra. Marisol Espinoza Castañeda por la confianza depositada en mí, así como su paciencia y enseñanzas.

Al Consejo Nacional de Humanidades, Ciencias y Tecnologías (CONAHCYT) por la beca otorgada para la realización de este proyecto.

A la Universidad Autónoma Metropolitana por compartir todos los recursos disponibles para la adquisición de conocimientos.

Al comité del Posgrado en Ciencia e Ingeniería Ambientales por su apoyo durante todo el proceso.

A mis compañeros por su apoyo y compañía durante la maestría.

Dedicatorias

A mi pequeño bebé por ser la mejor sorpresa y por vivir la aventura de la maestría a mi lado.

A mi esposo Francisco por estar en los buenos y malos momentos siempre a mi lado, por la paciencia durante todo el proceso, por el amor en los días rosas, pero también en los grises.

A mi madre por ser un gran apoyo hoy y siempre, por ser la mejor compañera de vida.

A mis mejores amigos Samantha, Iván y Metzly por estar conmigo siempre, y enseñarme a no rendirme, aunque el panorama sea negro.

Al pequeño Darío por enseñarme que el amor viene en frascos pequeños, y darme tantos momentos de alegría a pesar de su corta edad.

Contenido

1.	Introducción	1
2.	Antecedentes	2
2.1.	Contaminación de suelos por cromo y sus consecuencias ambientales	2
2.2.	Fitorremediación.....	2
2.3.	Especies fitorremediadoras.....	4
2.4.	Microorganismos presentes en la fitorremediación	4
3.	Marco teórico.....	5
3.1.	Suelo	5
3.1.1.	Propiedades del suelo	5
3.2.	Metales pesados	6
3.2.1.	Fuentes de contaminación	7
3.2.2.	Cromo.....	7
3.2.3.	Toxicidad del cromo (VI)	8
3.2.4.	Tratamientos para la remoción de cromo	9
3.2.5.	Límites permisibles de metales pesados en el suelo	10
3.3.	Biorremediación.....	10
3.3.1.	Fitorremediación	10
3.3.2.	Ventajas y desventajas de la fitorremediación	11
3.3.3.	Bioaumentación	13
3.3.4.	Bioestimulación	13
3.3.5.	<i>Helianthus annuus</i>	13
4.	Justificación	14
5.	Pregunta de investigación	15
6.	Hipótesis	15
7.	Objetivos	15
7.1.	Objetivo general.....	15
7.2.	Objetivos específicos.....	15
8.	Diagrama de flujo	16
9.	Metodologías	17
9.1.	Obtención de la muestra de suelo	17
9.2.	Esterilización y fertilización del suelo con triple 17	17
9.3.	Acondicionamiento del suelo con Cr (VI)	17
9.4.	Caracterización del suelo	17
9.4.1.	Determinación del pH del suelo	18

9.4.2.	Determinación del porcentaje de humedad	18
9.4.3.	Determinación de materia orgánica en el suelo	18
9.4.4.	Cálculo de la capacidad de retención del agua	19
9.4.5.	Cálculo del nitrógeno inorgánico	19
9.4.6.	Determinación del fósforo.....	20
9.5.	Aislamiento y determinación de la pureza de una colonia.....	20
9.5.1.	Pruebas de identificación de la bacteria	21
9.6.	Preparación de los sistemas para el proceso de fitorremediación	21
9.6.1.	Obtención de brotes de <i>H. annuus</i> en algodón	21
9.6.2.	Trasplante de los brotes de <i>H. annuus</i> a los sistemas	22
9.7.	Curva de calibración de Cr (VI) por espectrofotometría de ultravioleta-visible	23
9.8.	Determinación del cromo hexavalente no removido en suelo	23
9.9.	Cromo hexavalente presente en las plantas	24
9.10.	Análisis de resultados.....	24
10.	Resultados	24
10.1.	Curva patrón del fósforo	24
10.2.	Curva de calibración de Cr (VI) por espectrofotometría de ultravioleta-visible	25
10.3.	Experimento GG1. Evaluación del proceso de fitorremediación con <i>H. annuus</i> gigante 25	
10.3.1.	Preparación de los sistemas para el proceso de fitorremediación	25
10.3.2.	Caracterización del suelo durante los sistemas de fitorremediación con <i>H. annuus</i> gigante	26
10.3.3.	Determinación del cromo hexavalente remanente en los sistemas de fitorremediación para <i>H. annuus</i> gigante en el suelo	27
10.3.4.	Determinación del cromo hexavalente presente en el <i>H. annuus</i> gigante	28
10.3.5.	Aislamiento e identificación de la bacteria	28
10.4.	Experimento GG2. Evaluación del proceso de fitorremediación con <i>H. annuus</i> gigante en presencia de <i>Pseudomonas sp.</i>	29
10.4.1.	Preparación de los sistemas para el proceso de fitorremediación	29
10.4.2.	Caracterización del suelo de los sistemas de fitorremediación para <i>H. annuus</i> gigante en presencia de <i>Pseudomonas sp.</i>	29
10.4.3.	Cromo hexavalente remanente en los sistemas de fitorremediación para <i>H. annuus</i> gigante en presencia de <i>Pseudomonas sp.</i>	30
10.4.4.	Determinación del cromo hexavalente presente en el <i>H. annuus</i> gigante en presencia de <i>Pseudomonas sp.</i>	31
10.5.	Experimento GB1. Evaluación del proceso de fitorremediación con <i>H. annuus</i> belleza otoñal	31

10.5.1.	Caracterización del suelo de los sistemas de fitorremediación <i>H. annuus</i> belleza otoñal	31
10.5.2.	Cromo hexavalente remanente en los sistemas de fitorremediación para <i>H. annuus</i> belleza otoñal	32
10.5.3.	Determinación del cromo hexavalente removido por <i>H. annuus</i> belleza otoñal	33
10.6.	Experimento GB2. Evaluación del proceso de fitorremediación con <i>H. annuus</i> belleza otoñal, en presencia de <i>Pseudomonas sp.</i>	34
10.6.1.	Caracterización del suelo de los sistemas de fitorremediación para <i>H. annuus</i> belleza otoñal en presencia de <i>Pseudomonas sp.</i>	34
10.6.2.	Cromo hexavalente remanente en los sistemas de fitorremediación para <i>H. annuus</i> belleza otoñal en presencia de <i>Pseudomonas sp.</i>	35
10.6.3.	Determinación del cromo hexavalente removido por las plantas	35
10.7.	Control 1.	36
10.7.1.	Caracterización del suelo de los sistemas de control	36
10.7.2.	Determinación del cromo hexavalente remanente presente en el suelo	37
10.8.	Control 2.	38
10.8.1.	Caracterización del suelo de los sistemas de control en presencia de <i>Pseudomonas sp.</i>	38
10.8.2.	Determinación del cromo hexavalente remanente en el suelo	38
10.9.	Desarrollo de las plántulas de <i>H. annuus</i> gigante y belleza otoñal en suelo no acondicionado	39
10.9.1.	Caracterización del suelo no acondicionado	39
10.9.2.	Desarrollo de <i>H. annuus</i> gigante en suelo no acondicionado	39
10.9.3.	Desarrollo de <i>H. annuus</i> belleza otoñal en suelo natural	40
11.	Conclusiones	41
12.	Recomendaciones	42
13.	Referencias	43

Índice de tablas

Tabla 1. Porcentaje de fitorremediación de Sb, As, Cd, Cu, Ag y Pb (Mur, 2015).	3
Tabla 2. Ejemplos de plantas fitorremediadoras capaces de remover metales (Alvarado et al., 2015).	4
Tabla 3. Microorganismos utilizados para degradar contaminantes (Chávez, 2022).	5
Tabla 4. Límites máximos permisibles de metales pesados y As de acuerdo con la NOM-147-SEMARNAT-SSA1-2004 (SEMARNAT 2007).	10
Tabla 5. Ventajas y desventajas de la fitorremediación (Delgadillo et al., 2011; Antoniadis et al., 2020).	12
Tabla 6. Diseño de los sistemas necesarios para el proceso de fitorremediación.	22
Tabla 7. Caracterización del suelo en las semanas: previa al montaje, 4 y 8 para el <i>H. annuus</i> gigante.	27
Tabla 8. Caracterización del suelo en las semanas: previa al montaje, 4 y 8 para el <i>H. annuus</i> gigante en presencia de <i>Pseudomonas</i> sp.	30
Tabla 9. Caracterización del suelo en las semanas previa al montaje, 4 y 8, para <i>H. annuus</i> belleza otoñal.	32
Tabla 10. Caracterización del suelo semanas previa al montaje, 4 y 8 <i>H. annuus</i> belleza otoñal en presencia de <i>Pseudomonas</i> sp.	34
Tabla 11. Caracterización del suelo control 1, semanas previas al montaje, 4 y 8.	37
Tabla 12. Caracterización del suelo del control 2 en las semanas previa al montaje, 4 y 8.	38

Índice de Figuras

Figura 1. Mecanismos de la fitorremediación (López et al., 2005).	11
Figura 2. Foto de la especie <i>H. annuus</i> (Etzy, 2020).	14
Figura 3. Diagrama de flujo con las metodologías realizadas.	16
Figura 4. Cajas Petri con semillas de <i>H. annuus</i> para su germinación.	22
Figura 5. Curva patrón del fósforo.	24
Figura 6. Curva patrón del Cr (VI).	25
Figura 7. Sistemas de fitorremediación de <i>H. annuus</i> .	26
Figura 8. Concentración de Cr (VI) removido en los sistemas de <i>H. annuus</i> gigante.	27
Figura 9. Porcentaje de Cr (VI) presente en las secciones del <i>H. annuus</i> gigante: a. semana 4 b. semana 8.	28
Figura 10. Sistema de fitorremediación en presencia de <i>Pseudomonas sp.</i>	29
Figura 11. Resultados de fitorremediación en presencia de <i>Pseudomonas sp.</i> para <i>H. annuus</i> gigante.	30
Figura 12. Porcentaje de Cr (VI) presente en las secciones del <i>H. annuus</i> gigante en presencia de <i>Pseudomonas sp.</i> ; a. semana 4 b. semana 8.	31
Figura 13. Resultados de fitorremediación para <i>H. annuus</i> belleza otoñal.	33
Figura 14. Porcentaje de Cr (VI) presente en las secciones del <i>H. annuus</i> belleza otoñal: a. semana 4 b. semana 8.	33
Figura 15. Resultados de fitorremediación en presencia de <i>Pseudomonas sp.</i> para <i>H. annuus</i> belleza otoñal.	35
Figura 16. Porcentaje de Cr (VI) presente en las secciones del <i>H. annuus</i> belleza otoñal en presencia de <i>Pseudomonas sp.</i> : a. semana 4 b. semana 8.	36
Figura 17. Porcentaje de remoción de Cr (VI) del control 1.	37
Figura 18. Resultados del control 2 en presencia de <i>Pseudomonas sp.</i>	39
Figura 19. Plántula de <i>H. annuus</i> gigante en suelo no acondicionado.	40
Figura 20. <i>H. annuus</i> belleza otoñal en suelo libre de contaminante.	40

1. Introducción

En la actualidad, las actividades realizadas por la sociedad día con día son la principal causa del gran incremento de contaminantes emergentes presentes en el medio ambiente, los cuales significan una fuente de peligro para quienes se encuentren expuesto a ellos (Castro, 2009).

Siendo la contaminación de suelos por metales un problema que aumenta día tras día en México, debido a las actividades antropogénicas como lo es la minería. En nuestro país los contaminantes más importantes son el cromo (Cr), el mercurio (Hg) y el arsénico (As), esto debido a su alta toxicidad y su abundancia. Un claro ejemplo de contaminación por Cr en nuestro país se encuentra en el municipio de Tultitlán, el cual está situado en el Estado de México, donde una fábrica de pigmentos y químicos para curtido de pieles operó durante 20 años, emitiendo a la atmósfera toneladas de cromo hexavalente (Cr (VI)) derivado del proceso de calcinación, el cual realizaban durante 4 horas seguidas cada día, provocando emisiones por la chimenea del horno, además de realizar procesos al aire libre los cuales contaminaron la zona logrando acumular en sus instalaciones cerca de 75 mil toneladas de residuos industriales, afectando tanto los mantos acuíferos como al suelo (Castro, 2009).

Por tal motivo, surgió la necesidad de buscar alternativas que ayuden a disminuir la presencia de dichos metales en los suelos como lo es la biorremediación, ya que ofrece una alternativa eficiente para solucionar este tipo de problemáticas ambientales, mediante la remoción microbiana, degradación enzimática y fitorremediación, siendo esta última una gran alternativa para la remoción de Cr (VI), así como para la remoción de otros metales presentes en el suelo, ya que ha demostrado ser una técnica de bajo costo con porcentajes de eficiencia mayores al 80%, a diferencia de otras técnicas utilizadas para la remediación de suelos, las cuales, a pesar de ser más costosas, logran eficiencias apenas superiores al 50% de remoción (Garzón *et al.*, 2017).

De acuerdo a lo reportado por Velasco y colaboradores en 2002, la fitorremediación puede llegar a tener un costo de 4 dólares por metro cúbico, comparado con los 150 dólares por metro cúbico que implica el tratamiento con lavado de suelos.

La fitorremediación fue acuñada en 1991, se refiere a la habilidad natural de ciertas plantas en bioextraer, bioacumular, bioestabilizar, biovolatilizar, biodegradar o convertir o degradar un contaminante a un compuesto menos tóxico o incluso alcanzar la descontaminación total, ya sea orgánico o inorgánico, como por ejemplo los metales pesados presentes en el suelo. Este método tiene la capacidad de mejorar las propiedades tanto físicas como químicas del suelo, ya que además de contar con las ventajas ya mencionadas es un método visualmente agradable y se puede utilizar para el tratamiento de suelos, agua, aire y sedimentos, tanto *in situ* como *ex situ* (Delgadillo *et al.*, 2011; Eskander *et al.*, 2017). Cabe destacar que todas las plantas pueden demostrar ser fitorremediadoras, aunque algunas más que otras ante ciertos contaminantes, el uso de procesos de fitorremediación con base a la técnica que se lleve a cabo por parte de las plantas nos va a indicar la disposición final de las plantas una vez que haya terminado el proceso de fitorremediación.

Con base en lo anterior, en este trabajo se evaluó el uso del girasol (*Helianthus annuus*), en sus variantes belleza otoñal y gigante, como agentes fitorremediadores en suelos contaminados por Cr (VI), *ex situ*. También se evaluó el proceso de fitorremediación con la adición al suelo del microorganismo *Pseudomonas sp.*. Los resultados obtenidos fueron comparados con respecto a la eficiencia de los métodos probados y las especies *H. annuus* belleza otoñal y *H. annuus* gigante.

2. Antecedentes

2.1. Contaminación de suelos por cromo y sus consecuencias ambientales

El aumento de suelos contaminados por Cr surge por diversas causas como la explotación y fundición de metales, de los insumos agrícolas, de las industrias químicas y de la inadecuada disposición de los residuos provenientes de dichas industrias y zonas urbanas, además es un contaminante generalizado en el medio ambiente. Los suelos que son contaminados por metales pesados como el Cr (VI), originan un riesgo para los individuos que se encuentran expuestos a ellos. Según lo reportado por la Agencia para Sustancias Tóxicas y el Registro de Enfermedades (ATSDR), el contacto con niveles altos de Cr (VI) puede causar daños en la nariz y producir cáncer; en el caso de ser ingerido puede producir anemia o daño en estómago e intestinos. La ATSDR también reporta que en animales machos de laboratorio que son expuestos al Cr (VI), hay una disminución en la producción de espermatozoides. En cuanto a daño con la piel se ha observado que la exposición al Cr (VI) puede producir reacciones alérgicas, llegando a provocar úlceras (ATSDR, 2016; Liang *et al.*, 2021).

2.2. Fitorremediación

La fitorremediación es un método eficaz, ecológico y económico. Se pueden utilizar diferentes tipos de métodos de fitorremediación para reducir la contaminación de metales pesados, mediante el uso de plantas para remover, adsorber o acumular contaminantes presentes en el suelo, agua o aire (Shen *et al.*, 2022).

Existen diversas investigaciones que demuestran la habilidad de ciertas plantas para la remoción de contaminantes, como lo reportado por Domínguez y colaboradores, quienes determinaron la eficiencia del buchón de agua (*Eichhornia crassipes*) para la eliminación de mercurio (Hg), partiendo de una concentración inicial de 0.325 mg L^{-1} , obteniendo un 71 % de eficiencia en la remoción (Domínguez *et al.*, 2016).

Por otro lado, Mur evaluó la remoción de antimonio (Sb), arsénico (As), cadmio (Cd), cobre (Cu), plata (Ag) y plomo (Pb), mediante la utilización de especies forestales que provenían de la sierra peruana (*Acacia visco*, *Buddleja coriacea*, *Eucalyptus globulus*, *Myoporum laetum*, *Polylepis racemosa* y *Schinus molle*), en relaves mineros durante 27 semanas, donde observó que las especies tienen buena tolerancia de crecimiento en suelos contaminados; además se obtuvieron porcentajes de remoción para cada uno de los contaminantes de acuerdo a lo descrito en la Tabla 1 (Mur, 2015).

