



**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA
DE AGUASCALIENTES**

**Centro de Ciencias Básicas
Departamento de Fisiología y Farmacología**

Tesis

**Caracterización de una zona contaminada con arsénico (As) y metales, y
aislamiento de hongos con uso potencial en la biorremediación**

Presenta:

M. en C. Oscar Abraham Flores Amaro

Para obtener el grado de
Doctorado en Ciencias Biológicas

Tutores

**Dr. Francisco Javier Avelar González
Dra. Alma Lilian Guerrero Barrera**

Asesora

Dra. Magdalena Samanta Ramos Gómez

Aguascalientes, Ags. Noviembre, 2024



M. en C. JORGE MARTÍN ALFÉREZ CHÁVEZ
DECANO DEL CENTRO DE CIENCIAS BÁSICAS

PRESENTE

Por medio del presente como Miembros del Comité Tutoral designados del estudiante **M. en C. Oscar Abraham Flores Amaro** con ID 231992 quien realizó la tesis titulada: **CARACTERIZACIÓN DE UNA ZONA CONTAMINADA CON ARSÉNICO (As) Y METALES, Y AISLAMIENTO DE HONGOS CON USO POTENCIAL EN LA BIORREMEDIACIÓN**, un trabajo propio, innovador, relevante e inédito y con fundamento en el Artículo 175, Apartado II del Reglamento General de Docencia damos nuestro consentimiento de que la versión final del documento ha sido revisada y las correcciones se han incorporado apropiadamente, por lo que nos permitimos emitir el VOTO APROBATORIO, para que él pueda proceder a imprimirlo así como continuar con el procedimiento administrativo para la obtención del grado, en cuanto los artículos enviados a publicación a revistas indexadas JCR sean aceptados.

Por lo anterior a su digna consideración y sin otro particular por el momento, le enviamos un cordial saludo.

ATENCIÓN

"Se Lumen Proferre"

Aguascalientes, Ags., a 3 de septiembre de 2020.

Dr. Francisco Javier Avelar González
Co-Tutor de Tesis

Dra. Alma Lilián Guerrero Barrera
Co-Tutor de Tesis

Dr. Magdalena Samanta Ramos Gómez
Ayudante de Tesis



DICTAMEN DE LIBERACIÓN ACADÉMICA PARA INICIAR LOS TRÁMITES DEL EXAMEN DE GRADO



Fecha de dictaminación dd/mm/aaaa: 17/09/2024

NOMBRE: Oscar Abraham Flores Amaro **ID** 231992

PROGRAMA: Doctorado en Ciencias Biológicas, Modalidad Tradicional **LGAC (del posgrado):** Toxicología y Bioingeniería Ambiental

TIPO DE TRABAJO: () Tesis () Trabajo Práctico

TITULO: Caracterización de una zona contaminada con arsénico (As) y metales, y aislamiento de hongos con uso potencial en la biorremediación

IMPACTO SOCIAL (señalar el impacto logrado): Se realizó un estudio sobre muestras de suelos afectados por la actividad minera en Concepción del Oro, en donde el principal contaminante encontrado es el arsénico, el cual es un metaloide altamente dañino para la salud y el medio ambiente. Además, los resultados obtenidos abren las puertas a varias líneas de investigación y posibles propuestas que puedan llevar a enmendar los suelos contaminados y mitigar los riesgos y efectos adversos causados por la industria minera, a través del uso de hongos microscópicos nativos. Los resultados de este proyecto son de gran utilidad, ya que pueden sustentar los Programas Ambientales y de Salud del Gobierno del Estado de Zacatecas, dirigidos al saneamiento de Concepción del Oro, en beneficio del medio ambiente y la salud de los habitantes del estado, especialmente los residentes de las zonas afectadas por el depósito de las explotaciones mineras.

INDICAR	SI	NO	N.A. (NO APLICA)	SEGÚN CORRESPONDA:
<i>Elementos para la revisión académica del trabajo de tesis o trabajo práctico:</i>				
<i>SI</i>				El trabajo es congruente con las LGAC del programa de posgrado
<i>SI</i>				La problemática fue abordada desde un enfoque multidisciplinario
<i>SI</i>				Existe coherencia, continuidad y orden lógico del tema central con cada apartado
<i>SI</i>				Los resultados del trabajo dan respuesta a las preguntas de investigación o a la problemática que aborda
<i>SI</i>				Los resultados presentados en el trabajo son de gran relevancia científica, tecnológica o profesional según el área
<i>SI</i>				El trabajo demuestra más de una aportación original al conocimiento de su área
<i>SI</i>				Las aportaciones responden a los problemas prioritarios del país
<i>SI</i>				Generó transferencia del conocimiento o tecnológica
<i>SI</i>				Cumple con la ética para la investigación (reporte de la herramienta antiplagio)
<i>El egresado cumple con lo siguiente:</i>				
<i>SI</i>				Cumple con lo señalado por el Reglamento General de Docencia
<i>SI</i>				Cumple con los requisitos señalados en el plan de estudios (créditos curriculares, optativos, actividades complementarias, estancia, predoctoral, etc)
<i>SI</i>				Cuenta con los votos aprobatorios del comité tutorial, en caso de los posgrados profesionales si tiene solo tutor podrá liberar solo el tutor
<i>NO</i>				Cuenta con la carta de satisfacción del Usuario
<i>SI</i>				Coincide con el título y objetivo registrado
<i>SI</i>				Tiene congruencia con cuerpos académicos
<i>SI</i>				Tiene el CVU del Conacyt actualizado
<i>SI</i>				Tiene el artículo aceptado o publicado y cumple con los requisitos institucionales (en caso que proceda)
<i>En caso de Tesis por artículos científicos publicados</i>				
				Aceptación o Publicación de los artículos según el nivel del programa
				El estudiante es el primer autor
				El autor de correspondencia es el Tutor del Núcleo Académico Básico
				En los artículos se ven reflejados los objetivos de la tesis, ya que son producto de este trabajo de investigación.
				Los artículos integran los capítulos de la tesis y se presentan en el idioma en que fueron publicados
				La aceptación o publicación de los artículos en revistas indexadas de alto impacto

Con base a estos criterios, se autoriza se continúen con los trámites de titulación y programación del examen de grado: Si No