Tabla 1. Porcentaje de fitorremediación de Sb, As, Cd, Cu, Ag y Pb (Mur, 2015).

Especie	Porcentajes de remoción de contaminantes (%)					
	Sb	As	Cd	Cu	Ag	Pb
<i>Acacia visco</i>	69.78	29.20	4.44	83.74	24.35	64.48
<i>Buddleja coriácea</i>	70.95	19.26	13.20	84.35	23.86	66.48
<i>Eucalyptus globulus</i>	73.30	48.73	18.15	86.21	25.16	67.02
<i>Myoporum laetum</i>	71.96	39.42	9.36	84.14	27.60	63.80
<i>Polylepis racemosa</i>	80.10	54.6	15.10	90.20	50.60	71.20
<i>Schinus molle</i>	38.1	-	67.80	-	-	28.4

Al igual que estos contaminantes removidos mediante fitorremediación, Covarrubias y colaboradores reportan que el *Typha sp* resultó eficiente en la eliminación de Cr (VI), ya que al ser utilizado con *Scirpus amaricanus* logró tener un porcentaje de reducción sobre el 90 % (Covarrubias *et al.*, 2017). Además, Guzmán y colaboradores realizaron la evaluación del proceso de fitorremediación haciendo uso de las especies *Crassula ovata* y *Echeverria elegans* concluyendo que ambas especies son tolerables a las altas concentraciones de metales como es el caso del As, Cu y Pb (Guzmán *et al.*, 2020).

Arshad y colaboradores realizaron una evaluación sobre la fitoextracción de Pb haciendo uso de la especie *Pelargonium hortorum*, reportando que la especie *Pelargonium*, la cual es reportada como hiperacumuladora de metales, se observó que la especie *Pelargonium* tiene la capacidad de acumular más de 1000 mg de Pb y 100 mg de Cd en brotes (Arshad *et al.* 2020).

Por otra parte, Gul y colaboradores evaluaron la eliminación de Cd de suelo contaminado, haciendo uso de la especie *Pelargonium hortorum*, de igual manera se evaluaron los impactos genotóxicos del Cd en la planta y el acumulado dentro de los brotes, obteniendo una absorción de 150 mg Cd por kg de suelo (Gul *et al.*, 2022).

Ríos estudió las eficiencias remediadoras de las especies *Lolium perenne*, *Pelargonium hortorum* y *Fuertesimalva echinata* en la reducción de Pb presente en el suelo obteniendo una disminución en la concentración del 75%, 68% y 69 % respectivamente (Ríos, 2017).

Además, Al-Jobori y colaboradores evaluaron la eficiencia de fitorremediación del *H. annuus* para suelos contaminados por Pb, cuyo objetivo fue determinar los efectos del Pb en el crecimiento de las plantas así como también examinar su adsorción dentro de la planta, demostrando que la mayor concentración de Pb extraído del suelo se dirige hacia las raíces de la planta, seguido por el tallo y las hojas, concluyendo que el *H. annuus* puede adsorber metales pesados de suelos contaminados y acumularlos sin afectar la producción de biomasa, convirtiéndolo en una especie hiperacumuladora (Al- Jobori *et al.*, 2019).

De igual manera Sultana y colaboradores estudiaron la capacidad fitorremediadora de *H. annuus* y *Bryophyllum pinnatum* en la acumulación de Cu, Cr, níquel (Ni), hierro (Fe), zinc (Zn) y Pb presentes en el suelo, mostrando que el *H. annuus* tuvo mayor acumulación de Pb, Cu y Cr, mientras que *Bryophyllum pinnatum* acumula una mayor concentración de Ni y Cr (Sultana *et al.*, 2019).

2.3. Especies fitorremediadoras

El uso de plantas para la remediación de suelos contaminados no es un tema nuevo, existen plantas que han demostrado resultados satisfactorios en la remoción como se observa en la Tabla 2 (Alvarado *et al.*, 2015).

Tabla 2. Ejemplos de plantas fitorremediadoras capaces de remover metales (Alvarado *et al.*, 2015).

Nombre común	Nombre científico	Contaminante removido
Canastillo	<i>Alyssum spp</i>	Ni
Armeria	<i>Clavelina de mar</i>	Pb
Helecho de agua	<i>Azolla pinnata</i>	Cu, Pb y Cd
Eucalipto	<i>Eucalyptus spp</i>	Sodio (Na) y As
Jacinto de agua	<i>Eichornia crassipes</i>	Pb, Cu y Cd
Comalillo	<i>Hydrocotyle umbellata</i>	Pb
Lenteja de agua	<i>Lemna minor</i>	Pb, Cd y Cu
Oreja de burro	<i>Colocasia esculenta</i>	Fósforo (P) y Cd
Esparrago de mar	<i>Salicornia</i>	Cu y Fe
Mostaza castaña	<i>Brassica juncea</i>	Pb y Ni
Marihuana	<i>Cannabis sativa</i>	Cd
Cebada	<i>Hordeum vulgare</i>	Aluminio (Al)
Jacinto de agua	<i>Eichhornia crassipes</i>	Cu
Flor de cobre	<i>Haumaniastrum robertii</i>	Cu y Cd
Girasol	<i>H. annuus</i>	Cu y Cd
Lenteja de agua	<i>Spirodela polyrhiza</i>	Zn y Ni
Trébol rojo	<i>Trifolium pratense</i>	Zn

2.4. Microorganismos presentes en la fitorremediación

El uso de microorganismos para ayudar a eliminar contaminantes del suelo, agua o aire no es una técnica nueva, diversos autores reportan el uso de microorganismos para la eliminación de algún tipo de contaminante, de igual manera se han realizado modificaciones genéticas en ellos para aumentar su eficiencia remediadora, así como facilitar su adaptación al medio.

El uso de microorganismos para ayudar a degradar contaminantes ha sido reportado por diversos autores, como se muestra en la Tabla 3 (Chávez, 2022).

Tabla 3. Microorganismos utilizados para degradar contaminantes (Chávez, 2022).

Tipo de contaminante	Microorganismo	Aplicación (degradación)
Degradación de iones metálicos	<i>Deinococcus radiodurans</i>	Hg
	<i>Mesorhizobium huakuii</i>	Cd
	<i>Cepa E. coli SE5000</i>	Ni
	<i>Pseudomonas K-62</i>	Hg
	<i>Pseudomonas putida X3 cepa</i>	Ni
Degradación de contaminantes orgánicos	<i>Pseudomonas putida KT2442</i>	tolueno
	<i>Pseudomonas stutzeri</i>	fenol
Degradación de plaguicidas	<i>Pseudomonas putida KT2440</i>	fenitrotión

3. Marco teórico

3.1. Suelo

De acuerdo con la Food and Agriculture Organization (FAO) de las Naciones Unidas, se define al suelo como “un sistema dinámico que se encuentra en la superficie de la Tierra en el cual se desarrolla la vida, el cual consiste en capas distinguibles que son llamadas horizontes, los cuales se forman a partir de materiales minerales, orgánicos y líquidos, esto mediante un proceso llamado pedogénesis” (FAO, n.d.). Éste está formado por la interacción de factores geológicos, climáticos, biológicos y humanos, a través de largos periodos de tiempo. Es un recurso fundamental para que la vida se pueda desarrollar en la Tierra, es un agente biorremediador natural, además, proporciona el soporte físico a las plantas y todos los seres humanos, asimismo almacena y filtra el agua, así como también actúa como un reservorio de nutrientes esenciales (Brady et al., 2007). Se encuentra compuesto por materia orgánica, agua, aire y partículas minerales, dentro de las cuales la arena, el limo y la arcilla, son las encargadas de determinar la estructura que compone al suelo, así como también las propiedades físicas que lo caracterizan, como lo es la permeabilidad, al igual que la capacidad de retención de agua (FAO, n.d.).

3.1.1. Propiedades del suelo

3.1.1.1. pH

El pH refleja la actividad de los iones de hidrógeno (H) en el suelo, es decir indica si el suelo es ácido, neutro o alcalino, dicho factor es importante debido a que influye en el crecimiento de las plantas (FAO, 2021). La mayoría de las plantas se desarrollan mejor en suelos neutros o ligeramente ácidos, esto es causado por la disponibilidad de los nutrientes la cual no se ve afectada en suelos con este pH, por otra parte, para el caso de pH por debajo del neutro se generan deficiencias de N, potasio (K), calcio (Ca) y magnesio (Mg), mientras que a pH elevados se disminuye la disponibilidad de Fe, manganeso (Mn), Zn y Cu (Bárbaro et al. 2019).

3.1.1.2. Humedad

La humedad del suelo es necesaria para que el proceso de fotosíntesis se realice, aunque si hay humedad en exceso afecta negativamente a las plantas, ya que ocasiona que el suelo se compacte impidiendo que se regule la temperatura del suelo, así como la aireación, obstaculizando el crecimiento y desarrollo de las raíces (Polón, 2008).

3.1.1.3. Capacidad de retención de agua

La capacidad de retención de agua hace referencia a la máxima cantidad de agua disponible que puede almacenar el suelo para las plantas (Domingo *et al.*, 2006).

3.1.1.4. Materia orgánica

Ésta es la encargada de aportar nutrientes y mejorar de esta manera la fertilidad del suelo; dicha materia orgánica es derivada de la descomposición de plantas, animales y microorganismos (Jenny, 1994). Además, participa en procesos fundamentales como el secuestro de C (carbono), mineralización de nitrógeno (N) agregación, promoción fitosanitaria y retención de compuestos (Kördel *et al.*, 1997).

La materia orgánica está compuesta principalmente por C, H, oxígeno (O), N, P y S, la importancia de la materia orgánica en el suelo se ve reflejada en la fertilidad de este, permitiendo el crecimiento de las plantas. La materia orgánica tiene su origen en la descomposición de restos de seres vivos los cuales se descomponen sobre el suelo, en dicho proceso interviene el agua, la temperatura, así como la presencia de organismos vivos, como es el caso de los microorganismos (Julca *et al.*, 2006).

3.1.1.5. Contenido de nutrientes (fósforo y nitrógeno inorgánico)

El N se encuentra de manera abundante en las plantas, siendo parte de la clorofila representando un 4% de la materia seca, el nitrógeno se encuentra de manera abundante en la atmósfera, sin embargo, las plantas lo absorben en forma de nitratos del suelo. A comparación del N, el P es menos abundante en las plantas, su contenido alcanza el 0.1% en plantas que carecen de él, este elemento es esencial para el crecimiento de las plantas (Cerón *et al.*, 2012).

3.2. Metales pesados

Se puede definir como metales pesados a aquellos elementos que tienen como características principales una alta densidad, alto peso molecular, una gran maleabilidad y dureza (Méndez, 2009). Los metales pesados son utilizados en procesos industriales, de los cuales el Cd, Cu, Pb, Hg y Ni son los más utilizados en este sector; cabe destacar que estos pueden ser considerados nocivos en plantas y animales a pesar de encontrarse en concentraciones bajas (Rodríguez, 2017).

Éstos se consideran contaminantes importantes del suelo, debido a que pueden ingresar de forma natural por medio de la roca madre o por una acción antrópica como lo es por desechos procedentes de la industria, la emisión de gases de los automóviles, por las prácticas agronómicas, así como accidentes industriales (García *et al.*, 2002). La acción de dichos contaminantes en el suelo y con ellos su nivel de toxicidad dependerá de su concentración en la que se encuentran presentes en el suelo, así como también de las condiciones del suelo (como lo es su pH, su textura dependiendo del tipo del suelo del que se trate y su porosidad) (Rodríguez, 2017).

Por lo anterior son considerados elementos tóxicos ambientales muy peligrosos (ver apartado 3.2.3), debido a su alta persistencia), es decir, no pueden ser creados o eliminados, mediante procesos biológicos ni antropogénicamente, por otra parte, pueden ser bioacumulados (Llugany et al., 2007), de esta manera pueden alcanzar concentraciones elevadas a medida que avanzan en el nivel trófico en la cadena alimenticia (Reyes, 2016).

3.2.1. Fuentes de contaminación

La contaminación del suelo y el agua por metales pesados es una preocupación mundial, debido a los diversos efectos nocivos en la salud humana (Lui *et al.*, 2021).

La ATSDR señala que el Cr es utilizado en diversos procesos de manufactura y por dicho motivo es encontrado en diversos productos como lo es la madera tratada con dicromato de cobre, el cuero curtido con la utilización de sulfato crómico, artículos de cocina elaborados de acero inoxidable, entre otra serie de productos. El Cr puede ser encontrado en el ambiente debido a su liberación por industrias como es el caso de las industrias de galvanoplastia y de producción textil, cabe destacar que el Cr también puede llegar al ambiente al quemar gas natural.

3.2.2. Cromo

Es un metal de transición de color plateado, cuyo número atómico es 24 y cuenta con una densidad de 7.19 g cm^{-3} , debido a que es un metal de transición se sabe que es duro, dúctil y maleable, de igual manera es conductor de calor (Shahid *et al.*, 2017). Tiene un punto de fusión de 150°C , y una temperatura de descomposición de 130°C , además, es considerado estable químicamente bajo condiciones normales, es decir, a temperatura ambiente. En cuanto a la presión a vapor en el caso del Cr es de 0.35 hPa a 20°C , y su coeficiente de partición octanol-agua es de 5.42; por dicho motivo no se espera bioacumulación (Merck, 2021).

Según lo reportado por la ATSDR el Cr está presente de manera natural en rocas, plantas, suelo y animales, y es encontrado principalmente en tres formas las cuales son Cr, cromo trivalente Cr (III) y Cr (VI) (ATSDR, 2016).

La oxidación de Cr (III) a Cr (VI) es un proceso que se ve favorecido en suelo con un alto contenido de óxidos de manganeso, ya que en este tipo de suelo ocurre de manera natural. El Cr (III) se presenta en cationes principalmente, en el caso del Cr (VI) este se encuentra principalmente en oxianiones, como es el caso del dicromato (Shahid *et al.*, 2017).

Además, las especies de Cr (VI) que no son retenidas de manera significativa en los suelos se debe a las arcillas, las cuales tienen carga negativa, lo cual provoca una repulsión (Zhang *et al.*, 2019).

Por otra parte, el Cr (VI), es considerado la forma más tóxica en la cual se encuentra el Cr, algunos de los procesos industriales que pueden producir Cr (VI) incluyen las industrias de revestimientos como lo son bases y pinturas en aerosol, la fundición de mineral ferrocromo y el curtido de cuero (ATSDR, 2016). De igual manera se sabe que el Cr (VI) es la forma más móvil y soluble en que se puede encontrar el Cr, a diferencia del Cr (III) el cual principalmente se encuentra unido a la materia orgánica, así como también es insoluble por lo cual se considera menos agresivo que el Cr (VI). Además, el Cr (III) es considerado como un elemento primordial para el desarrollo de la vida en cual, si se encuentra en exceso, así como si se carece de él puede afectar de manera severa el metabolismo del individuo, ya que este juega un papel primordial para la glucosa (Prasad *et al.*, 2021).

La toxicidad del Cr en plantas se puede observar manifestada en forma de clorosis; insuficiencia de clorofila que se refleja en amarillamiento en las hojas (Shahid *et al.*, 2017), dicha toxicidad está relacionada a su estado de oxidación, sin embargo, este elemento siempre es tóxico en concentraciones altas sin importar su estado de oxidación, en cuanto a su forma más estable en sistemas biológicos es el Cr (III) (Jobby *et al.*, 2018).

El cromo no cuenta con alguna especie de transportador en especial para ser absorbido por las plantas, este se acumula principalmente en las raíces de las plantas, provocando fitotoxicidad, ya que interfiere de manera significativa en el crecimiento de estas (Shahid *et al.*, 2017).

3.2.3. Toxicidad del cromo (VI)

3.2.3.1. Toxicidad en humanos

La contaminación ocasionada por el cromo representa una amenaza la cual afecta de manera significativa a los recursos naturales en especial al suelo y al agua, cuya exposición excesiva podría conducir a niveles altos de acumulación en los tejidos tanto de los animales como de los seres humanos, provocando de esta manera afectaciones graves para su salud como lo es la posibilidad de desarrollar cáncer lo cual puede originar la muerte, esto es debido a que el Cr (VI) es considerado 100 veces más tóxico en comparación con el Cr (III), de hecho es considerado por el Agencia Internacional para la investigación del Cáncer (IARC) como un agente cancerígeno del grupo I (Álvarez *et al.*, 2021).

El mecanismo de toxicidad del Cr (VI) en las células procariotas, así como en las células eucariotas está relacionado con la difusión a lo largo de la membrana celular, seguida por la reducción del Cr (VI) en las células, dando lugar a que se ocasionen radicales libres los cuales tienen como consecuencia de manera directa alteraciones en el ADN (Jobby *et al.*, 2018).

En el caso particular del Cr (VI) es considerado un peligro para la salud de los individuos, en especial para las personas que se dedican a la industria textil o del acero, de igual manera las personas que fuman tabaco logran tener un alto grado de exposición al Cr. En general el Cr (VI) provoca efectos negativos para la salud que van desde erupciones cutáneas hasta cáncer de pulmón (Shahid *et al.*, 2017).