FIRMAS

Edg - ELL HLC

 Dr. Edgar Eduardo Hernández Cuéllar

[Firma]

 Dr. Gilberto Alejandro Ocampo Acosta

[Firma]

 Dr. Alejandro Padilla Díaz

[Firma]

 M. en C. Jorge Martín Alférez Chávez

Elaboró:

* NOMBRE Y FIRMA DEL CONSEJERO SEGÚN LA LGAC DE ADSCRIPCIÓN:

NOMBRE Y FIRMA DEL SECRETARIO TECNICO:

* En caso de conflicto de intereses, firmará un revisor miembro del NAB de la LGAC correspondiente distinto al tutor o miembro del comité Tutorial, asignado por el Decano

Revisó:

NOMBRE Y FIRMA DEL SECRETARIO DE INVESTIGACIÓN Y POSGRADO:

Autorizó:

NOMBRE Y FIRMA DEL DECANO:

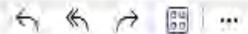
Nota: procede el trámite para el Depto. de Apoyo al Posgrado
 En cumplimiento con el Art. 105C del Reglamento General de Docencia que a la letra señala entre las funciones del Consejo Académico: ... Cuidar la eficiencia terminal del programa de posgrado y el Art. 105F las funciones del Secretario Técnico, llevar el seguimiento de los alumnos.

Your Submission WATE-D-23-02833R1 - [EMID:5b110156f1b89218]



em.wate.b08c0.8bb9b7.b41ed805@editorialmanager.com en nombre de Reinhard Dallinger

Para: Usted



Jue 30/05/2024 08:57 AM

Este mensaje está en Inglés

Traducir a Español

No traducir nunca de Inglés

You are being carbon copied ("cc:d") on an e-mail "To" "Francisco Javier Avelar González" fjavelar@correo.uaa.mx
CC: "Oscar Abraham Flores Amaro" ozckar_1603@hotmail.com, "Magdalena Samanta Ramos-Gómez" msramos@correo.uaa.mx, "Álma Lilian Guerrero-Barrera" alguerre@correo.uaa.mx, "Laura Yamamoto-Flores" lyamamotof@hotmail.com, "Pamela Romo-Rodríguez" pamela.rr@pabellon.tecnm.mx, "Kerry Mitchell" knitche3@sgu.edu

Dear Dr en C Avelar González,

We are pleased to inform you that your manuscript, "Characterization of Rhizopus microsporus Os4 strain isolated from arsenic-contaminated soil and bioremediation potential.", has been accepted for publication in
Water, Air, & Soil Pollution.

Please remember to quote the manuscript number, WATE-D-23-02833R1, whenever inquiring about your manuscript.

With best regards,
Journals Editorial Office
Springer



Characterization and evaluation of the bioremediation potential of *Rhizopus microsporus* Os4 isolated from arsenic-contaminated soil

Oscar Abraham Flores-Amaro · Magdalena Samanta Ramos-Gómez · Alma Lilian Guerrero-Barrera · Laura Yamamoto-Flores · Pamela Romo-Rodríguez · Kerry Mitchell · Francisco Javier Avelar-González

Received: 19 December 2023 / Accepted: 30 May 2024

© The Author(s), under exclusive licence to Springer Nature Switzerland AG 2024

Abstract The persistent presence of arsenic (As) pollution in soils worldwide poses a significant threat to human and environmental health, highlighting the urgent need for effective remediation strategies. Therefore, this study aims to evaluate the capacity of the *Rhizopus microsporus* Os4 fungal strain, to remove As from contaminated media in laboratory studies. *R. microsporus* Os4 was isolated from soils of a recreation area of Concepción del Oro, Zacatecas, México, where As concentrations ranged from 146.56 to 11,233.81 mg Kg⁻¹. Os4 was grown in a culture medium with arsenic V (As(V)), and strain resistance was determined at concentrations up to 15,000 mg L⁻¹. In removal assays using a liquid medium with 7,000 mg L⁻¹, Os4 was capable of reducing 90% of the As(V) concentration after 7 days. To determine whether arsenic has an impact on fungal cell walls,

Fourier Transform Infrared Spectroscopy analysis was performed, confirming the presence of functional groups in mycelium cell walls with the ability to facilitate the biosorption of arsenic mycelium cell walls. Scanning Electron Microscopy confirmed surface damage and cell morphology changes a response to cell stress induced by contact with As(V). These findings indicate that *R. microsporus* Os4 employs a biosorption mechanism on the cell wall for arsenic removal, suggesting its potential application in the bioremediation of arsenic-contaminated soils.

Keywords Biosorption · Bioremediation · Arsenic · Soil contamination · *Rhizopus* · Fungus

1 Introduction

Metal(loid)s including mercury (Hg), cadmium (Cd), lead (Pb), and arsenic (As), are not physiologically required and are toxic to living organisms even at low concentrations (Wondimu, 2018). Though these metals (loid)s are naturally occurring in soils, anthropogenic activities including mining, are notable contributors to their increased concentrations in the environment and the associated negative effects on the biota and soil quality (Alcalá-Jáuregui et al., 2014).

Arsenic is found in elevated concentrations in soils due to natural geochemical processes such as the weathering of arsenic-bearing minerals and volcanic activity. However, human activities, such as mining

O. Flores-Amaro · M. Ramos-Gómez ·
A. Guerrero-Barrera · L. Yamamoto-Flores ·
F. Avelar-González (✉)
Universidad Autónoma de Aguascalientes, Avenida
Universidad #940, 2023, Aguascalientes, Ags., México
e-mail: fjavelar@correo.uaa.mx

P. Romo-Rodríguez
Instituto Tecnológico de Pabellón de Arteaga, Carretera
a la estación de Rincón de Romos, Km. 1, 20,670,
Pabellón de Arteaga, Ags., México

K. Mitchell
St. George's University, True Blue, P. O. Box 7,
St. George's, Grenada

AGRADECIMIENTOS

Universidad Autónoma de Aguascalientes: agradezco a la máxima casa de estudios del estado, por haberme dado la oportunidad de hacer mi estancia doctoral.

CONAHCYT (Consejo Nacional de Humanidades, Ciencias y Tecnologías): por la beca No. 467195, la cual me ayudó a realizar y concluir la estancia doctoral.