La OEHHA (2016) reportó que la exposición continua a Cr (VI) de 0.045 ng/m³ durante 30 años aumenta la posibilidad de 25 en un millón a padecer cáncer, la exposición en tiempos más cortos se asocia a riesgo de cáncer mucho menores. El Nivel de Referencia de Exposición crónico es para el Cr (VI) es de 200 ng/m³ en el aire, el cual tiene como efecto irritación o alergias nasales, de la garganta o respiratorias.

3.2.3.2. Toxicidad en plantas

Referente a la toxicidad en plantas, varios estudios han logrado demostrar que el Cr (VI) afecta sus actividades metabólicas de manera negativa, dificultando su crecimiento, afectando a los procesos morfológicos y bioquímicos, reduciendo la calidad de sus frutos, de aquí que surge la necesidad de eliminar este contaminante presente en los suelos (Prasad *et al.*, 2021).

3.2.4. Tratamientos para la remoción de cromo

Existen diferentes técnicas de descontaminación de suelos, donde podemos encontrar tratamientos fisicoquímicos como lo es la extracción; técnica aplicada *in situ* que tiene el objetivo de separar el suelo de sus contaminantes, para su posterior tratamiento depurador. Este tipo de tratamiento necesita que los suelos sean permeables, es decir, que los suelos tengan la propiedad de transmitir el agua y el aire, de igual manera es necesario que las sustancias contaminantes cuenten con suficiente espacio de movilidad, así como también que no se encuentren en gran manera adsorbidas en el suelo (Martínez *et al.*, 2021). De igual manera existen tratamientos biológicos como la biorrecuperación, que hace referencia a los tratamientos de recuperación que disminuyen la concentración de contaminantes inorgánicos y que degradan a aquellos que son orgánicos, estos tratamientos hacen uso de bacterias, hongos y plantas para atacar estos contaminantes de riesgo para el ambiente, para el uso de estos no solo se tienen que considerar factores biológicos, sino también hace uso de factores ambientales así como del tipo de suelo con el que se esté trabajando, la temperatura y su pH. Estos tratamientos ofrecen alternativas sencillas, económicas y que permiten conservar los recursos naturales (Patra *et al.*, 2020).

En cuanto a los tratamientos térmicos se cuenta con la incineración, en este tratamiento los contaminantes son destruidos mediante el suministro de calor, ya que se utilizan a una temperatura de aproximadamente 1000 °C; esto se hace con el fin de oxidarlos y volatilizarlos. Aparte de la incineración, existe la desorción térmica, en la cual se somete el suelo a bajas temperaturas, para conseguir la desorción de los contaminantes (Martínez *et al.*, 2021).

En el caso de los tratamientos mixtos, se tiene la extracción multifase, la cual consiste en extraer, mediante la excavación de pozos, sustancias que se encuentren en fase vapor como es el caso de los compuestos orgánicos volátiles, en fase líquida y en especial compuestos no acuosos en fase libre (Ortiz *et al.*, 2007).

La reducción química de Cr (VI) a Cr (III) es considerada una técnica eficaz para disminuir la concentración de Cr (VI), ya que de esta manera se disminuyen los efectos tóxicos, esta reducción se puede dar por 3 formas las cuales son mediante aplicación biológica, electroquímica y química. En el caso de la aplicación biológica se hace uso de los diversos microorganismos presentes en el suelo, los cuales tienen la capacidad de descontaminación del Cr (VI) (Tan *et al.*, 2020).

3.2.5. Límites permisibles de metales pesados en el suelo

En México se considera que los principales metales contaminantes, considerando como factores de importancia su grado de toxicidad y su abundancia, son el Hg, Pb, Cr y As. La Tabla 4 muestra los límites máximos permisibles en el suelo en cuanto a metales pesados y As según la norma NOM-147-SEMARNAT-SSA1-2004. Que establece criterios para determinar las concentraciones de remediación de suelos contaminados por arsénico, bario, berilio, cadmio, cromo hexavalente, mercurio, níquel, plata, plomo, selenio, talio y/o vanadio (Covarrubias *et al.*, 2017).

Tabla 4. Límites máximos permisibles de metales pesados y As de acuerdo con la NOM-147-SEMARNAT-SSA1-2004 (SEMARNAT 2007).

Metal	Suelo de uso agrícola [mg kg ⁻¹]	Suelo de uso industrial [mg kg ⁻¹]
As	22	260
Hg	23	310
Pb	400	800
Cr (VI)	280	510

3.3. Biorremediación

La biorremediación es un tratamiento biológico que se basa en el uso de microorganismos y plantas para degradar los contaminantes que se encuentran presentes en el suelo (Islas *et al.*, 2016). Ofrece una alternativa para lograr que contaminantes presentes en el suelo dejen de representar un peligro latente, esto mediante la utilización de la actividad biológica natural, ya que en su aplicación no se necesitan grandes inversiones monetarias ni tecnologías sofisticadas (Verma *et al.*, 2019).

Numerosos microorganismos, incluidas bacterias (aerobias y anaerobias) así como hongos, están involucrados en procesos de biorremediación de sitios contaminados, la función fundamental de ellos es degradar o convertir los contaminantes presentes en el suelo en formas menos tóxicas (Sharma, 2020).

3.3.1. Fitorremediación

Dentro de las diversas aplicaciones de la biorremediación, se encuentra la fitorremediación, la cual consiste en la utilización de plantas con el fin de realizar una restauración de sitios contaminados, como es el caso de aguas, suelos e incluso aire (López *et al.*, 2004). La técnica de fitorremediación hace uso de las capacidades de las plantas por absorber, acumular, metabolizar, volatilizar o estabilizar contaminantes como es el caso de los metales pesados o radioactivos, así como de los compuestos orgánicos y compuestos derivados del petróleo, entre otros (Delgadillo *et al.*, 2011).

3.3.1.1. Mecanismos de fitorremediación

La fitorremediación de suelos involucra con ella ciertos mecanismos, los cuales tienen una labor específica, estos mecanismos son la fitoestabilización, la rizodegradación, la fitovolatilización, fitodegradación, fitoextracción y rizofiltración, como se muestra en la Figura 1 (López *et al.*, 2005).

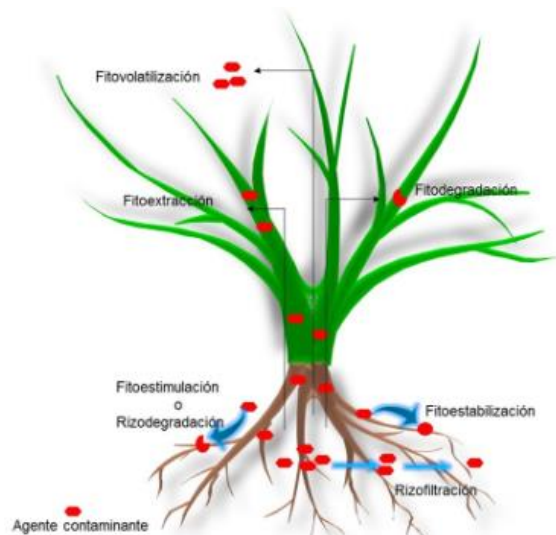


Figura 1. Mecanismos de la fitorremediación (López et al., 2005).

En la rizofiltración las plantas precipitan los contaminantes en las raíces; en la fitoeextracción se absorben los contaminantes, así como nutrientes presentes en el suelo y se acumulan en alguna parte de la planta (López et al., 2005).

La fitostabilización hace referencia al proceso en el cual la especie vegetal estabiliza al contaminante limitando así su biodisponibilidad evitando así que este se mueva. En la fitovolatilización las plantas absorben el contaminante por medio de su raíz y lo transportan hasta expulsarlo finalmente a la atmósfera lo cual representa un problema debido a que el contaminante es llevado únicamente de un medio a otro, en este caso del suelo al aire. En el proceso de fitodegradación, después de que el contaminante fue absorbido éste es degradado por la actividad enzimática. En la rizodegradación (también llamada fitoestimulación) los microorganismos de la rizosfera degradan los contaminantes, en este proceso la labor de la planta es aportar los nutrientes que los microorganismos necesitan (López et al., 2005).

3.3.2. Ventajas y desventajas de la fitorremediación

La fitorremediación cuenta con una serie de ventajas y desventajas las cuales son presentadas en la Tabla 5, de acuerdo con lo reportado por Delgadillo y colaboradores, así como por Antoniadis y colaboradores (Delgadillo et al., 2011; Antoniadis et al., 2020).

Tabla 5. Ventajas y desventajas de la fitorremediación (Delgadillo et al., 2011; Antoniadis et al., 2020).

Ventajas	Desventajas
• Se puede realizar <i>in situ</i> y <i>ex situ</i>.” • Es una tecnología que solo hace uso de la energía solar, no necesita fuentes alternas. • “Es eficiente tanto para contaminantes orgánicos como inorgánicos.” • “Es de bajo costo”. Ya que el ponerla en marcha no necesita de una gran inversión, debido a que no requiere materiales o equipos de alta gama. • Requiere de poca mano de obra. • Protege el ecosistema original ya que evita la excavación del sitio contaminado, a diferencia de otros métodos. • “No requiere personal especializado para su manejo, solo requiere de prácticas agronómicas convencionales.” Debido a que son plantas cultivables hasta de manera doméstica, no se necesita de manejos o técnicas especiales para su realización. • “Es poco perjudicial para el ambiente”. Debido a que no se utilizan productos químicos. • “Cuenta con un efecto positivo sobre el suelo ya que mejora sus propiedades tanto físicas como químicas, debido a la formación de una cubierta vegetal” • Es una técnica visualmente agradable, y se ha demostrado que los espacios verdes provocan efectos positivos de manera psicológica en los seres humanos. • “Se puede emplear en agua, suelo, aire y sedimentos”. • Es reconocida como una alternativa viable para zonas de una dimensión de hectáreas	• “En especies de gran tamaño, como los son los árboles y arbustos, el proceso de fitorremediación se lleva a cabo de manera lenta”, debido a que su crecimiento no es tan rápido en comparación con plantas de tamaño pequeño. Un árbol en promedio llega a su tiempo de madurez aproximadamente a los 10 años, mientras que plantas pequeñas solo necesitan unos cuantos meses. • “Este método se restringe a sitios de contaminación superficiales dentro de la rizosfera”, es decir, la planta justo hasta esa parte tiene su máximo alcance de penetración en el suelo. • “Los contaminantes acumulados en maderas pueden liberarse por procesos de combustión”, ya que al quemar madera obtenida de árboles que fueron usados para fitorremediar cierto suelo, los contaminantes son liberados al ambiente. • “No todas las plantas son tolerantes o acumuladoras.” • Se recomienda no usar plantas frutales, ya que en sus frutos estaría el contaminante removido. • “En sistemas acuáticos se puede favorecer la diseminación de plagas, tales como los mosquitos”, debido a que los mosquitos se sienten atraídos por la humedad. • Es considerada una técnica de ensayo y error esto debido a que no siempre se logra resultados favorables con la especie seleccionada. • Se debe agregar un paso para el manejo de las especies.

3.3.3. Bioaumentación

La bioaumentación consiste en la adición de cepas o de consorcios de microorganismos para que se realice el proceso de remoción del contaminante de manera más eficiente (Islas *et al.*, 2016). La utilización de microorganismos nativos en este proceso se considera una de las principales ventajas, esto es debido a la distribución espacial de dichos microorganismos en el subsuelo, lo cual disminuye en gran manera que no sean compatibles con el tipo de suelo con el que se esté trabajando (Mau *et al.*, 2011). Una manera de solucionar esta posible incompatibilidad es la recolección de microorganismos pertenecientes a esa muestra de suelo, cultivarlos y devolverlos al suelo del que son nativos para que no exista problemas de incompatibilidad (Dehnavi *et al.*, 2022).

La principal ventaja de la introducción de microorganismos está relacionada con que el proceso de degradación del contaminante se empieza de desarrollar de manera inmediata al momento de introducir los degradadores microbianos, por dicho motivo es tan importante que las colonias de microorganismos que se añadan al suelo sean capaces de sobrevivir a los microorganismos ya presentes en este, teniendo como desventaja que dichos microorganismos están adaptados a las condiciones del medio (Wu *et al.*, 2019).

Por otra parte, se tiene reportado que existe una amplia variedad de microorganismos con la capacidad de remover de manera eficiente el Cr (VI), incluidos *Aeromonas*, *Enterobacter*, y *Pseudomonas sp.* Estas tienen la capacidad de reducir Cr (VI) a Cr (III). Estas bacterias son omnipresentes en el medio ambiente y su capacidad de remoción se ve afectada por factores externos como es el caso del pH y la temperatura (Tan *et al.*, 2020).

En particular las *Pseudomonas sp.* son bacterias oportunistas y ubicuas, las cuales se consideran bastantes persistentes en el ambiente (Chellaiah, 2018). Este patógeno se puede alojar en el medio ambiente llegando a persistir sin problema alguno en el suelo y agua, esto sin necesitar un requerimiento nutricional alto (Negroni, 2009). Estas pertenecen a la familia *Pseudomonadaceae*, se trata de bacilos cortos, Gram negativos, no esporulados (Paz *et al.*, 2019).

Se ha demostrado que la aplicación de *Pseudomonas* sirve de manera eficiente para la mejora de la fitorremediación de suelos contaminados, tanto por metales pesados como por compuestos orgánicos (Shi *et al.*, 2022).

3.3.4. Bioestimulación

Consiste en la introducción de nutrientes, mediante el uso de fertilizantes orgánicos e inorgánicos u otros medios que aporten nutrientes, con la finalidad de estimular a los microorganismos originarios del suelo, los cuales tienen la capacidad de degradar los contaminantes presentes en éste de manera más eficiente (Islas *et al.*, 2016), ya que éstas agregan nutrientes y fuentes de C al suelo, para promover el crecimiento de las plantas, así como la actividad microbiana (Lacalle *et al.*, 2020).

3.3.5. *Helianthus annuus*

El girasol (*H. Annuus*) es una planta originaria de la parte norte de América, donde en la actualidad se encuentra esta especie de manera silvestre, por lo regular a los costados de los caminos, así como en las zonas agrícolas en los países de Estados Unidos, Canadá y México (Torretta *et al.*, 2010).

El género *Helianthus* se encuentra dentro de la familia *Asteraceae* (Clemente et al., 2021) dicha familia se encuentra constituida por 49 especies de las cuales 13 de ellas son anuales y el resto son perennes (Poverene et al., 2002).

En cuanto al girasol como cultivo, el cual es mostrado en la Figura 2, cuenta con la característica de tolerar un alto grado al frío (Munive et al., 2020), así como también tiene la característica de contar con un ciclo de cultivo más corto comparado con otros cultivos como el maíz, además se puede sembrar en zonas que son propensas a la falta de lluvias como un cultivo alternativo (Aragadvy et al., 2015).

Además, que se ha demostrado que es una especie remediadora de suelos contaminados por metales pesados como lo es el Pb, según lo reportado por Al- Jobori y colaboradores, lo que lo convierte en una opción viable para la remoción de otros metales pesados como lo es el Cr (VI) (Al- Jobori et al., 2019).



Figura 2. Foto de la especie *H. annuus* (Etzy, 2020).

Esta especie fue seleccionada debido a su tipo y tamaño, ya que al no ser una especie maderosa, no tardan años en madurar y no volatilizan los contaminantes removidos al quemar la madera, de igual manera al no ser una especie frutal no se corre el riesgo de que sea ingerida y afecte la salud de las personas (Al- Jobori et al., 2019).

4. Justificación

Nuestro país genera un sinnúmero de residuos industriales, y muchos de ellos contienen metales pesados los cuales en su mayoría no tienen un tratamiento adecuado, ya que se depositan en lugares que no cuentan con las características necesarias para su almacenamiento afectando de esta manera el ambiente donde son desechados. Dichos metales pueden ser depositados en cuerpos de agua o en suelos, en donde pueden filtrarse hasta las capas del subsuelo o expandirse hacia los mantos acuíferos, entrando en las cadenas tróficas hasta dañar a los organismos vivos, por lo tanto, se busca evitar que las consecuencias ocasionadas sean mayores. En el caso particular del Cr (VI) representa un grave problema cuando se encuentra en el suelo, esto es debido a que ocasiona daños tanto en los individuos como en las plantas que crecen en él, para el caso particular de los individuos expuestos al Cr (VI), ellos pueden sufrir daños en su sistema digestivo y en el sistema respiratorio (que va desde daños en la nariz hasta cáncer), para el caso de las plantas sufren de un crecimiento lento así como de clorosis la cual se ve reflejada en el tono descolorido de sus hojas (ATSDR, 2016).

Los suelos contaminados llegan a ser tratados por procesos térmicos y fisicoquímicos, dichos procesos si bien, pueden ser o no efectivos necesitan de una gran inversión monetaria, por dicho motivo se necesita dar solución con tratamientos que sean tanto efectivos, sencillos de aplicar y de bajo costo en comparación con procesos fisicoquímicos. La fitorremediación ofrece una alternativa con dichas características ya que cuenta con la ventaja de ser de bajo costo y de no necesitar especialistas en técnicas de agronomía más allá de las usuales.

Con la fitorremediación, se ha demostrado una buena eficiencia al momento de utilizar especies pequeñas de plantas, por lo que se tomó la decisión usar la especie *H. annuus* (belleza otoñal y gigante) para la remoción de Cr (VI) en suelo, de esta manera la desventaja de la lentitud de eliminación del contaminante en especies de gran tamaño no se volvería un problema, debido a que el *H. annuus* es una especie de rápido crecimiento ya que en dos semanas se obtiene la plántula. Aunado a lo anterior, se propone asistir la fitorremediación con la adición de un microorganismo al suelo, con el propósito de aumentar la eficiencia en la remoción del contaminante, ya que se espera que al tener un proceso de fitorremediación asistida por el uso de un microorganismo el contaminante sea retirado del suelo en tiempos más cortos.

5. Pregunta de investigación

¿Cuál es la eficiencia de la especie *H. annuus* en la remoción de Cr (VI) en suelos contaminados?

6. Hipótesis

Se espera que la especie *H. annuus* sea capaz de remover el Cr (VI) presente en suelos contaminados, dando mejores resultados la fitorremediación adicionando *Pseudomonas sp.* al suelo.

7. Objetivos

7.1. Objetivo general

Evaluar la eficiencia en la remoción de Cr (VI) usando la especie *H. annuus* *belleza otoñal* y *H. annuus* *gigante* mediante procesos de fitorremediación y fitorremediación asistida con la adición de *Pseudomonas sp.* al suelo.

7.2. Objetivos específicos

- Determinar las características del suelo contaminado, (pH, materia orgánica, humedad, capacidad de retención del agua, fósforo, nitrógeno inorgánico), con base a lo descrito por la NOM-021-SEMARNAT-2000.
- Evaluar la cantidad de Cr (VI) no removido presente en una muestra suelo, después del proceso de fitorremediación para cada planta.
- Evaluar la cantidad de Cr (VI) no removido en una muestra posterior al proceso de fitorremediación asistida en presencia de *Pseudomonas sp.*
- Determinar qué especie de planta (*H. annuus* gigante o *belleza otoñal*) y mediante qué proceso se obtiene la mayor fitorremediación, con base en la cantidad de Cr (VI) no removido.

8. Diagrama de flujo

En la Figura 3 se muestra un diagrama de flujo con las metodologías para la realización de este proyecto.

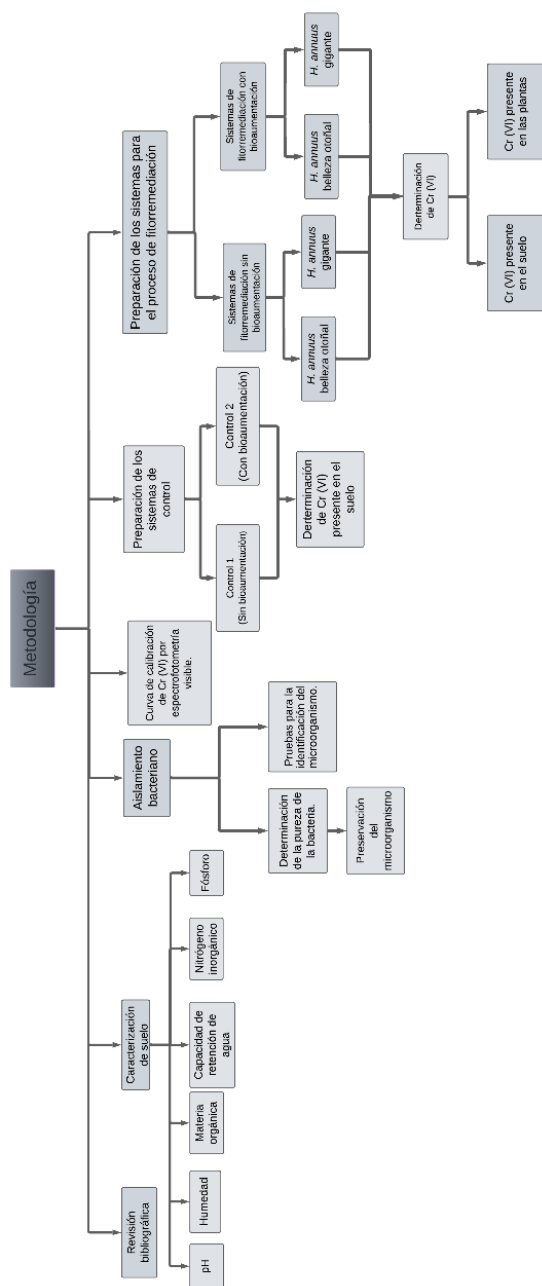


Figura 3. Diagrama de flujo con las metodologías realizadas.

9. Metodologías

La metodología experimental descrita a continuación se llevó a cabo en las instalaciones del Laboratorio de Nanotecnología y Bionanotecnología ubicado en el edificio G planta baja, de la Universidad Autónoma Metropolitana unidad Azcapotzalco (UAM-A).

9.1. Obtención de la muestra de suelo

Se obtuvo una muestra de 20 kg de suelo de invernadero el cual se acondicionó para fines de la presente investigación.

9.2. Esterilización y fertilización del suelo con triple 17

El suelo fue esterilizado en autoclave a 121 °C y 15 psi durante 15 minutos, para eliminar los microorganismos presentes en el suelo, así como insectos que pudieran afectar a las plantas, después se añadió el fertilizante (en una relación de 1.4 g de fertilizante por cada kg de suelo) y se dejó reposar durante 2 días, posteriormente fue acondicionado con dicromato de potasio.

El T17 (fertilizante triple 17), es un producto químico soluble en agua de origen inorgánico, los fertilizantes químicos se elaboran con los nutrientes que se consideran principales para el suelo (nitrógeno, fósforo y potasio), siendo sus principales ventajas la alta concentración de nutrientes, así como su fácil manejo, mejorando los rendimientos de los cultivos (SADER, 2022). El T17 tiene la ventaja sobre otros fertilizantes de origen inorgánico, ya que cuenta con la composición necesaria para suelo y plántulas y no necesita ser complementado con otros tipos de fertilizantes, a comparación de otros que se encuentran en el mercado, los cuales necesitan de un complemento para ser eficientes.

9.3. Acondicionamiento del suelo con Cr (VI)

Se acondicionó con una solución de dicromato de potasio de 60 g/L (con un contenido de 21.2 g de Cr por cada litro de agua), se dejó reposar durante dos días, posteriormente se determinó la concentración de Cr (VI), el proceso de acondicionamiento del suelo se realizó las veces necesarias hasta obtener una concentración de Cr (VI) dentro del intervalo de 90 a 100 mg/L.

Para cada proceso de fitorremediación, el suelo a utilizar fue esterilizado, fertilizado y acondicionado con dicromato de potasio. Debido a que los procesos fueron realizados en periodos diferentes, éstos fueron preparados previo a su uso, para evitar que microorganismos externos pudieran contaminar y biorremediar el suelo antes de comenzar los procesos de fitorremediación.

9.4. Caracterización del suelo

Se determinó el pH según lo establecido en la NOM-147-SEMARNAT/SSA1-2004 (sección B.1 de su apéndice). Los parámetros de materia orgánica, humedad, capacidad de retención del agua, fósforo y nitrógeno inorgánico, se determinaron según lo establecido por la NOM-021-SEMARNAT-2000, para conocer el nivel de fertilidad del suelo.

Se realizó la caracterización del suelo antes de su acondicionamiento (dicho suelo fue utilizado en los sistemas del apartado 10.9) así como en las semanas previa al montaje, 4 y 8. Todo lo anterior para conocer cuáles fueron los parámetros y concentraciones que cambiaron durante el proceso que duró 8 semanas, los procedimientos que se describen en los apartados siguientes.

9.4.1. Determinación del pH del suelo

Se pesaron 20 g de suelo en un vaso de plástico para posteriormente añadirle 20 mL de agua Milli-Q, después fue cubierto y se mantuvo en agitación durante un lapso de 5 minutos. Finalmente se dejó reposar durante 1 hora para posteriormente determinar el pH al sobrenadante, lo anterior se realizó por triplicado.

9.4.2. Determinación del porcentaje de humedad

Se determinó la cantidad de agua que se encuentra presente en el suelo mediante gravimetría, para esto se colocaron en una charola de aluminio, limpia y seca, 10 g de una muestra de suelo y ésta se llevó a peso constante en una estufa a 105 °C durante 24 horas, posterior a este tiempo se sacó la charola y se colocó en el desecador, para después determinar su peso. La determinación se realizó por triplicado.

El porcentaje de humedad se obtuvo haciendo uso de la ecuación 1.

$$\%humedad = \frac{PSh - PSs}{PSs} \times 100 \quad \text{ecuación 1}$$

Donde:

- ❖ PSh= Peso del suelo húmedo (g)
- ❖ PSs= Peso del suelo seco (g)

9.4.3. Determinación de materia orgánica en el suelo

La técnica se basa en calcular la cantidad presente de C en la muestra.

Se colocaron 0.5 g de la muestra de suelo dentro de un matraz de 250 mL, y se le agregaron 10 mL de dicromato de potasio ($K_2Cr_2O_7$) 1 N y 20 mL de ácido sulfúrico concentrado (H_2SO_4), agitando el matraz durante un minuto, posteriormente se dejó reposar durante 30 minutos. Una vez terminado el reposo se le agregaron 200 mL de agua destilada, 5 mL de ácido fosfórico concentrado (H_3PO_4) y 5 gotas de difenilamina (0.03 M). Por último, la muestra y los blancos fueron titulados con sulfato ferroso ($FeSO_4$, 1 M), vertiéndolo gota a gota hasta obtener un tono verde claro.

Para obtener el porcentaje de materia orgánica es necesario conocer el porcentaje de carbono orgánico y para eso se utilizó la ecuación 2.

$$\%C_{orgánico} = \left(\frac{B - T}{g} \right) (N)(0.39)(mcf) \quad \text{ecuación 2}$$

Donde:

- ❖ B= Volumen del sulfato ferroso para realizar la valoración del blanco (mL)
- ❖ T= Volumen de sulfato ferroso para realizar la valoración de la muestra (mL)
- ❖ N=Normalidad exacta del sulfato ferroso
- ❖ mcf= Factor de correlación de humedad

❖ W=Peso de muestra (g)

Una vez conocido el porcentaje de carbono orgánico se puede determinar el porcentaje de la materia orgánica haciendo uso de la ecuación 3.

$$\%M.O. = (\% C_{orgánico})(1.724) \quad \text{ecuación 3}$$

9.4.4. Cálculo de la capacidad de retención del agua

La capacidad de retención del agua es una prueba que permite conocer la textura y la porosidad del suelo, para ello se pesaron 10 g de una muestra de suelo seco y se colocaron en un matraz de 250 mL añadiéndoles 50 mL de agua destilada, posteriormente se dejó reposar durante 24 horas, terminado este tiempo la muestra fue filtrada con papel filtro Whatman del número 2, el volumen del filtrado fue medido con ayuda de una probeta.

Para obtener la capacidad de retención del agua se hizo uso de la ecuación 4.

$$CRA = \frac{V_i - V_f}{W} \quad \text{ecuación 4}$$

Donde:

- ❖ V_i = Volumen de agua colocada a la muestra de suelo (mL)
- ❖ V_f = Volumen de agua obtenida posterior a la filtración (mL)
- ❖ W= Peso de la muestra (mL)

9.4.5. Cálculo del nitrógeno inorgánico

Se determinó mediante el método micro-Lkjeldahl.

Se pesaron 5 g de la muestra y se colocaron en un matraz de 125 mL, posteriormente se agregaron 50 mL de solución de cloruro de potasio (KCl [2N]), se mantuvo en agitación constante por 1 hora para después filtrar la solución con papel filtro Whatman del número 2. Se colocó en el destilador una alícuota de 20 mL del extracto del suelo, adicionándole 0.2 g de MgO calcinado y 0.2 g de aleación de Devarda. La muestra destilada fue recibida en un matraz que contenía 10 mL de ácido bórico (H_3BO_3), hasta obtener un volumen de 30 mL aproximadamente. La muestra se tituló con H_2SO_4 a 0.005 N hasta notar un cambio en la coloración de la muestra que va de un color verde a un tono rozado tenue. De esta manera también se tituló el blanco.

Se determinó la cantidad de nitrógeno inorgánico haciendo uso de la ecuación 5.

$$\text{Nitrógeno inorgánico (ppm)} = (V_m - V_b)(N)(14) \left(\frac{V_e}{a} \right) \left(\frac{1}{W} \right) (1000) \quad \text{ecuación 5}$$

Donde:

- ❖ V_m = Volumen de H_2SO_4 utilizado para realizar la titulación la muestra (mL)
- ❖ V_b = Volumen de H_2SO_4 utilizado para realizar la titulación el blanco (mL)
- ❖ N= Normalidad exacta del H_2SO_4 [0.005 N]
- ❖ V_e = Volumen del extractante (mL)
- ❖ W= Peso de la muestra (g)
- ❖ a= Alícuota destilada (mL)

9.4.6. Determinación del fósforo

Para la determinación del P presente en la muestra, fue necesario obtener una curva de calibración, con valores de 0 a 1 mg L⁻¹ con incrementos de 0.2 mg L⁻¹, para esto se tomaron de una solución de fósforo 0.0002M volúmenes de 0 a 1 mL y se colocaron en matraces con una capacidad de 10 mL, y se llevaron a un volumen aproximado de 4 mL con agua destilada sin aforar, posteriormente se adicionaron 0.5 mL de solución reductora con ácido ascórbico (C₆H₈O₆), para finalmente aforar el matraz con agua destilada a 10 mL, posteriormente se dejó reposar por un lapso de 30 minutos, pasado este periodo se realizó la lectura de la absorbancia a 882 nm de longitud de onda.

Se tomaron 0.5 g de la muestra de suelo para determinar la cantidad de P presente, los cuales se colocaron en un vaso de precipitados con 10 mL de solución extractora, el cual se agitó durante 30 minutos para después filtrar con papel filtro Whatman del número 2. Se tomó del filtrado una alícuota de 1 mL y se colocó dentro de un matraz de 10 mL agregándole 5 mL de solución reductora, se agitó y se aforó con solución reductora a 10 mL, se dejó reposar durante 30 minutos y finalmente a 882 nm de longitud onda se realizó la lectura del máximo de absorbancia.

Para finalizar, la concentración de fósforo aprovechable se determinó haciendo uso de la ecuación 6.

$$\frac{\text{mg de fósforo}}{\text{Kg de suelo}} = (C) \left(\frac{V_i}{P} \right) \left(\frac{V_f}{a} \right) \quad \text{ecuación 6}$$

Donde:

- ❖ C= Concentración de fósforo en la solución (mg/L)
- ❖ Vi= Volumen de la solución extractora adicionada (L)
- ❖ Vf= Volumen de la solución colorimétrica a medir (L)
- ❖ a= Alícuota de la muestra para cuantificar (L)

9.5. Aislamiento y determinación de la pureza de una colonia

Se realizó el aislamiento de una bacteria nativa del suelo antes de ser esterilizado, con la finalidad de ser utilizada en conjunto en el proceso de fitorremediación y así evaluar si se favorece o no la remoción del Cr (VI). Para lo cual se tomaron 10 g de suelo, y se resuspendieron en un vaso con 20 mL de agua destilada, se colocó en agitación durante 5 minutos y posteriormente se dejó reposar durante una hora.

Después, se realizó una dilución por estrías en 5 campos en 3 cajas Petri con agar nutritivo, para comprobar la presencia de bacterias. Se ha demostrado que las *Pseudomonas sp.*, son buenas colaboradoras en procesos de fitorremediación y que algunas especies tienen la capacidad de remover Cr (VI), para lo cual, una vez que se encontró una colonia con morfología de bacilos cortos Gram negativos en agar nutritivo, morfología característica de la *Pseudomonas sp.*, se usó agar selectivo de *Pseudomonas* para su aislamiento e identificación mediante pruebas metabólicas y bioquímicas (Chávez, 2022).

9.5.1. Pruebas de identificación de la bacteria

Debido a que en la tinción de Gram se observó la presencia de bacilos cortos Gram negativos, se hicieron diluciones por estrías en 5 campos en 5 cajas Petri con agar selectivo de *Pseudomonas*, esto con la finalidad de encontrar colonias puras, dicho proceso se repitió 6 veces. Una vez encontrada una colonia aislada con bacilos cortos Gram negativos, se llevaron a cabo las pruebas metabólicas y bioquímicas para su identificación.

Todas las pruebas descritas a continuación se realizaron por triplicado.

A partir de la comprobación al microscopio de la pureza de una colonia aislada, se hicieron resiembras en caldo nutritivo para las pruebas de identificación, comenzando por determinar si se trataba de un microorganismo aerobio o anaerobio. Para lo cual se prepararon 3 tubos de agar nutritivo fundido, y se inocularon introduciendo un aplicador hasta el fondo del tubo moviéndolo de un lado a otro para así distribuir bien las bacterias, posteriormente los tubos se dejaron enfriar a temperatura ambiente en una gradilla de manera vertical, después se incubaron a 37 °C de 24 a 48 horas, una vez transcurrido este lapso se observó si las bacterias se desarrollaban en el fondo o en la superficie del tubo.