Comité tutorial: Dra. Sam muchas gracias por su tiempo, disposición y consejos, no sólo en lo académico, si no en lo personal. Dra. Alma Lilian, agradezco sus asesorías y apoyo. Dr. Javier Avelar, estoy muy agradecido con usted por darme la oportunidad de realizar mi proyecto bajo su tutoría, y por darme la confianza de ser parte del equipo del LEA. Sin los consejos, experiencia y conocimiento integrado de mi comité, nada de esto hubiera sido posible.

Laboratorio de Estudios Ambientales: especialmente a Laurita, Paloma y Viri, más que compañeras son grandes amigas, e hicieron muy agradable la convivencia en el laboratorio.

Pupilos: gracias a los que fueron mis alumnos Carla, Frida, Isela y Edgar, por poner su granito de arena en la realización de mi proyecto de tesis.

Familia: mis papás Adán y Mary, que son mi fuente de inspiración, gracias a ellos he llegado hasta donde estoy, todo esto es por ustedes y para ustedes. Mis hermanos Magda y Felipe, agradezco también su apoyo infinito que, aunque no lo expresamos sabemos que nos tenemos siempre. Mis sobrinos, Isis, Kenia, Said, Natalia y Felipe, por quienes vale la pena esforzarse, saben que los quiero mucho (un ratito nada más).

Omar: eres el último, pero no por eso menos importante, decirte que ya son varios años de apoyo incondicional, en las buenas y en las malas hemos salido adelante y aprendido de eso. Gracias por todo tu apoyo, amor y cariño. Sin ti, esto no hubiera sido igual.

DEDICATORIA

A todos los que han creído en mí.



ÍNDICE GENERAL

ÍNDICE GENERAL.....	1
ÍNDICE DE TABLAS.....	7
ÍNDICE DE FIGURAS.....	8
RESUMEN.....	10
ABSTRACT.....	12
1. INTRODUCCIÓN.....	14
1.1. Metales pesados.....	15
1.2. Toxicología de metales.....	15
1.3. Contaminación ambiental por elementos químicos.....	16
1.4. Contaminación de suelos por elementos tóxicos.....	17
1.5. Arsénico (As).....	18
1.6. Contaminación ambiental por Arsénico.....	18
1.7. Contaminación de suelos por Arsénico.....	19
1.8. Factores que afectan la movilidad y acumulación de los metales.....	19
1.8.1. pH.....	20
1.8.2. Humedad.....	20
1.8.3. Salinidad.....	20
1.8.4. Capacidad de Intercambio Catiónico (CIC).....	21
1.8.5. Potencial Redox.....	21
1.8.6. Materia Orgánica.....	22
1.8.7. Carbonatos totales.....	22
1.8.8. Textura de suelo.....	22

1.9. Valores guía para metales	23
1.10. Remediación de suelos contaminados por metales.....	24
1.11. Transformaciones mediadas por microorganismos	24
1.12. Dinámica de metales	25
1.13. Movilización de metales.....	25
1.13.1. Biolixiviación.....	26
1.14. Inmovilización de metales pesados	26
1.14.1. Biosorción	26
1.14.2. Bioacumulación.....	27
1.14.3. Biomineralización	27
1.14.4. Biotransformación	27
1.15. Biorremediación.....	28
1.16. Diversidad microbiana en suelos	29
1.17. Micorremediación de suelos contaminados con metales pesados	30
2. ANTECEDENTES.....	32
2.1. Zacatecas	32
2.2. Minería en Zacatecas	33
2.3. Concepción del Oro	33
2.4. Minería en Concepción del Oro	34
2.5. Determinación de arsénico en suelos de Concepción del Oro	34
3. JUSTIFICACIÓN.....	36
4. HIPÓTESIS.....	37
5. OBJETIVOS.....	37
5.1. Objetivo general.....	37
5.2. Objetivos particulares	37

6. METODOLOGÍA	38
6.1. Muestreo y transporte de muestras	38
6.1.1. Zona de muestreo	38
6.1.2. Equipo de Muestreo	39
6.1.3. Técnica de muestreo	39
6.1.4. Transporte de muestras	40
6.2. Cuantificación de Metales	40
6.3. Análisis fisicoquímico de las muestras de suelo	41
6.3.1. Medición de pH	41
6.3.2. Contenido de humedad	41
6.3.3. Conductividad eléctrica	42
6.3.4. Potencial redox	42
6.3.5. Contenido de materia orgánica	43
6.3.6. Capacidad de intercambio catiónico	43
6.3.7. Carbonatos totales	44
6.3.8. Textura de suelo	44
6.4. Movilidad de metales en muestras de suelo	45
6.4.1. Potencial de lixiviación	45
6.4.2. Extracción secuencial.....	45
6.5. Aislamiento de hongos microscópicos.....	46
6.5.1. Medio de cultivo Papa Dextrosa Agar (PDA)	47
6.5.2. Método de siembra directa en placa	47
6.5.3. Selección y aislamiento de colonias.....	47
6.5.4. Técnica de dilución por agotamiento.....	48
6.5.5. Purificación de colonias.....	49

6.6.	Colección de hongos	49
6.6.1.	Conservación por suspensión en agua destilada y glicerol.....	49
6.7.	Identificación morfológica de los hongos aislados	49
6.7.1.	Observación macroscópica por fragmentación fúngica.....	50
6.7.2.	Observación microscópica por microcultivo	50
6.8.	Estudio de la resistencia de los hongos a la presencia de arsénico	51
6.9.	Identificación molecular de los hongos con mayor capacidad de resistencia a arsénico.....	51
6.9.1.	Obtención de biomasa fúngica.....	51
6.9.2.	Extracción de ADN fúngico	52
6.9.3.	Secuenciación de ADN para identificación molecular de hongos	53
6.10.	Estudio de la interacción hongo-arsénico	53
6.10.1.	Microscopía Electrónica de Barrido (SEM).....	53
6.10.2.	Espectroscopia Infrarroja (FTIR).....	54
6.10.3.	Peso seco	55
6.10.4.	Interacción hongo – arsénico	55
6.10.5.	Digestión de muestras para absorción atómica por el método de generador de hidruros.....	56
7.	RESULTADOS.....	57
7.1.	Muestreo de suelos	57
7.2.	Determinación de la concentración de metales y metaloides	58
7.3.	Caracterización fisicoquímica de las muestras de suelos de Concepción del Oro, Zacatecas	73
7.3.1.	Contenido de humedad	74
7.3.2.	pH	75
7.3.3.	Conductividad	76