Por otra parte, se realizaron pruebas de fermentación de carbohidratos en tubos de fermentación (con campana Durham), para manosa, lactosa, sacarosa, galactosa y rafinosa, los cuales se inocularon asépticamente con el microorganismo previamente aislado y se incubaron durante 24 horas.

Con respecto a las pruebas bioquímicas, se prepararon los siguientes medios:

- SIM; el cual nos permite determinar la movilidad, así como la producción de sulfuros, para lo cual los tubos fueron inoculados por picadura en el centro, y se colocaron en incubación a 37 °C durante 24 horas, observando así cambios en el medio.
- SIMMONS; el cual se basa en la utilidad el citrato como única fuente de carbono, para dicha prueba se inoculó por estría, se incubó durante 24 horas, una respuesta positiva es un vire de verde a azul.

Una vez realizadas dichas pruebas, para confirmar la presencia de *Pseudomonas sp.* debe cumplir con ser una bacteria aerobia, con respuesta positiva en las pruebas de fermentación. En la prueba de SIM, positivo para la formación de sulfuros, así como la presencia de movilidad. Por último, en la prueba de SIMMONS una respuesta positiva, con vire de color verde a azul.

9.6. Preparación de los sistemas para el proceso de fitorremediación

9.6.1. Obtención de brotes de *H. annuus* en algodón

Para la determinación de la eficiencia de remoción del Cr (VI), se germinaron las semillas de la especie *H. annuus*, belleza otoñal y gigante, en cajas Petri con algodón (Figura 4) durante 7 días, donde se logró observar el brote de la raíz, las cuales se utilizaron posteriormente en los sistemas de fitorremediación.



Figura 4. Cajas Petri con semillas de *H. annuus* para su germinación.

9.6.2. Trasplante de los brotes de *H. annuus* a los sistemas

Una vez obtenidas los brotes en las semillas, estas fueron colocadas en los sistemas de acuerdo con lo que se describe en la Tabla 6, tomando dos semillas para cada sistema de fitorremediación, las determinaciones del Cr (VI) no removido se realizaron cada semana a partir de la segunda, cada determinación se realizó por triplicado.

Tabla 6. Diseño de los sistemas necesarios para el proceso de fitorremediación.

	Sistemas	Número de macetas	Fitorremediación	Cantidad de suelo	Determinación de Cr (VI)
Experimento	GG1	30	Sin <i>Pseudomonas sp.</i>	200 g	Cada semana a partir de la segunda
	GG2	30	Con <i>Pseudomonas sp.</i>	200 g	
	GB1	30	Sin <i>Pseudomonas sp.</i>	200 g	
	GB2	30	Con <i>Pseudomonas sp.</i>	200 g	
	Control 1, sin plántulas	9	Sin <i>Pseudomonas sp.</i>	200 g	Se determinará en la semana 2, 5 y 8.
	Control 2, sin plántulas	9	Con <i>Pseudomonas sp.</i>	200 g	
	GGT	3	--	200 g	No aplica
	GBT	3		200 g	

- GG: girasol gigante
- GB: girasol belleza
- GGT: girasol gigante en suelo no esterilizado
- GBT: girasol belleza en suelo no esterilizado

En el caso del control 1 y 2 fueron necesarias 9 macetas, ya que las determinaciones fueron en la semana 2, 5 y 8, por triplicado. Para el caso de los procesos de fitorremediación se colocaron 30 de cada uno (esto con el fin de contemplar un exceso de 3 sistemas) ya que las determinaciones se realizaron por triplicado, cada semana a partir de la semana dos de experimentación.

En los sistemas GGT y GBT se evaluó el crecimiento de las plántulas de *H. annuus* gigante y belleza otoñal respectivamente en suelo sin esterilizar y sin acondicionar con Cr (VI), esto con el fin de observar los cambios físicos con los que crecían las plántulas en comparación con las provenientes de los sistemas.

9.7. Curva de calibración de Cr (VI) por espectrofotometría de ultravioleta-visible

La determinación del Cr (VI) fue realizada según lo descrito en la metodología propuesta por Gómez y colaboradores (2020). Para lo cual se prepararon 100 mL a una concentración de 500 mg L⁻¹ de Cr (VI), a partir de dicromato de potasio (K₂Cr₂O₇). Por otra parte, se preparó una solución de 25 mL de difenilcarbazida 0.02 M disuelta en acetona, justo al momento de ser utilizada, la cual fue colocada en una botella de vidrio cubierta con papel aluminio hasta su utilización, para formar un complejo entre el Cr (VI) y la difenilcarbazida, el cual adquiere un tono rosado, la medición del complejo fue realizada espectrofotométricamente.

A partir de las soluciones anteriores se prepararon diluciones de Cr(VI), con concentraciones de 0 mg L⁻¹ a 50 mg L⁻¹ con incrementos de 5 mg L⁻¹, se ajustó el pH a 2 de cada disolución con ácido sulfúrico (H₂SO₄) a 2 M. Posteriormente, se colocaron 300 µL de cada una de las disoluciones de Cr(VI) en matraces de aforo de 10mL, donde también se agregaron 200 µL de difenilcarbazida, cada matraz se aforó inmediatamente con agua Milli-Q a 10 mL, cada complejo de cada concentración se preparó por triplicado.

Finalmente, de cada complejo formado se colocaron 300 µL, por triplicado, en una placa de 96 pocillos y fueron medidos a 542 nm en el espectrofotómetro EPOCH2 de BIOTEK.

9.8. Determinación del cromo hexavalente no removido en suelo

Para conocer el Cr (VI) remanente en el suelo se realizó según lo descrito en la metodología propuesta por Gómez y colaboradores (2020), para lo cual se tomaron 3 macetas de acuerdo con la periodicidad establecida en la Tabla 6, retirando la plántula de la maceta y removiendo el suelo de sus raíces para homogenizarlo con el suelo restante en la maceta, una vez mezclados se tomó una muestra representativa de 10 g, a los cuales se les agregaron 20 mL de agua, se colocaron en agitación orbital durante 1 hora y se dejaron reposar 30 min. Posteriormente se tomaron 6 mL del sobrenadante y se centrifugaron a 5 G, durante 10 minutos a una temperatura de 4 °C, por triplicado. Al terminar se retiró el sobrenadante y fue recolectado en un tubo de ensayo (por cada muestra), posteriormente se ajustó el pH a 2 utilizando H₂SO₄ a concentración 2 M.

Se tomaron 300 µL del sobrenadante con el pH ajustado y fueron colocados dentro de un matraz con una capacidad de 10 mL en el cual se adicionaron 200 µL de difenilcarbazida para formar el complejo, posteriormente con agua Milli-Q se aforó a 10 mL.

Al finalizar, se colocaron 300 µL del complejo formado en una placa de 96 pocillos, se determinó su absorbancia a una longitud de onda de 542 nm, dicho procedimiento fue realizado por triplicado.

9.9. Cromo hexavalente presente en las plantas

Para determinar la presencia de Cr (VI) en las plantas removidas en el apartado 9.8, estas fueron seccionadas (raíz, tallos y hojas), colocándolas por separado en charolas en un horno de secado a 70 °C durante 48 horas, posteriormente se les agregaron 3 mL de agua Milli-Q a cada tubo, y se colocaron a sonicar durante 60 minutos. Después, se tomaron 300 µL del sobrenadante y fueron colocados en matraces de 10 mL, adicionando 200 µL de difenilcarbazida para formar el complejo, posteriormente con agua Milli-Q se aforó a 10 mL.

Finalmente se colocaron 300 µL de cada uno de los complejos en una placa de 96 pocillos, se determinó su absorbancia a una longitud de onda de 542 nm, dicha determinación se realizó según lo descrito por Zayed y colaboradores (1998). Esta medición fue realizada durante las semanas 4 y 8 de los procesos de fitorremediación, esto con la finalidad de que existiera una diferencia significativa de Cr (VI) en el interior de la plántula, las mediciones fueron realizadas por triplicado.

9.10. Análisis de resultados

Se analizaron los porcentajes de remoción obtenidos cada semana, comparando el porcentaje de Cr (VI) remanente con respecto a la concentración inicial, los resultados obtenidos se fueron graficando con respecto al tiempo de fitorremediación. Este análisis se realizó tanto para el método de fitorremediación, como para la fitorremediación en presencia de *Pseudomonas sp.*, para así obtener con cuál de ellas se obtuvieron resultados más significativos. En cuanto a las plantas se cuantificó el Cr (VI) contenidas en cada una de ellas durante la semana 4 y 8.

10. Resultados

10.1. Curva patrón del fósforo

En la Figura 5 se muestra la curva de calibración con respecto a la absorbancia a una longitud de onda de 882 nm, así como la ecuación de la recta (ecuación 7), la cual sirvió para determinar el P presente en el suelo, donde [P] representa la concentración del fósforo en mg L⁻¹ y A el valor de absorbancia obtenido experimentalmente.

$$A = 1.3299[P] + 0.1534 \quad \text{ecuación 7}$$

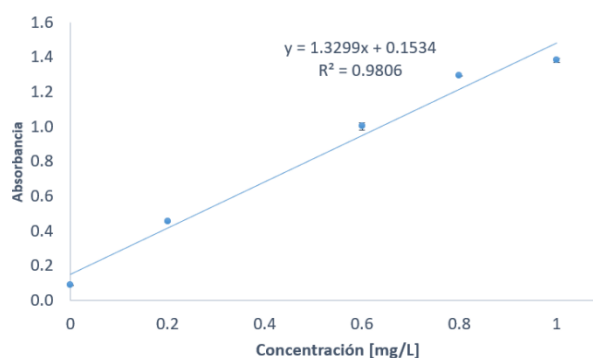


Figura 5. Curva patrón del fósforo.

10.2. Curva de calibración de Cr (VI) por espectrofotometría de ultravioleta-visible

En la Figura 6 se muestra la curva de calibración, para la cual se prepararon soluciones en un intervalo de 0 mg kg⁻¹ a 50 mg kg⁻¹ con incrementos de 5 mg kg⁻¹, en ella se describe el comportamiento a diferentes concentraciones de Cr (VI) con respecto a la absorbancia determinada a 542 nm de longitud de onda.

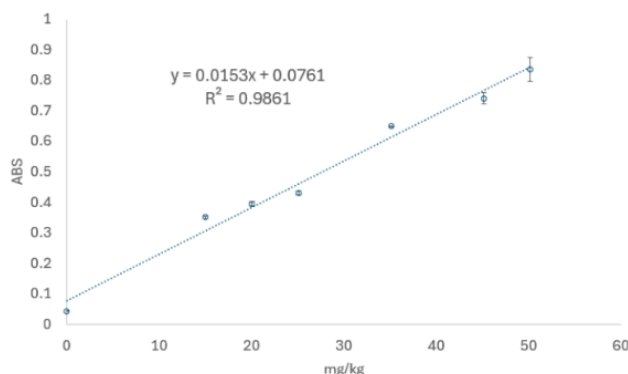


Figura 6. Curva patrón del Cr (VI).

De la gráfica anterior se obtuvo la ecuación 8, que describe el comportamiento del Cr (VI) con respecto a su absorbancia.

$$A = 0.0153 [Cr(VI)] + 0.0761 \text{ ecuación 8}$$

Donde:

A= Absorbancia

[Cr (VI)]= Concentración de Cr (VI), (mg/kg)

10.3. Experimento GG1. Evaluación del proceso de fitorremediación con *H. annuus* gigante

10.3.1. Preparación de los sistemas para el proceso de fitorremediación

Se colocaron 30 sistemas con las plántulas de *H. annuus* gigante las cuales fueron previamente germinadas en cajas Petri con algodón, regadas con agua de la llave durante una semana (Figura 7), conforme ésta fue requerida, dichos sistemas contaban con 200 g de suelo acondicionado con dicromato de potasio a una concentración 60.18 mg kg⁻¹ (con una concentración inicial de Cr (VI) de 90.63 ± 0.018 mg kg⁻¹).



Figura 7. Sistemas de fitorremediación de *H. annuus*.

10.3.2. Caracterización del suelo durante los sistemas de fitorremediación con *H. annuus* gigante

Se realizó la caracterización durante la semana previa al montaje, así como durante las semanas 4 y 8 (Tabla 7).

A lo largo de las 8 semanas el suelo se mantuvo con un pH neutro (dentro del intervalo de 6.6 a 7.3), lo cual resulta favorable para el desarrollo de las plantas. En cuanto a la capacidad de retención de agua por gramo de suelo, se puede observar que ésta disminuyó durante la semana 4, y aumentó para la semana 8, la disminución en la capacidad de retención de agua se relaciona con la porosidad del suelo, ya que se provoca un drenaje mucho más rápido, suelos con un alto contenido de materia orgánica y una rica microfauna provocan una buena estructura del suelo, debido a que nuestro suelo fue esterilizado esto provocó variaciones en la retención de agua como lo reporta Gómez (2021), sin afectar la disponibilidad de agua para el desarrollo de las plantas, ya que nunca se llegó al punto de marchitez. Al igual que para el caso de la retención de agua, con respecto al porcentaje de humedad se observó una disminución durante la semana 4 y un aumento para el final de la experimentación, sin afectar a las plantas, esto se debe a que los porcentajes de humedad óptimos varían entre el 20 y el 60%, ya que menores a estos se tendría un déficit de humedad, y por el contrario mayor a esto se contaría con un exceso de humedad en ambos casos se dañaría a las plantas. En cuanto al porcentaje de materia orgánica se mantuvo en intervalos de entre el 20 y 35 %, durante las 8 semanas permitiendo así absorber el agua necesaria para las plantas, sin ocasionar un exceso de humedad. La concentración de fósforo tuvo un aumento a lo largo de la experimentación, siempre manteniéndose en el rango de alto contenido disponible para las plantas. Para el caso del nitrógeno inorgánico se presentó una disminución para la semana 8, cambiando de un muy alto contenido a un alto contenido, sin afectar a la especie dicho cambio se ve relacionado con el ciclo del nitrógeno, ya que si bien el nitrógeno colocado por medio de los fertilizantes es consumido por las plantas una parte de este ingresa al ciclo del nitrógeno, este se encuentra en el suelo en forma de amoníaco el cual es transformado por bacterias *Nitrobacter* presentes en el suelo, ya que éste al haber sido esterilizado perdió estos microorganismos, por lo tanto las modificaciones los cambios en la cantidad de nitrógeno se presentaron después de las 4 semanas y no antes (American Chemical Society, 2010.)

Tabla 7. Caracterización del suelo en las semanas: previa al montaje, 4 y 8 para el *H. annuus* gigante.

Parámetros	Semana		
	Previo al montaje	4	8
pH	6.86	6.68	6.95
Retención de agua (mL/g)	0.60	0.45	1.00
Humedad (%)	49.62	34.78	50.38
Fósforo (mg/kg)	23.85	36.33	44.15
Materia orgánica (%)	33.08	26.36	24.74
Nitrógeno inorgánico (mg/kg)	68.00	84.00	49.00

10.3.3. Determinación del cromo hexavalente remanente en los sistemas de fitorremediación para *H. annuus* gigante en el suelo

A partir de la segunda semana de experimentación, las mediciones se realizaron cada semana.

Para el caso del *H. annuus* gigante se observó una disminución del Cr (VI) del 45.28%, con respecto a la concentración inicial de $90.63 \pm 0.018 \text{ mg kg}^{-1}$ teniendo un mayor porcentaje de remoción durante las primeras 4 semanas, posteriormente la remoción del Cr (VI) fue más lenta, por dicho motivo se decidió alargar 2 semanas más el proceso de fitorremediación y así conocer su comportamiento. Durante las semanas 9 y 10 se removió el 14.06% de la concentración inicial, por lo tanto, se removió un 54.72% al finalizar las 10 semanas, restando un 45.28% remanente en el suelo. Lo anterior se puede observar en la Figura 8.

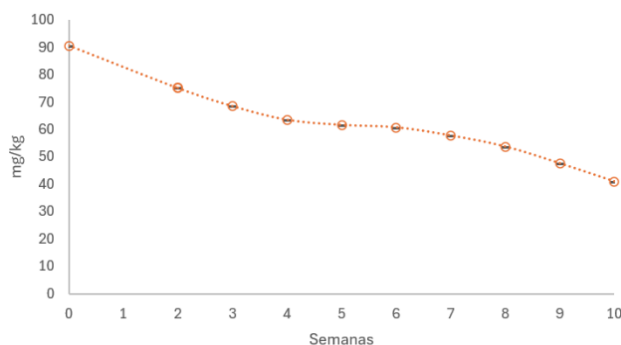


Figura 8. Concentración de Cr (VI) removido en los sistemas de *H. annuus* gigante.

Si bien de manera ideal se debió buscar una remoción del 100 % de la concentración de Cr (VI) presente el suelo, esto no fue posible debido a la falta de sistemas para realizar dichas pruebas, ya que en un inicio solamente se planeaba hacer el análisis durante 8 semanas, pero debido a los resultados observados se decidió alargar la experimentación un par de semanas más gracias a que se contaba con algunos sistemas colocados en exceso.