7.3.4.	Potencial Redox	77
7.3.5.	Materia Orgánica.....	78
7.3.6.	Carbonatos totales	80
7.3.7.	Capacidad de Intercambio Catiónico (CIC).....	82
7.3.8.	Textura de suelos.....	83
7.4.	Estudios de la movilidad de metales.....	84
7.4.1.	Potencial de lixiviación	84
7.4.2.	Fraccionamiento de metales	85
7.4.3.	Factor de movilidad.....	93
7.5.	Aislamiento de hongos de suelos de Concepción del Oro, Zacatecas contaminados con arsénico y metales	94
7.5.1.	Siembra directa y selección de colonias fúngicas	94
7.5.2.	Purificación de colonias fúngicas	95
7.5.3.	Hongos aislados.....	95
7.6.	Caracterización morfológica de los hongos aislados	97
7.7.	Resistencia de los hongos aislados a la presencia de As(V).....	99
7.8.	Identificación molecular de los hongos más resistentes a la presencia de As(V)	106
7.9.	Efecto del As(V) sobre el crecimiento de los hongos.....	112
7.9.1.	Características morfológicas de los hongos expuestos a As(V).....	112
7.9.2.	Espectroscopia Infrarroja (FTIR).....	118
7.9.3.	Estudio de la interacción del hongo con As(V).....	123
8.	DISCUSIÓN.....	125
9.	CONCLUSIÓN.....	130
10.	REFERENCIAS	132
11.	ANEXOS	143

Anexo A. Hongos aislados de las muestras de suelo del municipio de Concepción del Oro, Zacatecas..... 143

Anexo B. Descripción e identificación morfológica de los hongos aislados de las muestras de suelo de Concepción del Oro, Zacatecas..... 149



ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Metales tóxicos con los que es frecuente la exposición en el ambiente u ocupacional.....	16
Tabla 2. Valores guía para la clasificación de la contaminación de suelos y sedimentos ($\mu\text{g/g}$).....	23
Tabla 3. Textura de las muestras de suelo.....	83
Tabla 4. Factor de movilidad de los elementos determinados en las muestras de suelo.....	93
Tabla 5. Hongos aislados en cada punto de muestreo.....	97
Tabla 6. Identificación morfológica (macro y microscópica) de los hongos aislados de muestras de suelo de Concepción del Oro, Zacatecas.....	98
Tabla 7. Diámetro de los hongos aislados que fueron expuestos frente a As(V)	101
Tabla 8. Resultados de la concentración y pureza del ADN extraído de los hongos que presentaron mayor resistencia a As(V)	106
Tabla 9. Porcentajes de identidad de los fragmentos secuenciados e identificación del género y especie de los hongos con mayor resistencia a As(V)	107

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Parámetros utilizados para considerar aplicación de biorremediación.	29
Figura 2. Localización del estado de Zacatecas.	32
Figura 3. Localización del municipio de Concepción del Oro, Zacatecas.	34
Figura 4. Sitios de muestreo en el municipio de Concepción del Oro, Zacatecas. ...	35
Figura 5. Imagen satelital de las zonas de muestreo.	38
Figura 6. Esquema de distribución en tresbolillo.	40
Figura 7. Técnica de dilución por agotamiento.	48
Figura 8. Fotografía satelital de la zona de jales mineros.	57
Figura 9. Fotografía satelital de la zona deportiva.	57
Figura 10. Concentración de Arsénico (mg/Kg).	59
Figura 11. Concentración de Cadmio (mg/Kg).	61
Figura 12. Concentración de Plomo (mg/Kg).	63
Figura 13. Concentración de Níquel (mg/Kg).	64
Figura 14. Concentración de Cobre (mg/Kg).	66
Figura 15. Concentración de Zinc (mg/Kg).	68
Figura 16. Concentración de Aluminio (mg/Kg).	69
Figura 17. Concentración de Manganeso (mg/Kg).	70
Figura 18. Concentración de Hierro (mg/Kg).	71
Figura 19. Concentración de Cromo (mg/Kg).	72
Figura 20. Contenido de humedad (%).	74
Figura 21. pH.	75
Figura 22. Conductividad ($\mu\text{S}/\text{cm}$).	76
Figura 23. Potencial Redox (mV).	77
Figura 24. Materia orgánica (%).	79
Figura 25. Cantidad de carbonatos (%).	81
Figura 26. Capacidad de Intercambio Catiónico (Cmol/Kg).	82
Figura 27. Porcentajes de recuperación del Cu.	86
Figura 28. Porcentajes de recuperación del Pb.	86
Figura 29. Porcentajes de recuperación del Zn.	87
Figura 30. Porcentajes de recuperación del Cd.	88

Figura 31. Porcentajes de recuperación del Ni.	88
Figura 32. Porcentajes de recuperación del Al.	89
Figura 33. Porcentajes de recuperación del Fe.	90
Figura 34. Porcentajes de recuperación del Mn.	90
Figura 35. Porcentajes de recuperación del Cr.	91
Figura 36. Porcentajes de recuperación del As.	92
Figura 37. Diversidad de hongos.	95
Figura 38. Técnica de dilución por agotamiento en placa con medio PDA.	95
Figura 39. Imagen representativa de hongos aislados.	96
Figura 40. Porcentaje de los géneros identificados en cuanto a morfología macro y microscópica.	99
Figura 41. Efecto del As(V) sobre los hongos con mayor resistencia a As(V).	105
Figura 42. Microscopía Electrónica de Barrido (SEM) de los hongos con mayor resistencia a As(V).	117
Figura 43. Peso seco en miligramos de la biomasa de los hongos.	118
Figura 44. Espectros de FTIR de los hongos con mayor resistencia a As(V).	122
Figura 45. Cinética de interacción hongo–As(V).	123
Figura 46. Porcentaje de As(V) determinado en la biomasa fúngica.	124

RESUMEN

Los estudios de biorremediación hoy en día son un tema de gran importancia, debido a que se han convertido en tecnologías eficaces y de bajo costo, los hongos que se aíslan de suelos que han sido afectados por actividades antropogénicas son la base perfecta para este tipo de estudio y su posterior aplicación como biorremediador.

La minería, es una actividad de importancia económica en el municipio de Concepción del Oro, Zacatecas, ya que es una fuente de empleo para los habitantes, sin embargo, al paso de los años y conforme se lleva a cabo la explotación de los suelos de este municipio y el mal manejo de los desechos mineros, se han alterado los ecosistemas de tal manera que han incrementado la concentración de elementos químicos que se encuentran normalmente en suelos a concentraciones que tienen un efecto ambiental considerable.

Los estudios realizados a los sitios muestreados de este municipio, muestran concentraciones que sobrepasan el límite máximo permisible que reportan algunas normativas nacionales e internacionales, como es el caso del arsénico que está muy por arriba del LMP en el total de las muestras, sabiendo que este es un elemento tóxico con graves repercusiones a la salud y al ambiente, otros metales como el plomo, cadmio, cobre y zinc también sobrepasan los valores de referencia.

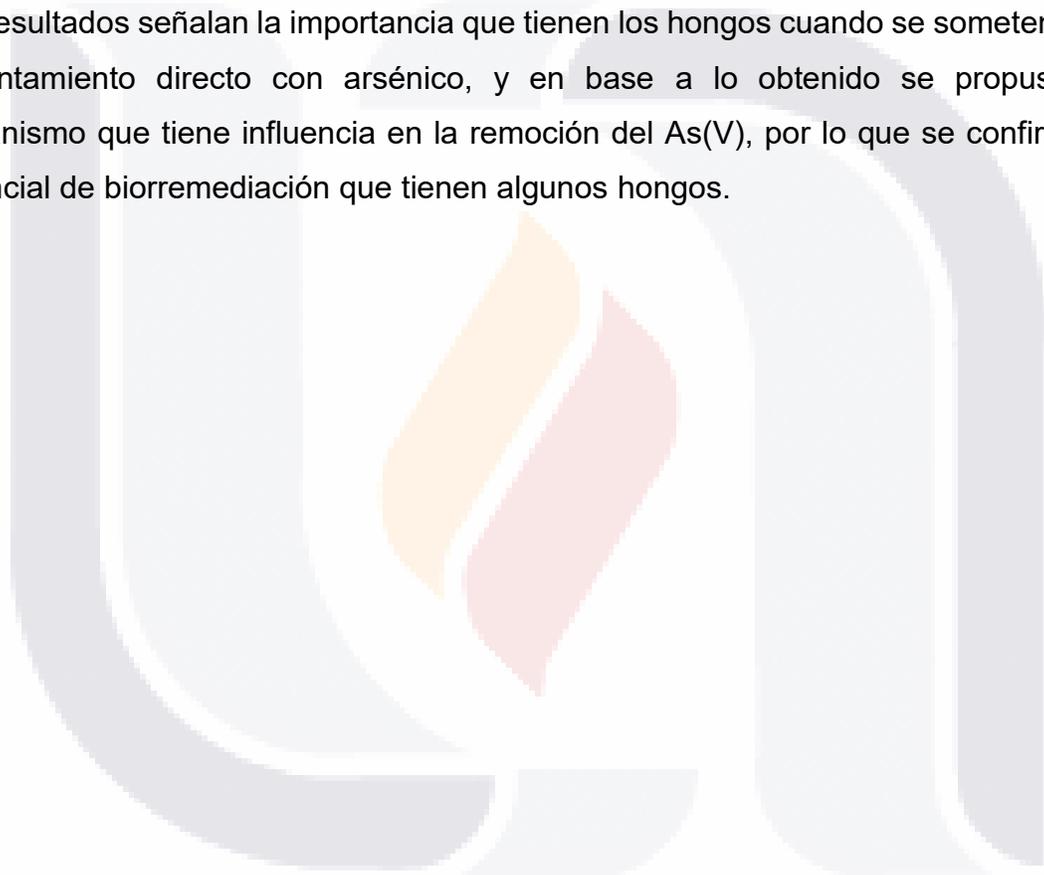
Los parámetros fisicoquímicos determinados nos muestran que se trata de un sistema aerobio, con condiciones oxidantes, bajo en sales y de carácter alcalino; en relación con los elementos determinados, se observa que hay baja o nula movilidad de metales en los suelos, sin importar los cambios de condiciones a los que se expongan.

Si se relacionan los valores fisicoquímicos con el aspecto microbiológico, las condiciones son perfectas para el desarrollo de microorganismos, en específico para el desarrollo de hongos microscópicos. Teniendo en cuenta el alto contenido de contaminantes presentes en los suelos, estos microorganismos han desarrollado

sistemas de adaptación que les permiten crecer en este ambiente de condiciones extremas.

Por todo lo anterior, fue importante obtener hongos microscópicos de las muestras de suelos con altas concentraciones de arsénico, se analizó la tolerancia de estos y se realizó estudios de interacción de los hongos que resultaron los más resistentes a la presencia de As(V) en el medio de cultivo.

Los resultados señalan la importancia que tienen los hongos cuando se someten a un enfrentamiento directo con arsénico, y en base a lo obtenido se propuso un mecanismo que tiene influencia en la remoción del As(V), por lo que se confirma el potencial de biorremediación que tienen algunos hongos.



ABSTRACT

Bioremediation studies are an important topic because they have become efficient and low-cost technologies. Fungi isolated from soils affected by anthropogenic activities are the perfect basis for this type of study and its subsequent application as a bioremediation method.

Mining is a significant economic activity in the municipality of Concepción del Oro, Zacatecas. It provides employment for inhabitants; however, over the years, soil exploitation in the municipality, coupled with mismanagement of mining waste, has altered ecosystems. The concentration of chemical elements typically found in soils has increased considerably, resulting in serious environmental effects.

Studies conducted at sampled sites in the municipality reveal concentrations that surpass the maximum permissible limits set by some national and international regulations. For instance, arsenic levels exceed the permissible limit in all samples. Arsenic is a known toxic element with severe repercussions for health and the environment. Metals such as lead, cadmium, copper, and zinc also exceed reference values.

Physicochemical parameters indicate an aerobic system with oxidizing conditions, low salt content, and an alkaline character concerning certain elements. There is low to no mobility of metals in soils, despite the changing conditions they are exposed.