10.3.4. Determinación del cromo hexavalente presente en el *H. annuus* gigante

Se midió la presencia de Cr (VI) en las plántulas en las semanas 4 y 8, en las secciones; raíz, tallo y hojas, cada una por separado.

Con respecto a la semana 4, el promedio de la concentración de Cr (VI) presente en las plántulas fue de $22.28 \pm 0.02 \text{ mg kg}^{-1}$, de los cuales el 71.52% se encontraba en el tallo y el resto en raíz y hojas (Figura 9a).

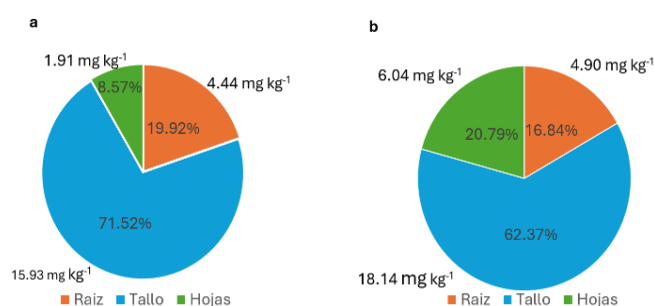


Figura 9. Porcentaje de Cr (VI) presente en las secciones del *H. annuus* gigante: a. semana 4 b. semana 8.

Para la semana 8, la concentración total de Cr (VI) en la plántula fue de $29.08 \pm 0.02 \text{ mg kg}^{-1}$, de los cuales el 62.37% (18.14 mg kg^{-1}) se encontraba contenido en el tallo, demostrando que es la parte en la que más se acumula el Cr (VI), el resto se distribuyó en porcentajes muy cercanos entre hojas y raíces, 20.79 y 16.84 %, respectivamente (Figura 9b).

Con lo anterior queda demostrado que el *H. annuus* gigante tiene mayor eficiencia en la acumulación de Cr (VI) en sus primeras semanas de crecimiento, ya que fue cuando hubo una fitorremediación más significativa, además que conforme siguió el experimento la plántula siguió removiendo Cr (VI) pero en menor cantidad, logrando acumular el 32.09% con respecto a la concentración inicial presente en el suelo ($90.63 \pm 0.018 \text{ mg kg}^{-1}$).

10.3.5. Aislamiento e identificación de la bacteria

Se realizó el aislamiento de un microorganismo mediante dilución por estrías en 5 campos, logrando obtener una colonia con una morfología bacteriana conformada por bacilos cortos Gram negativos, la cual macroscópicamente se observó de color blanca lechosa, con relieve, de forma circular y estructura blanda.

10.3.5.1. Pruebas de identificación de *Pseudomonas* sp.

Se realizaron las pruebas para la identificación del microorganismo, donde se obtuvo que el microorganismo era aerobio (característica de las *Pseudomonas* sp.) debido a que, una vez transcurrido el tiempo de inoculación mencionado anteriormente en la metodología 9.5, el desarrollo microbiano se localizó en la superficie del tubo del tubo de agar.

En cuanto a la prueba realizada en medio SIM se observó que el microorganismo cuenta con movilidad, así como la capacidad de formar sulfuros, como también se demostró que el microorganismo utiliza el citrato como fuente de carbono, ya que la prueba en agar de SIMMONS, resultado positiva, debido a que se observó un cambio de coloración a un tono azul después de las 24 horas de incubación. En cuanto a las pruebas de fermentación en carbohidratos se observó un vire de un color rojo a amarillo en todos los medios de carbohidratos, así como presencia de gas en la campana de Durham y turbidez en los tubos, característica que presentan las *Pseudomonas sp.* demostrando así que en efecto el microorganismo aislado es del género *Pseudomonas sp.*

A partir de la confirmación, esta bacteria fue usada en los procesos de fitorremediación con adición de bacteria.

10.4. Experimento GG2. Evaluación del proceso de fitorremediación con *H. annuus gigante* en presencia de *Pseudomonas sp.*

10.4.1. Preparación de los sistemas para el proceso de fitorremediación

Los sistemas de fitorremediación en presencia de *Pseudomonas sp.* consistieron en 200 g de suelo previamente fertilizado y acondicionado, colocados en un vaso (Figura 10), a los cuales se les agregó 5 mL de caldo nutritivo (el cual contenía *Pseudomonas sp.* previamente aislada), en dichos sistemas se hizo uso de plántulas previamente germinadas en cajas Petri durante una semana.



Figura 10. Sistema de fitorremediación en presencia de *Pseudomonas sp.*

10.4.2. Caracterización del suelo de los sistemas de fitorremediación para *H. annuus gigante* en presencia de *Pseudomonas sp.*

Para el suelo proveniente de los sistemas de fitorremediación en presencia de *Pseudomonas sp.* y *H. annuus gigante* se puede observar que a lo largo del experimento el suelo se mantuvo con un pH neutro dentro del intervalo de 6.6 a 7.3, lo cual resulta favorable para el desarrollo de las plantas. En cuanto a la capacidad de retención de agua por gramo de suelo, ésta tuvo variaciones durante las semanas de experimentación, sin afectar la disponibilidad de agua para el desarrollo de las plantas. Respecto al porcentaje de humedad se observaron variaciones sin afectar a las plantas, esto se debe a que los porcentajes de humedad óptimos varían entre el 20 y el 60%, para evitar llegar al punto de marchitez, así como también evitar encharcamientos. En cuanto al porcentaje de materia orgánica se mantuvo con un muy alto contenido según los establecido por la norma, a pesar de las variaciones a lo largo de la experimentación.

La concentración de fósforo aumentó durante la experimentación siempre manteniéndose en un alto contenido disponible para las plantas, dicha variación no perjudicó a la especie, ya que cuando se tiene tanto un exceso como una deficiencia en estos nutrientes las especies cambian su crecimiento, y en el caso de las especies crecían en promedio 1.9 cm por semana. Para el caso del nitrógeno inorgánico se presentó un aumento de un alto contenido en la semana previa al montaje a un muy alto contenido, manteniéndose así para la semana 8, el cual pudo ser aprovechado por las plantas lo cual se relaciona con el ciclo del nitrógeno (Tabla 8).

Tabla 8. Caracterización del suelo en las semanas: previa al montaje, 4 y 8 para el *H. annuus* gigante en presencia de *Pseudomonas* sp.

Parámetros	Semana		
	Previo al montaje	4	8
pH	6.98	6.87	6.89
Retención de agua (mL/g)	0.45	0.55	0.50
Humedad (%)	35.45	46.32	34.95
Fósforo (mg/kg)	77.24	90.92	128.22
Materia orgánica (%)	20.74	25.54	41.96
Nitrógeno inorgánico (mg/kg)	42.00	80.50	129.50

10.4.3. Cromo hexavalente remanente en los sistemas de fitorremediación para *H. annuus* gigante en presencia de *Pseudomonas* sp.

Se determinó la concentración de Cr (VI) remanente en los sistemas de fitorremediación en presencia de *Pseudomonas* sp., obteniéndose que para la semana 10 la concentración inicial disminuyó un 57.53% de la concentración inicial que era de $93.15 \pm 0.03 \text{ mg kg}^{-1}$, lo anterior se puede observar en la Figura 11, donde se puede observar también que los mayores porcentajes de remoción ocurrieron durante las primeras 4 semanas (se removió un 34.15 % de la concentración inicial), posterior a esta semana el porcentaje de remoción fue menor.

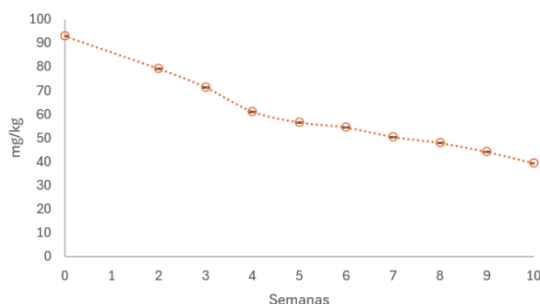


Figura 11. Resultados de fitorremediación en presencia de *Pseudomonas* sp. para *H. annuus* gigante.

10.4.4. Determinación del cromo hexavalente presente en el *H. annuus* gigante en presencia de *Pseudomonas* sp.

Se determinó la presencia de Cr (VI) durante las semanas 4 y 8 en las secciones de las plántulas por separado (raíz, tallo y hojas).

El promedio de la concentración de Cr (VI) presente en las plántulas durante la semana 4 fue de $23.19 \pm 0.01 \text{ mg kg}^{-1}$, de los cuales el 60.75% se encontraba en el tallo, y el resto en raíz y hojas (20.71 y 18.53% respectivamente) como se muestra en Figura 12a.

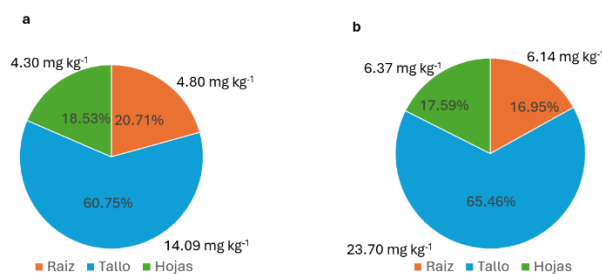


Figura 12. Porcentaje de Cr (VI) presente en las secciones del *H. annuus* gigante en presencia de *Pseudomonas* sp.; a. semana 4 b. semana 8.

La concentración de Cr (VI) en la plántula durante la semana 8 fue de $36.21 \pm 0.01 \text{ mg kg}^{-1}$, de los cuales el 65.46% se encontraba en el tallo, el 34.54 % restante se estaba distribuido entre raíz y hojas, 16.95 y 17.59 % respectivamente (Figura 12b).

Demostrando que el *H. annuus* gigante tiene una mayor eficiencia en acumulación de Cr (VI) durante sus primeras semanas de crecimiento, ya que en dicha etapa se logró remover del suelo una concentración de Cr (VI) más significativa, para las siguientes semanas la plántula no dejó de remover Cr (VI), logrando para la semana 8 acumular un 38.87% de la concentración inicial ($93.15 \pm 0.030 \text{ mg kg}^{-1}$).

10.5. Experimento GB1. Evaluación del proceso de fitorremediación con *H. annuus* belleza otoñal

10.5.1. Caracterización del suelo de los sistemas de fitorremediación *H. annuus* belleza otoñal

Se realizó la caracterización del suelo proveniente de los sistemas de fitorremediación para el *H. annuus* belleza otoñal, durante la semana previa al montaje y en las semanas 4 y 8.

Se puede observar que el pH se mantuvo neutro (dentro del intervalo de 6.6 a 7.3) a lo largo de las 8 semanas, por lo tanto, las plantas no se vieron afectadas en su desarrollo. En cuanto a la capacidad de retención de agua por gramo de suelo, para la semana 4 ocurrió una disminución y un aumento en la semana 8, sin afectar la disponibilidad de agua de manera drástica para las plantas. Se observó el mismo comportamiento para la humedad que el obtenido para la retención de agua, siempre manteniéndose en porcentajes menores al 60 %, evitando de esta manera llegar al exceso de humedad, exceder ese porcentaje hubiera afectado al desarrollo de las plantas. En el porcentaje de materia orgánica se observó una disminución durante semana 4, y un aumento para la semana 8 siempre manteniéndose con un muy alto contenido de ella, el cual es necesario para absorber la cantidad de agua necesaria y así evitar el exceso de humedad en el suelo, y con él la muerte de las plantas. La disponibilidad de fósforo aumentó a lo largo de las 8 semanas, manteniéndose en un alto contenido en el caso del fósforo, según los establecido por la norma, las variaciones no afectaron a la especie, ya que se observó un crecimiento homogéneo a lo largo de las semanas. Para el nitrógeno inorgánico se observó un aumento a lo largo de las 8 semanas, manteniéndose en muy alto contenido disponible en el suelo dichas variaciones son relacionadas con la transformación del ciclo del nitrógeno con la adición de fertilizantes (Tabla 9).

Tabla 9. Caracterización del suelo en las semanas previa al montaje, 4 y 8, para *H. annuus* belleza otoñal.

Parámetros	Semana		
	Previo al montaje	4	8
pH	6.86	7.23	7.12
Retención de agua (mL/g)	0.60	0.55	0.75
Humedad (%)	49.62	43.26	48.37
Fósforo (mg/kg)	24.85	40.09	53.48
Materia orgánica (%)	33.08	24.47	30.93
Nitrógeno inorgánico (mg/kg)	68.00	76.20	91.00

10.5.2. Cromo hexavalente remanente en los sistemas de fitorremediación para *H. annuus* belleza otoñal

Se obtuvo la concentración de Cr (VI) remanente en los sistemas de fitorremediación, observándose que para la semana 10 la concentración inicial disminuyó un 80.17 % de la concentración inicial que era de $90.63 \pm 0.018 \text{ mg kg}^{-1}$, lo anterior se muestra en la Figura 13, donde también se puede observar que la especie tiene mayor capacidad de remoción a partir de la semana 6, ya que hasta esta semana se había logrado remover únicamente el 32.21% de la concentración inicial, y de las semanas 6 a la 10 un 47.96% de la concentración inicial.

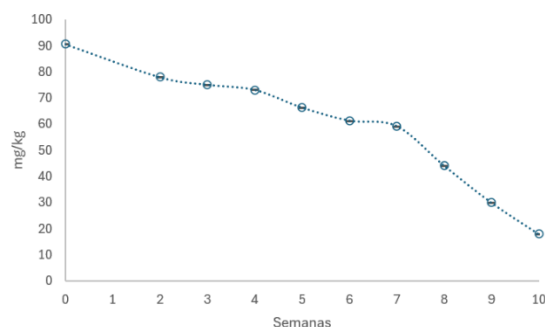


Figura 13. Resultados de fitorremediación para *H. annuus* belleza otoñal.

A diferencia de *H. annuus* gigante, donde el mayor porcentaje de remoción ocurrió en las primeras semanas de desarrollo, para *H. annuus* belleza otoñal, la remoción más significativa fue a partir de la semana 6, obteniéndose en la semana 10 mayor remoción en *H. annuus* belleza otoñal con un 80.17 % removido, en comparación con el 54.71 % de *H. annuus* gigante.

10.5.3. Determinación del cromo hexavalente removido por *H. annuus* belleza otoñal

Se determinó en las semanas 4 y 8 la presencia de Cr (VI) en las secciones de las plántulas por separado (raíz, tallo y hojas).

Durante la semana 4, la concentración total de Cr (VI) en las plántulas fue de $12.35 \pm 0.02 \text{ mg kg}^{-1}$, de los cuales el 47.11% se encontraba en tallos y el 35.57 y 17.32% en raíz y hojas respectivamente (Figura 14a).

Para la semana 8 las plántulas contenían una concentración de $39.70 \pm 0.01 \text{ mg kg}^{-1}$ de Cr (VI), de los cuales el 49.62% se encontraba acumulado en el tallo, el 50.38% restante se encontraba acumulado entre raíz y hojas (Figura 14b).

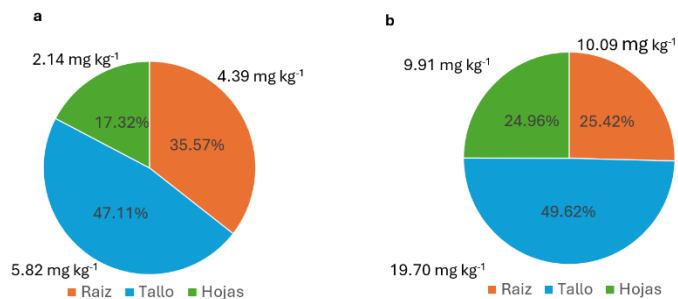


Figura 14. Porcentaje de Cr (VI) presente en las secciones del *H. annuus* belleza otoñal: a. semana 4 b. semana 8.

Con base en lo anterior, se ha demostrado que el *H. annuus* belleza otoñal logra una mayor eficiencia de acumulación de Cr (VI) a partir de la semana 4 de crecimiento, ya que en dicha etapa logró remover mayor concentración de Cr (VI) comparado con sus primeras semanas, logrando así acumular el 43.80 % de la concentración inicial de Cr (VI) en el suelo ($90.63 \pm 0.02 \text{ mg kg}^{-1}$).

10.6. Experimento GB2. Evaluación del proceso de fitorremediación con *H. annuus* belleza otoñal, en presencia de *Pseudomonas* sp.

10.6.1. Caracterización del suelo de los sistemas de fitorremediación para *H. annuus* belleza otoñal en presencia de *Pseudomonas* sp.

Se realizó durante la semana previa al montaje, así como en las semanas 4 y 8, la caracterización del suelo proveniente de los sistemas de fitorremediación en presencia de *Pseudomonas* sp. para el *H. annuus* belleza otoñal. Se puede observar que durante las semanas de experimentación a pesar de las variaciones el pH se mantuvo neutro (dentro del intervalo de 6.6 a 7.3) por lo tanto, las plantas no se vieron afectadas en su desarrollo. La capacidad de retención de agua por gramo de suelo presento variaciones durante la experimentación, sin afectar la disponibilidad de agua de manera drástica para las plantas.