The physicochemical values are linked to the microbiological aspect, creating ideal conditions for the development of microorganisms, especially microscopic fungi. Given the high pollutant content in soils, these microorganisms have developed adaptive systems that allow them to thrive in such extreme conditions.

For all the aforementioned reasons, obtaining microscopic fungi from soil samples with high arsenic concentrations was crucial. The fungi's tolerance to arsenic was

assessed, and interaction studies were conducted on those showing the highest resistance to As(V) in the culture medium.

The results underscore the importance of fungi when confronted with arsenic. Based on these findings, a mechanism influencing As(V) removal was proposed, confirming the bioremediation potential of certain microorganisms.



1. INTRODUCCIÓN

Los elementos químicos son de gran importancia debido a su toxicidad, algunos de ellos son absorbidos, se bioacumulan y biomagnifican en los organismos transportándose a toda la cadena alimenticia y causando daños severos a los consumidores.

La minería es una de las principales fuentes de propagación de metales y metaloides hacia el ambiente, ocasionando grandes afecciones al agua, aire y suelo; esta industria es una de las principales fuentes de desarrollo económico del estado de Zacatecas teniendo varias cabeceras municipales como zonas mineralizadas, las más importantes son: Fresnillo, Zacatecas, Sombrerete, Chalchihuites y Concepción del Oro.

En este último, la explotación de los minerales es la actividad primaria, puesto que se trabajaban varios metales de importancia industrial. Sin embargo, la mala disposición de los desechos que se producen en la mina sigue formando parte del poblado de este municipio, por lo tanto, la contaminación sigue propagándose afectando la salud de los habitantes y del medio ambiente.

En la actualidad existe un sólo estudio realizado por Medrano-Monreal (2010), en el cual determinó la concentración de arsénico total, y observó que la cantidad de arsénico en el área de estudio sobrepasaba el límite máximo permisible (LMP), según la NOM-147-SEMARNAT/SSA1-2004. Debido a lo anterior, surgió el interés de estudiar los suelos de una zona contaminada con arsénico y metales pesados, desde su caracterización fisicoquímica, hasta pruebas de biorremediación con hongos aislados de dicha zona.

Por lo que se realizó un aislamiento de hongos microscópicos nativos de la zona de muestreo, se midió la tolerancia a arsénico, y los que resultaron con la mayor capacidad de tolerancia se procedió a identificarlos mediante técnicas moleculares.

La tolerancia a arsénico, se basó en los resultados de la caracterización del suelo, se decidió realizar los estudios con arsénico debido a que fue el único elemento que sobrepasó el LMP en el 100% de las muestras. Por esa razón, uno de los objetivos principales es encontrar el uso potencial de los hongos microscópicos para biorremediación, y elucidar al menos un mecanismo que influya directamente en la movilidad y/o toxicidad del arsénico.

1.1. Metales pesados

Los metales pesados, son elementos químicos que se caracterizan por tener su peso atómico elevado, además poseen la característica de ser potencialmente tóxicos. Algunos de ellos son empleados en la industria, tales como: cadmio (Cd), cobre (Cu), plomo (Pb), mercurio (Hg) y níquel (Ni), estos metales pueden ser nocivos para el ambiente y la salud humana y animal incluso a bajas concentraciones (Rodríguez-Heredia, 2017).

No existe alguna definición que describa a los metales pesados, sin embargo, se puede decir que es un grupo de elementos que tienen como características un alto grado de contaminación y toxicidad (Ruiz, 2010).

Los elementos químicos se encuentran naturalmente en la corteza terrestre en concentraciones muy bajas, por lo que un aumento de concentración en cantidades nocivas es a lo que se le denomina “contaminación” (Vázquez-Arias, A., Martín-Peinado, F. J., & Parviainen, A., 2023).

1.2. Toxicología de metales

Elementos químicos como el cadmio, cromo, mercurio, plomo y arsénico, normalmente no se requieren para el metabolismo y son extremadamente tóxico a bajas concentraciones. (Zekarias, M. T., & Rao, G. N., 2012). Estos elementos son considerados como peligrosos contaminantes, ya que tienen efectos tóxicos y una

tasa de remoción lenta (Świetlik, R., & Trojanowska, M., 2022). Los mecanismos de toxicidad, usualmente son el resultado de un bloqueo de grupos funcionales (-OH, -SH y -N), o bien por una modificación en el material genético (DNA) de algún organismo (Zekarias, M. T., & Rao, G. N., 2012).

En la Tabla 1, se muestran los elementos tóxicos con los que frecuentemente se tiene exposición en el ambiente, resaltando que la exposición es común y diferentes órganos pueden ser afectados debido a la constante exposición (Hardman, J. G., Limbird, L. E., Molinoff, P. B., Ruddon, R. W. & Goodman Gilman, A., 2012).

Tabla 1. Metales tóxicos con los que es frecuente la exposición en el ambiente u ocupacional.

Elemento	Origen de exposición	Órganos y sistemas sensibles
Arsénico (As)	Agua potable	Cardiovascular, piel.
Plomo (Pb)	Pinturas, Tierra	SNC, Riñones, Cardiovascular
Cadmio (Cd)	Alimentos, Tabaco	Riñones, vías respiratorias
Mercurio (Hg)	Aire, Alimento	SNC, Riñones
Cromo (Cr)	Ocupacional	Vías respiratorias

1.3. Contaminación ambiental por elementos químicos

Los elementos químicos, se relacionan con el desgaste y deterioro del medio ambiente, que, a su vez, repercute sobre la calidad de vida de los seres humanos (Chen, J. P., Wang, L. K., Wang, M. H. S., Hung, Y. T., & Shamma, N. K., 2016). La minería es la principal responsable de la introducción de numerosos elementos en diferentes entornos, lo que tiene un efecto perjudicial en la biota y en la calidad del suelo. Las altas concentraciones de contaminantes en el suelo afectan la calidad de los alimentos que, más adelante, se integrarán en la cadena alimentaria (Alcalá-Jáuregui, J. A., Rodríguez Ortiz, J. C., Hernández Montoya, A., Villarreal-Guerrero, F., Cabrera Rodríguez, A., Beltran Morales, F. A., & Díaz Flores, P. E., 2014).

El impacto ambiental que producen las actividades antropogénicas tienen como resultado un desbalance natural de un sistema como lo es el suelo (Borzi, G., Tanjal, C., Santucci, L., & Carol, E., 2019). El suelo puede verse afectado por la contaminación del aire y del agua, ya que, al depositarse sobre él, pueden alterar su nivel normal de acidez y salinidad, lo que reduce su fertilidad, esto es de gran importancia, ya que de los suelos dependen diferentes actividades que son importantes para el sustento y soporte de la vida, como son: agricultura, ganadería, recursos forestales, mantos acuíferos y los diversos ecosistemas (Nava Escudero, 2022).

Los elementos se asocian con minerales como carbonatos o sulfatos, y en mayor medida con sustancias orgánicas, a través de procesos como intercambio iónico, adsorción, quelación, formación de compuestos químicos, entre otros. Esto provoca su acumulación en el entorno, especialmente en suelos y sedimentos acuáticos, donde actúan como reservorios, bajo ciertos cambios en las condiciones ambientales, como variaciones en el pH, potencial redox, oxígeno disuelto y la presencia de agentes quelantes, estos elementos pueden ser liberados (Rosas Rodríguez, 2001; Martínez-Guijarro, R., Paches, M., Romero, I., & Aguado, D., 2019).

1.4. Contaminación de suelos por elementos tóxicos

La peligrosidad de los contaminantes en el suelo se determina por su concentración total y su disponibilidad. La movilidad de los elementos está condicionada por su forma química y se ve influenciada por varios factores del entorno geológico y edáfico (Huertos, E. G., & Baena, A. R., 2008).

De los elementos encontrados en suelos, varios son considerados como tóxicos y disponibles, como lo son: cadmio (Cd), cobalto (Co), cobre (Cu), mercurio (Hg), níquel (Ni), plomo (Pb), antimonio (Sb), selenio (Se), estaño (Sn), telurio (Te), zinc (Zn) y arsénico (As), estos elementos, son movilizados por actividades antropogénicas, lo que hace que excedan las concentraciones permitidas (Liapun, V., & Motola, M.,

2023). La EPA (US Environmental Protection Agency) reporta contaminantes prioritarios, a aquellos que debido a su alto grado de toxicidad y disponibilidad en suelos causan un deterioro, son: cromo, mercurio, plomo y arsénico (US EPA, 1996).

1.5. Arsénico (As)

El arsénico es un elemento natural que está presente en el aire, agua y suelo, y que por actividades antropogénicas es un potente causante de contaminación (Medina-Pizzali, M., Robles, P., Mendoza, M., & Torres, C., 2018). La exposición a As aumenta el riesgo de algunas enfermedades, incluidas lesiones cutáneas, hipertensión, diabetes y daño al sistema reproductivo (Souri, Z., Karimi, N., & Sandalio, L. M., 2017). La toxicidad del As se dependerá de la concentración total y de la especie química (Ng, 2005). Las formas inorgánicas de arsénico son más peligrosas que las orgánicas, y dentro de las formas inorgánicas, el arsenito (As(III)) se considera más tóxico que el arseniato (As(V)) (Yang, T., Liu, Y., Wang, L., Jiang, J., Huang, Z., Pang, S. Y. & Ma, J., 2018).

1.6. Contaminación ambiental por Arsénico

El arsénico es un elemento habitual en el suelo y se encuentra en diversas rocas, ciertas actividades industriales, como la minería y la fundición de metales, son las principales fuentes humanas de contaminación por arsénico. (Pacyna, J. M., & Pacyna, E. G., 2001). Una vez que el arsénico se ha depositado en el suelo, puede acumularse rápidamente mediante la absorción, lixiviación o erosión, lo que aumenta el riesgo de contaminación de los ecosistemas debido a este elemento. (Carlin, D. J., Naujokas, M. F., Bradham, K. D., Cowden, J., Heacock, M., Henry, H. F., & Waalkes, M. P., 2016).

Algunos plaguicidas arsenicales como el arsenito de sodio se han utilizado ampliamente, y terminan acumulándose en los suelos aumentando su concentración y por lo tanto su toxicidad, la Agencia para el Registro de Sustancias Tóxicas y

Enfermedades clasificó el arsénico como el primer compuesto en la lista de prioridades en función de su frecuencia, toxicidad y potencial para la exposición humana, que señala el hecho de que es de gran preocupación toxicológica (ATSDR, 2007).

1.7. Contaminación de suelos por Arsénico

El arsénico puede ingresar al suelo mediante tormentas de polvo y aguas de escorrentía, lo que ocasiona una amplia distribución de la contaminación por arsénico debido a su fácil dispersión (Gillispie, E. C., Sowers, T. D., Duckworth, O. W., & Polizzotto, M. L., 2015).

Según las condiciones fisicoquímicas del suelo, ciertos compuestos de arsénico pueden disolverse fácilmente en agua y ser absorbidos por los microorganismos, lo que resulta en altos niveles de biodisponibilidad (Tsai, S. L., Singh, S., & Chen, W., 2009). La contaminación del suelo con arsénico puede ser una fuente significativa de este contaminante en los ecosistemas terrestres cercanos a las zonas mineras, y eventualmente puede causar daños en la estructura y el funcionamiento de dichos ecosistemas. Por consiguiente, esta contaminación se ha convertido en una preocupación creciente a nivel global (Maunoury-Danger, F., Felten, V., Bojic, C., Fraysse, F., Ponce, M. C., Dedourge-Geffard, O. & Danger, M., 2018).

En México, la Norma Oficial Mexicana 147 establece la concentración límite de arsénico para suelo de uso agrícola/residencial/comercial, siendo ésta de 22 mg kg^{-1} (NOM-147, 2004).

1.8. Factores que afectan la movilidad y acumulación de los metales

La movilidad de los metales en suelos, es de suma importancia, ya que determina la biodisponibilidad de los contaminantes y que puedan ser tomados por plantas y microorganismos (Zango Usman, U., Mukesh, Y., Vandana, S., Sharma, J. K., Sanjay,

P., Sidhartha, D., & Sharma Anil, K. , 2020). La disponibilidad y toxicidad de un metal presente en suelo, es directamente influenciado por algunos parámetros fisicoquímicos, por lo que resulta ser necesario determinar las siguientes propiedades (Ramos-Gómez Magdalena, Avelar-González Francisco, Medel-Reyes Alejandro, Yamamoto Laura, Godinez Luis, Ramírez Marcela, Guerra Ricardo, Rodríguez Francisco., 2012):

1.8.1. pH

El pH, es un factor clave en los procesos del suelo y en la movilidad de los contaminantes, en general, los suelos con pH básico muestran una mayor capacidad de adsorción que los suelos ácidos, lo que resulta en una mayor retención de metales en suelos alcalinos. La mayoría de los metales tienden a estar más disponibles en suelos ácidos, con excepción del arsénico, molibdeno, cromo y selenio, los cuales presentan una mayor movilidad en suelos con pH básico (Sauvé, S., Hendershot, W., & Allen, H. E., 2000).