El porcentaje de humedad aumentó durante la experimentación, siempre manteniéndose en porcentajes menores al 60 %, evitando de esta manera llegar al exceso de humedad y con esto evitando la presencia de encharcamientos en los sistemas, ya que exceder ese porcentaje hubiera afectado el desarrollo de las plantas, así como en porcentajes mayores al 20%, evitando así llegar al punto de marchitez. En el porcentaje de materia orgánica se observó un aumento durante la experimentación, manteniéndose con un muy alto contenido de ella según los parámetros establecidos por la norma. La disponibilidad de fósforo se mantuvo en un alto contenido con variaciones a lo largo de la experimentación, manteniéndose dentro del intervalo establecido por la norma. Para el nitrógeno inorgánico se observó un aumento, partiendo de un alto contenido en el suelo para la semana previa, a un muy alto contenido disponible en el suelo durante la semana 4 y 8, como ya se había mencionado las variaciones en el contenido de nitrógeno se relacionan a la acción de las bacterias *Nitrobacter* en la descomposición del nitrógeno que se va a incluir en el ciclo (Tabla 10).

Tabla 10. Caracterización del suelo semanas previa al montaje, 4 y 8 *H. annuus* belleza otoñal en presencia de *Pseudomonas* sp.

Parámetros	Semana		
	Previo al montaje	4	8
pH	6.98	6.89	6.92
Retención de agua (mL/g)	0.45	0.60	0.50
Humedad (%)	39.45	45.25	56.00
Fósforo (mg/kg)	77.24	101.15	104.46
Materia orgánica (%)	20.74	21.24	43.57
Nitrógeno inorgánico (mg/kg)	42.00	91.00	94.50

10.6.2. Cromo hexavalente remanente en los sistemas de fitorremediación para *H. annuus* belleza otoñal en presencia de *Pseudomonas* sp.

Se midió la concentración de Cr (VI) remanente en los sistemas de fitorremediación en presencia de *Pseudomonas* sp., en la Figura 15 se puede observar que para semana 10 la concentración disminuyó un 87.12% de la concentración inicial que era de $93.15 \pm 0.03 \text{ mg kg}^{-1}$, donde los mayores porcentajes de remoción se obtienen en las últimas semanas de experimentación, ya que de la semana 6 a la semana 10 se removió un 50.89% de la concentración inicial.

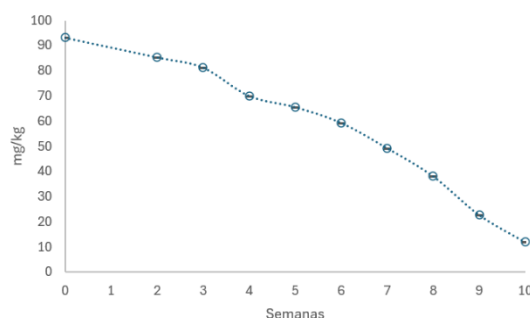


Figura 15. Resultados de fitorremediación en presencia de *Pseudomonas* sp. para *H. annuus* belleza otoñal.

En el caso del *H. annuus* belleza otoñal logró remover un mayor porcentaje de Cr (VI) a partir de la semana 6, a diferencia del *H. annuus* gigante donde el mayor porcentaje de remoción ocurrió durante las primeras 4 semanas, logrando para la semana 10 remover un 87.12% y 57.53% respectivamente, demostrando que el *H. annuus* belleza otoñal en presencia de *Pseudomonas* sp. logra remover una mayor concentración de Cr (VI).

10.6.3. Determinación del cromo hexavalente removido por las plantas

Durante las semanas 4 y 8 se determinó la presencia de Cr (VI) en las secciones de las plántulas; raíz, tallo y hojas por separado.

Para la semana 4 la concentración de Cr (VI) acumulado en las plántulas fue de $16.21 \pm 0.01 \text{ mg kg}^{-1}$, de los cuales se encontraba acumulado el 53.19% en el tallo (8.62 mg kg^{-1}) y el 46.81% (7.59 mg kg^{-1}) se encontraban acumulados entre raíz y hojas (Figura 16a).

Durante la semana 8 la concentración total de Cr (VI) acumulado en las plántulas fue de $48.75 \pm 0.01 \text{ mg kg}^{-1}$, de los cuales 24.07 mg kg^{-1} se encontraban dentro del tallo, representando el 49.36% de la concentración total, el 50.64% restante se distribuyó en porcentajes cercanos entre raíz y hojas (24.85 y 25.79% respectivamente) como se muestra en la Figura 16b.

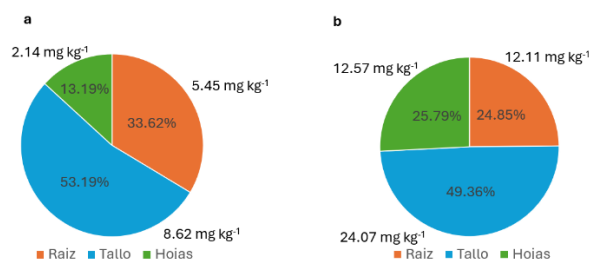


Figura 16. Porcentaje de Cr (VI) presente en las secciones del *H. annuus* belleza otoñal en presencia de *Pseudomonas* sp.: a. semana 4 b. semana 8.

Las plántulas de *H. annuus* belleza otoñal acumularon mayor concentración de Cr (VI) posterior a la semana 4 de crecimiento, logrando acumular el 52.34% de la concentración inicial de Cr (VI) presente en el suelo ($93.15 \pm 0.03 \text{ mg kg}^{-1}$).

10.7. Control 1.

10.7.1. Caracterización del suelo de los sistemas de control

El suelo proveniente de los sistemas de control fue caracterizado durante la semana previa al montaje, así como durante las semanas 4 y 8.

El suelo presentó un pH neutro, con incrementos dentro de esa categoría a lo largo de las 8 semanas. De igual manera se presentó un aumento en la capacidad de retención de agua por gramo de suelo durante la semana 4, así como una disminución durante la semana 8, dicha variación no afectaría el desarrollo de alguna planta en el suelo, debido a que no es una variación significativa. El porcentaje de humedad se conservó menor al 60 %, lo cual resulta favorable para el desarrollo de cualquier especie, debido a que no se cuenta con exceso de humedad en el suelo. En cuanto al contenido de materia orgánica, ésta disminuyó durante la semana 4 y aumentó para el final de la experimentación, sin afectar la capacidad de retención de agua, evitando así encharcamientos en el suelo. El fósforo disminuyó de manera considerable durante la semana 4, y presentó un aumento para el final de la experimentación, siempre contando con un alto contenido disponible en el suelo lo cual resulta favorable para el desarrollo de cualquier especie. El contenido de nitrógeno inorgánico presentó una disminución notable en la semana 4 y un ligero aumento durante la semana 8, se mantuvo un muy alto contenido de nitrógeno inorgánico disponible en el suelo, lo cual sería favorable en el desarrollo de cualquier especie que quiera ser utilizada para fines de remediación de suelos contaminados (Tabla 11).

Tabla 11. Caracterización del suelo control 1, semanas previas al montaje, 4 y 8.

Parámetros	Semana		
	Previo al montaje	4	8
pH	6.65	6.68	7.28
Retención de agua (mL/g)	0.40	0.55	0.50
Humedad (%)	43.27	51.52	48.37
Fósforo (mg/kg)	56.94	13.32	36.48
Materia orgánica (%)	27.16	26.63	30.66
Nitrógeno inorgánico (mg/kg)	105.00	63.00	71.00

10.7.2. Determinación del cromo hexavalente remanente presente en el suelo

Para el caso de los controles se determinó el Cr (VI) remanente durante las semanas 2, 5 y 8.

Los resultados mostraron que para el caso del control 1, el cual contiene únicamente 200 g de suelo, para la semana 8 se contaba con un 96.11% de su concentración inicial de $87.29 \pm 0.04 \text{ mg kg}^{-1}$, como se observa en la Figura 17, en decir si bien disminuyó la concentración inicial, no representa una competencia para los sistemas de fitorremediación, dicha disminución se puede deber a los microorganismos ambientales (ya que aunque el suelo fue esterilizado, los sistemas no se encontraban en un ambiente estéril), así como también a la capacidad remediadora propia del suelo, la cual es mínima (3.89 %).

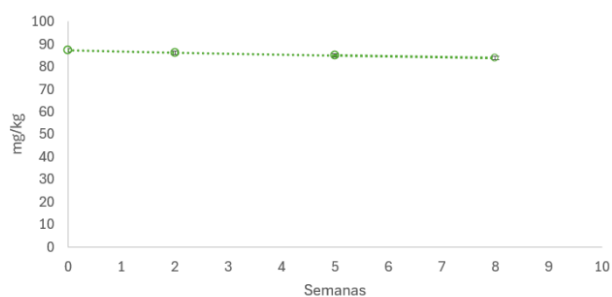


Figura 17. Porcentaje de remoción de Cr (VI) del control 1.

10.8. Control 2.

10.8.1. Caracterización del suelo de los sistemas de control en presencia de *Pseudomonas sp.*

En cuanto al suelo procedente de los sistemas del control 2, se obtuvo que el pH se mantuvo neutro a lo largo de las semanas. La capacidad de retención de agua por gramo de suelo presentó variaciones durante la experimentación, dicha variación no representaría algún inconveniente en el desarrollo de la planta en el suelo, debido a que no es significativo. El porcentaje de humedad presentó variaciones manteniéndose por debajo del 60 % el cual representaría un problema por el desarrollo de alguna especie debido al exceso de humedad, así como tampoco se llegó al punto de marchitez (menor al 20 %). Se mantuvo un muy alto contenido de materia orgánica a lo largo de la experimentación, sin afectar la capacidad de retención de agua evitando así encharcamientos. En cuanto al contenido de fósforo, se mantuvo un alto contenido disponible en el suelo a lo largo de la experimentación. El suelo aumentó de un contenido medio de nitrógeno inorgánico a un muy alto contenido para el final de la experimentación según los establecido por la NOM-021-SEMARNAT-2000 (Tabla 12).

Tabla 12. Caracterización del suelo del control 2 en las semanas previa al montaje, 4 y 8.

Parámetros	Semana		
	Previo al montaje	4	8
pH	6.76	6.87	7.17
Retención de agua (mL/g)	0.55	0.66	0.50
Humedad (%)	47.06	56.25	35.13
Fósforo (mg/kg)	24.00	19.79	26.86
Materia orgánica (%)	21.51	28.50	21.52
Nitrógeno inorgánico (mg/kg)	28.25	46.53	73.5

10.8.2. Determinación del cromo hexavalente remanente en el suelo

Se midió el Cr (VI) remanente durante las semanas 2, 5 y 8.

En cuanto al control 2 que consiste en 200 g de suelo en presencia de *Pseudomonas sp.*, para la semana 8 se contaba con el 91.93% de la concentración inicial de Cr (VI) que era de $93.15 \pm 0.04 \text{ mg kg}^{-1}$, como se observa en la Figura 18.

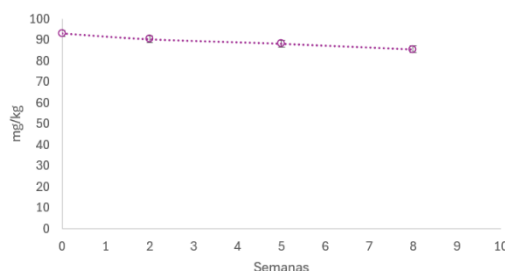


Figura 18. Resultados del control 2 en presencia de *Pseudomonas sp.*

Comparando los resultados de los controles 1 y 2, el suelo proveniente del control 2 logra remover mayor concentración de Cr (VI), con un porcentaje de 8.07% que, comparado con el suelo proveniente del control 1 donde se removió un 3.89% aquí se puede observar que la *Pseudomonas sp.* tiene la capacidad de remediar el suelo contaminado con Cr (VI).

10.9. Desarrollo de las plántulas de *H. annuus* gigante y belleza otoñal en suelo no acondicionado

En este apartado se presentan los resultados de los experimentos GGT y GBT mencionados en la Tabla 6, donde se evaluó el desarrollo natural de ambas plantas en suelo no esterilizado y no acondicionado con Cr (VI), ambos casos en ausencia de *Pseudomonas sp.*

10.9.1. Caracterización del suelo no acondicionado

Se determinaron los parámetros que indican el nivel de fertilidad del suelo (pH, materia orgánica, fósforo, retención de agua, humedad y nitrógeno inorgánico), siguiendo lo descrito por la NOM-021-SEMARNAT-2000.

Los resultados indican que se contaba con un suelo con la capacidad de retener 0.5 mL de agua por gramo de suelo, con un porcentaje de humedad del 33.25% (el cual resulta favorable ya que evita el punto de marchitez en porcentajes de humedad menores al 20 %, como también evitar encharcamiento) y un pH neutro (el cual resulta adecuado para la germinación de *H. annuus*), con un alto contenido en fósforo y un muy alto contenido en materia orgánica y nitrógeno inorgánico.

10.9.2. Desarrollo de *H. annuus* gigante en suelo no acondicionado

Los sistemas GGT se colocaron con la finalidad de conocer el desarrollo de la planta *H. annuus* gigante durante 10 semanas en suelo no esterilizado, no fertilizado ni acondicionado, lográndose observar en la semana 10 girasoles sanos, con hojas verdes y firmes (Figura 19), a diferencia de los provenientes de los sistemas de fitorremediación, los cuales contaban con clorosis en algunos casos, así como una altura menor con variaciones aproximadamente de 3 cm.



Figura 19. Plántula de *H. annuus gigante* en suelo no acondicionado.

Con base en lo observado en la plántula de *H. annuus gigante*, en comparación con las plántulas de los procesos de fitorremediación, se observa un crecimiento similar, no se observan diferencias significativas, por lo tanto, las plántulas provenientes de un proceso de fitorremediación podrían ser utilizadas para la decoración, una vez obtenida la flor, evitando así que la plántula sea desechada inmediatamente al terminar el proceso.

10.9.3. Desarrollo de *H. annuus* belleza otoñal en suelo natural

Los sistemas GBT se colocaron para conocer el comportamiento de *H. annuus* belleza otoñal en suelo natural, es decir sin alterar sus condiciones. Después de 10 semanas se logró observar plántulas sanas, con tonos verdes y tallos firmes (Figura 20), esto comparado con las plántulas ocupadas en el proceso de fitorremediación tuvieron la variación únicamente de tamaño, ya que las especies provenientes del suelo natural contaron con un desarrollo de 5 cm aproximadamente mayor a las del proceso de fitorremediación.



Figura 20. *H. annuus* belleza otoñal en suelo libre de contaminante.

Por lo que las plántulas usadas en los procesos de fitorremediación crecen más lento, pero con características de una planta sana.

11. Conclusiones

Se comprobó la capacidad de fitorremediación de *H. annuus* gigante y belleza otoñal para la remoción de Cr (VI) en suelo, tanto en presencia como en ausencia de *Pseudomonas sp.*

Para el caso del *H. annuus* gigante se observó que es en las primeras 4 semanas del proceso de fitorremediación donde se logra remover un porcentaje alto de Cr (VI) con respecto a las semanas subsecuentes, resultando más eficiente en las primeras semanas de desarrollo de la plántula. Finalmente, para la semana 10 se removió un 54.72% de Cr (VI). Por otra parte, la misma especie en presencia de *Pseudomonas sp.*, para la semana 10 logró remover un 57.53% de la concentración inicial de Cr (VI).

En el caso de *H. annuus* belleza otoñal, el proceso de fitorremediación demostró tener mayor capacidad de remoción a partir de la semana 6, ya que en la semana 10 del proceso se removió un 80.17% de la concentración inicial de Cr (VI), teniendo mayor eficiencia en presencia de *Pseudomonas sp.* con un porcentaje de remediación del 87.12%.

Como se describe anteriormente, en ambos casos el porcentaje de remoción aumentó en presencia de *Pseudomonas sp.* Además, se determinó que el *H. annuus* tanto belleza otoñal como gigante, son plantas fitoacumuladoras, las cuales tienen la capacidad de acumular el Cr (VI) dentro de ellas distribuidas en raíz, tallo y hojas, contando con la capacidad de acumular mayor concentración de Cr (VI) en los tallos.

En cuanto a los controles evaluados a lo largo de la experimentación se logró observar que el suelo del control 1 (en ausencia de plántula y *Pseudomonas sp.*), tiene la capacidad de ser biorremediador debido a la microfauna presente, aunque el suelo fue esterilizado en un inicio no se mantuvo en un ambiente estéril, por lo que se contaminó con microorganismos del ambiente, los cuales lograron remover un 3.89% de la concentración inicial de Cr (VI) en 8 semanas de evaluación. Por otro lado, el suelo del control 2 (en ausencia de plántula y presencia de *Pseudomonas sp.*), removió un 8.07% de la concentración inicial en un lapso de 8 semanas, con esto se comprueba la capacidad microremediadora de la *Pseudomonas sp.*.

Los sistemas GGT y GBT sirvieron como referencia de cómo debe ser el crecimiento de *H. annuus* en un suelo no acondicionado logrando observar que comparadas con las plántulas provenientes de los sistemas de fitorremediación contaron con diferencias físicas poco significativas, lo que vuelve atractivo el proceso de fitorremediación ya que a la par que ofrece soluciones en la restauración de suelos, también ofrece la obtención de plantas visualmente agradables.

Por lo tanto, los tratamientos aplicados a suelos contaminados con Cr(VI), mediante fitorremediación resultaron exitosos, cumpliéndose la hipótesis, es decir, los procesos de fitorremediación en presencia de *Pseudomonas sp.* lograron remover mayor concentración de Cr(VI), pero sus porcentajes de remoción no fueron significativamente mayores a los sistemas en ausencia de *Pseudomonas sp.* por lo tanto, se considera una mejor opción la remoción de Cr (VI) en ausencia de *Pseudomonas sp.* ya que en el caso el *H. annuus* belleza otoñal se logró un porcentaje de remoción eficiente y el proceso es más fácil y económico de ejecutar comparado con el uso de *Pseudomonas sp.*, en cuanto al *H. annuus* gigante no se obtuvieron porcentajes de remoción elevados, por lo que no se considera una especie viable para pruebas futuras.

Debido a que se considera un proceso preventivo, ya que se trabajó por debajo de los límites establecidos por la norma 147-SEMARNAT/SSA1-2004, la presente investigación puede servir como base para ser utilizada en suelos con concentraciones de Cr (VI) superiores a los establecidos por la norma, haciendo uso de la especie *H. annuus* belleza otoñal, ya que se demostró que logra remover una mayor concentración de Cr (VI), esperando obtener la misma respuesta de la especie, así como en el caso de ser utilizada en condiciones de campo se espera que la especie se adapte a las modificaciones necesarias a la metodología, como lo es el caso del uso de insecticidas y fungicidas los cuales serían necesarios a nivel campo para sustituir la esterilización del suelo, y asegurar que la especie no sea afectada por hongos o insectos los cuales podrían perjudicar su desarrollo.

12. Recomendaciones

Una vez concluidos los procesos de fitorremediación las plantas pudieran ser agregadas a sistemas de vermicomposteo, por lo que de acuerdo a lo reportado por Tabche y colaboradores, la especie *Eisenia foetida* tiene la capacidad de reducir el Cr(VI) a Cr (III) hasta en un 90% de los residuos provenientes de la fitorremediación, logrando así tener un residuo menos perjudicial para el ambiente ya que el Cr(III) no tiene efectos negativos en la salud humana ni provoca problemas ambientales como en el caso de los provocados por el Cr (VI).

13. Referencias

- Al-Jobori, K. M., & Kadhim, A. K. (2019). Evaluation of sunflower (*Helianthus annuus L.*) for phytoremediation of lead contaminated soil. *Journal of Pharmaceutical Sciences and Research*.
- Alvarado, T. R., Anzaldo, P. Y. G., De los Santos, R. I. G., & García, Z. J. (2015). Catálogo de plantas fitorremediadoras. Universidad Popular de la Chonpala.
- Alvarez, C. C., Gómez, M. E. B., & Zavala, A. H. (2021). Hexavalent chromium: Regulation and health effects. *Journal of Trace Elements in Medicine and Biology*,
- American Chemical Society (2010.). Nitrógeno de los fertilizantes <https://www.acs.org/education/chemmatters/past-issues/archive-2009-2010/nitrogeno-de-los-fertilizantes.html>
- Aragadvay, R. G., Rayas Amor, A. A., Heredia-Nava, D., Estrada-Flores, J. G., Martínez-Castañeda, F. E., & Arriaga-Jordán, C. M. (2015). Evaluación in vitro del ensilaje de girasol (*Helianthus annuus L.*) solo y combinado con ensilaje de maíz. *Revista mexicana de ciencias pecuarias*.
- Arshad, M., Naqvi, N., Gul, I., Yaqoob, K., Bilal, M., & Kallerhoff, J. (2020b). Lead phytoextraction by pelargonium hortorum: Comparative Assessment of EDTA and DIPA for PB mobility and toxicity. *Science of the total environment*.
- ATSDR. (2016). Cromo (*Chromium*: https://www.atsdr.cdc.gov/es/toxfaqs/es_tfacts7.html#:~:text=La%20exposici%C3%B3n%20al%20cromo%20ocurre,el%20est%C3%B3mago%20o%20los%20intestinos).
- Awa, S. H., y Hadibarata, T. (2020). Removal of heavy metals in contaminated soil by phytoremediation mechanism: A Review. *Water, Air, & Soil Pollution*.
- Barbaro, L. A., M. A., Karlanian, y D. A. Mata (2019). Importancia del pH y la conductividad eléctrica (CE) en los sustratos para plantas. INTA. Argentina.
- Brady, N.C., & Weil, R.R. (2007) The nature and properties of soils. Pearson Prentice Hall, 14th Edition.
- Castro. D. J. (2009). A 30 años del cierre de cromatos de México. La jornada ecológica.
- Cerón L.E, Aristizábal F.A (2012) Dinámica del ciclo del nitrógeno y fósforo en suelos. Revista colombiana de Biotecnología.
- Chavez T.J, (2022) Biorremediación mediante microorganismos modificados genéticamente para la degradación de contaminantes ambientales, Universidad César Vallejo.
- Chellaiah, E. R. (2018). Cadmium (heavy metals) bioremediation by *Pseudomonas aeruginosa*: a minireview. *Applied water science*.

- Clemente Huachen, J. P., Medina Contreras, J., Pfuño, J. D. L., Pariona Aguilar, L. A., & Gutiérrez Vélchez, P. P. (2021). Fitorremediación en suelos contaminados con Cd usando girasol (*Helianthus annuus L. var. Sunbright*). *Acta Agronómica*.
- Covarrubias, S. A., & Cabriales, J. J. P. (2017). Contaminación ambiental por metales pesados en México: Problemática y estrategias de fitorremediación. *Revista internacional de contaminación ambiental*.
- Delgadillo L, Angélica E &Ramírez A. (2011). Fitorremediación: una alternativa para eliminar la contaminación, *Tropical and subtropical agroecosystems*,
- Dehnavi, S. M., & Ebrahimipour, G. (2022). Comparative remediation rate of biostimulation, bioaugmentation, and phytoremediation in hydrocarbon contaminants. *International Journal of Environmental Science and Technology*.
- Domingo J.M., Fernández S. E. Corral P. (2006). Estimación de la capacidad de retención de agua en el suelo. Departamento de ciencias agroforestales.
- Domínguez, M. C., Gómez, S., & Ardila, A. N. (2016). Fitorremediación de mercurio presente en aguas residuales provenientes de la industria minera. *UGCiencia*
- Eskander, S., & Saleh, H. (2017). Phytoremediation: an overview. *Environmental science and engineering, soil pollution and phytoremediation*.
- FAO (n.d.). Organización de las naciones unidas para la alimentación y la agricultura. <https://www.fao.org/soils-portal/about/definiciones/es/>
- FAO (2021) Organización de las naciones unidas para la alimentación y la agricultura.
- ¿QUÉ ES el pH del Suelo? (fao.org)
- García C, Moreno J, Hernández F. M, & Polo A. (2002). Metales pesados y sus implicaciones en la calidad del suelo.
- Garzón, J. M., Rodríguez-Miranda, J. P., & Hernández-Gómez, C. (2017). Aporte de la biorremediación para solucionar problemas de contaminación y su relación con el desarrollo sostenible. *Universidad y salud*, 19(2), 309-318.
- Gomez Caldero. J.A. (2021) Medidas para aumentar la capacidad de retención de agua del suelo.
- Gómez Castelán, A. V. S. (2020). Remoción de Pb (II)(II), Cr (III) y Cr (VI) presentes en muestras de agua grado reactivo mediante el uso de *Pseudomonas putida* y *Saccharomyces cerevisiae*. Tesis de Maestría, Universidad Autónoma Metropolitana (México). Unidad Azcapotzalco. Coordinación de Servicios de Información.

- Gul, I., Manzoor, M., Ahmad, I., Kallerhoff, J., & Arshad, M. (2022). Phytoaccumulation of cadmium by *pelargonium hortorum* tolerance and metal recovery. *Environmental Science and Pollution Research*.
- Guzmán G. A, Bautista G. J, Vaca M. M & Rojas V. M. (2020). Fitorremediación de suelo contaminado con arsénico, cobre y plomo empleando *Echeveria elegans* y *Crassula ovata*.
- Islas G. A, Peralta R, Vega L, López A, & Rodríguez V. (2016). Biorremediación por bioestimulación y bioaumentación con microorganismos nativos de un suelo agrícola contaminado con hidrocarburos, *Biotecnología y Sustentabilidad*.
- Jenny, H. (1994) *Factors of Soil Formation: A System of Quantitative Pedology*. Dover Publications.
- Jobby, R., Jha, P., Yadav, A. K., y Desai, N. (2018). Biosorption and biotransformation of hexavalent chromium [Cr(VI)]: A comprehensive review. *Chemosphere*.
- Julca A., Meneses L., Blas R., y Bello A. (2006). La materia orgánica, importancia y experiencia de su uso en la agricultura. *Idesia (Arica)*.
- Kördel, W., Dassenakis, M., Lintemann, J., y Padberg, S. (1997). The importance of natural organic material for environmental processes in waters and soils (Technical Report). *Pure and Applied Chemistry*.
- Lacalle, R. G., Aparicio, J. D., Artetxe, U., Urionabarrenetxea, E., Polti, M. A., Soto, M., y Becerril, J. (2020). Gentle remediation options for soil with mixed chromium (VI) and lindane pollution: biostimulation, bioaugmentation, phytoremediation and vermiremediation.
- Liang, J., Huang, X., Yan, J., Li, Y., Zhao, Z., Liu, Y., y Wei, Y. (2021). A review of the formation of Cr (VI) via Cr (III) oxidation in soils and groundwater. *Science of The Total Environment*.
- Liu, Z., & Tran, K. Q. (2021). A review on disposal and utilization of phytoremediation plants containing heavy metals. *Ecotoxicology and Environmental Safety*.
- Llugany, M., Tolrà, R., Poschrieder, C., y Barceló, J. (2007). Hiperacumulación de metales: ¿una ventaja para la planta y para el hombre? *Ecosistemas*.
- López-Martínez, Sugay, Gallegos-Martínez, Margarita E., Pérez Flores, Laura J., y Gutiérrez M. (2005). Mecanismos de fitorremediación de suelos contaminados con moléculas orgánicas xenobióticas. *Revista internacional de contaminación ambiental*.
- López R, Núñez A, Meas V. Y, Ortega R, y Olgún E. (2004). Fitorremediación: fundamentos y aplicaciones, *Revista Ciencia*.
- Martínez J. A., Sánchez J. M., Volke T., Vallejo, V. E., Pérez L. M., Duarte P. A., y Reinaldo Casallas, M. (2021). Remediación de suelos contaminados: fundamentos y casos de estudio.

- Mau, S., Vega, K., y Sánchez, M. (2011). Aislamiento de bacterias del suelo y su potencial utilización en sistemas de tratamiento de aguas residuales. *Revista de Ciencias Ambientales*.
- Méndez, J. P., Ramírez, C. A. G., Gutiérrez, A. D. R., y García, F. P. (2009). Contaminación y fitotoxicidad en plantas por metales pesados provenientes de suelos y agua. *Tropical and subtropical Agroecosystems*.
- Merck. (2021). Cromo (0) hexacarbonilo
https://www.merckmillipore.com/MX/es/product/msds/MDA_CHEM-822196?Origin=PDP
- Munive Cerrón, R., Gamarra Sánchez, G., Munive Yachachi, Y., Puertas Ramos, F., Valdiviezo Gonzales, L., y Cabello Torres, R. (2020). Absorción de plomo y cadmio por girasol de un suelo contaminado, remediado con enmiendas orgánicas en forma de compost y vermicompost. *Scientia Agropecuaria*.
- Mur, J. P. (2015). Evaluación de la aplicabilidad de especies forestales de la serranía peruana en fitorremediación de relaves mineros. *Revista ECIPerú*.
- Negroni, M. (2009). Microbiología estomatológica segunda edición. Buenos aires. Panamericana.
- Oficina de Evaluación de Peligros de Salud Ambientales OEHA (2016). Efectos del cromo hexavalente sobre la salud.
- Ortiz, I., Sanz, J., Dorado, M., y Villar, S. (2007). Técnicas de recuperación de suelos contaminados. Informe de vigilancia tecnológica. Universidad de Alcalá. Dirección General de Universidades e Investigación. España.
- Patra, D. K., Pradhan, C., y Patra, H. K. (2020). Toxic metal decontamination by phytoremediation approach: Concept, challenges, opportunities and future perspectives. *Environmental Technology & Innovation*.
- Paz V. M., Mangwani S., Martínez A., Álvarez D., Solan S. G., y Vázquez R. (2019). *Pseudomonas aeruginosa*: patogenicidad y resistencia antimicrobiana en la infección urinaria. *Revista Chilena de infectología*.
- Polón, R. (2008). Finalidad del mejoramiento por desecación de los suelos de uso agrícola; sus direcciones fundamentales y causas del exceso de humedad. *Cultivos Tropicales*.
- Poverene M. M., Cantamutt M. A., Carrera A. D., Ureta M. S., Salaberry M. T., Echevarria M. M., y Rodríguez, R. H. (2002). El girasol silvestre (*Helianthus* spp.) en la Argentina: Caracterización para la liberación de cultivos transgénicos. *Revista de investigaciones agropecuarias*.
- Prasad, S., Yadav, K. K., Kumar, S., Gupta, N., Cabral-Pinto, M. M., Rezaei, S., y Alam, J. (2021). Chromium contamination and effect on environmental health and its remediation: A sustainable approach. *Journal of Environmental Management*.

- Reyes, Y., Vergara, I., Torres, O., Lagos, M. D., y Jimenez, E. E. G. (2016). Contaminación por metales pesados: Implicaciones en salud, ambiente y seguridad alimentaria. *Ingeniería Investigación y Desarrollo*.
- Rios (2017) Comparación de las eficiencias fitorremediadoras de las especies *Lolium perenne*, *Pelargonium hortorum* y fuertesimalva en la reducción de la concentración de plomo en suelo agrícolas del distrito de Huamantanga.
- Rodríguez H. D. (2017). Intoxicación ocupacional por metales pesados, *Medisan*.
- Secretaría de Agricultura y Desarrollo Rural, SADER (2022). ¿Conoces las diferencias entre fertilizantes? gob.mx. <https://www.gob.mx/agricultura/articulos/conoces-las-diferencias-entre-fertilizantes>
- Shahid, M., Shamshad, S., Rafiq, M., Khalid, S., Bibi, I., Niazi, N. K., Dumat, C., y Rashid, M. I. (2017). Chromium speciation, bioavailability, uptake, toxicity and detoxification in soil-plant system: A review. *Chemosphere*.
- Sharma, I. (2020). Bioremediation techniques for polluted environment: concept, advantages, limitations, and prospects. In *Trace metals in the environment-new approaches and recent advances*. IntechOpen.
- Shen, X., Dai, M., Yang, J., Sun, L., Tan, X., Peng, C., y Naz, I. (2022). A critical review on the phytoremediation of heavy metals from environment: Performance and challenges. *Chemosphere*.
- Shi, G., Hu, J., Cheng, Y., Shi, W., y Chen, Y. (2022). Pseudomonas aeruginosa improved the phytoremediation efficiency of ryegrass on nonylphenol-cadmium co-contaminated soil. *Environmental Science and Pollution Research*.
- Sultana, T., Arooj, F., Nawaz, M., Alam, S., Iqbal, M. N., y Ashraf, A. (2019). Phytoremediation efficiency of sunflower (*Helianthus annuus*) and Bryophyllum (*Bryophyllum pinnatum*) in removing heavy metals from polluted soil. *International Journal of Alternative Fuels and Energy*.
- Tabche, M. A. R., Cabriales, J. J. P., Vega, M. M., Pacheco, J. R., y Aguilar, J. A. V. Lombricomposteo como una alternativa en la reducción de la toxicidad de cromo hexavalente.
- Tan H. K., Wang C., Zeng G., Luo Y., Li H., y Xu, H. (2020). Bioreduction and biosorption of Cr (VI) by a novel Bacillus Sp. CRB-B1 strain. *Journal of Hazardous Marerials*, 386.
- Torretta J. P., Medan D., Roig Alsina A., y Montaldo N. H. (2010). Visitantes florales diurnos del girasol (*Helianthus annuus*, Asterales: Asteraceae) en la Argentina. *Revista de la Sociedad Entomológica Argentina*.
- Velasco Trejo Volke Sepulveda, J. (2002). *Tecnologías de remediación para suelos contaminados*. Instituto Nacional de Ecología.
- Verma S., y Kuila A. (2019). Bioremediation of heavy metals by microbial process. *Environmental Technology & Innovation*.

- Wu M., Wu J., Zhang X., y Ye X. (2019). Effect of bioaugmentation and biostimulation on hydrocarbon degradation and microbial community composition in petroleum-contaminated loessal soil. Chemosphere.
- Zayed A., Gowthaman S., y Terry N. (1998). Phytoaccumulation of trace elements by wetland plants: I. Duckweed. American Society of Agronomy, Crop Science Society of America, and Soil Science Society of America.