1.8.2. Humedad

La presencia de agua en suelo puede ser tanto benéfico como perjudicial, ya que el exceso de este líquido favorece la lixiviación de algunos compuestos, por lo que el agua es un regulador de propiedades físicas, químicas y biológicas en suelos (Di Prima, S., Rodrigo-Comino, J., Novara, A., Iovino, M., Pirastru, M., Keesstra, S., & Cerdà, A., 2018).

1.8.3. Salinidad

La conductividad eléctrica, es un parámetro que se usa para determinar la cantidad de sales en los suelos, consiste en la velocidad con que la corriente eléctrica pasa a través de una solución salina, y es proporcional a la cantidad de sales en solución.

El incremento de la concentración de sales en suelos, puede aumentar la movilidad de contaminantes por dos mecanismos:

- Primero, los cationes que están asociados a las sales de sodio y potasio, reemplazan a los metales en los sitios de adsorción.
- Segundo, los cloruros forman complejos que son solubles y estables con los metales (Dorronsoro C., Garcia I., y Aguilar J., 2000).

Los suelos se clasifican en función al contenido de sales: muy salinos (mayor de 1150 $\mu\text{S/cm}$), salinos (entre los 650 y 1150 $\mu\text{S/cm}$), ligeramente salino (entre 350 y 650 $\mu\text{S/cm}$), y no salino (menor de 350 $\mu\text{S/cm}$) (Domènech, X., 1995).

1.8.4. Capacidad de Intercambio Catiónico (CIC)

La CIC se refiere al número de moles de iones de carga positiva adsorbidos, y que tienen la capacidad de ser intercambiados por unidad de masa seca (Sposito G., 1989).

La CIC varía dependiendo de la textura de suelo, pero principalmente dependerá del pH, lo cual aumenta en suelos con altos contenidos de cargas variables. En general cuanto mayor sea la capacidad de intercambio catiónico mayor será la capacidad del suelo para fijar metales. (Pansu, 2006).

1.8.5. Potencial Redox

La movilidad, y a su vez, la biodisponibilidad de los elementos tóxicos dependen directamente del estado de oxidación en que se encuentran, por lo tanto, dependen del potencial redox y de las variaciones de pH (Ordóñez Fernandez, R., Giráldez Cervera, J. V., Vanderlinden, K., Carbonell Bojollo, R., & González Fernández, P., 2007).

1.8.6. Materia Orgánica

La acomplejación por la materia orgánica, es un fenómeno que controla la solubilidad y disponibilidad de los elementos presentes en suelos, la toxicidad de los contaminantes aumenta por su facilidad a formar complejos organometálicos, lo que facilitará la solubilidad, movilidad y biodisponibilidad (Gerritse, R. G., & Van Driel, W., 1984). La estabilización de los complejos que se forman, son causa de la toxicidad, sin embargo, la formación de dichos complejos, refleja una disminución en la concentración de iones tóxicos en el suelo (Sharma, B., Sarkar, A., Singh, P., & Singh, R. P., 2017).

1.8.7. Carbonatos totales

La presencia de carbonatos solubles en suelos, se relaciona directamente con el pH, suelos con alto contenido de carbonato suelen tener un pH neutro o alcalino, mientras que en suelos con poca o nula cantidad de carbonatos tendrán un pH ácido (Taboada, M. A., & Lavado, R. S., 2009).

1.8.8. Textura de suelo

Este parámetro, se utiliza para determinar la constitución del suelo, determina de manera cuantitativa la cantidad de arena, arcilla y limo. La textura determina la capacidad del suelo para retención de agua y el comportamiento que tiene ante la presencia de contaminantes.

La arcilla, presenta un papel importante sobre la movilidad de los contaminantes, ya que son adsorbidos y retenidos. Por otro lado, la arena, no tiene la capacidad de fijar contaminantes, los cuales podrían pasar al subsuelo, y finalmente ser depositados en los mantos freáticos (Pierzynski, G. M., Vance, G. F., & Sims, J. T. , 2005).

1.9. Valores guía para metales

Es importante conocer los valores de referencias que se han publicado en diferentes documentos por organizaciones nacionales e internacionales, si bien es importante saber los parámetros fisicoquímicos, también es de relevancia conocer la concentración de metales presentes en suelos, y así determinar si sobrepasan los límites permisibles y que posibles repercusiones podría traer estas altas concentraciones.

Los límites máximos permisibles (LMP) son más estrictos para suelos agrícolas que para suelos residenciales y recreativos, y todavía más exigentes que para suelos industriales.

En la Tabla 2, se muestran los valores guía para clasificar el grado de contaminación de suelos y sedimentos, es importante conocer los LMP de estos elementos, debido a que son altamente contaminantes (US EPA, 1977; Dorronsoro C., Garcia I., y Aguilar J., 2000; Pierzynski, G. M., Vance, G. F., & Sims, J. T., 2005).

Tabla 2. Valores guía para la clasificación de la contaminación de suelos y sedimentos ($\mu\text{g/g}$).

	Moderadamente contaminado (1)	Muy contaminado (2)	Efecto medio (3)	Efecto severo (4)	LMP (A)	LMP (B)
Arsénico	2 – 8	>8	6	33	22	--
Cadmio	--	>6	0.6	10	37	--
Cromo	25 – 75	>75	26	110	280	--
Cobre	25 - 50	>50	16	110	--	168
Fierro	17000 - 25000	>25000	--	--	--	--
Plomo	40 - 60	>60	31	250	400	--
Zinc	90 - 200	>200	550	4800	--	904
Níquel	20 - 50	>50	16	75	--	420
Aluminio	--	--	--	--	--	--
Manganeso	300 - 500	>500	460	1100	--	--
Mercurio	--	1	0.2	2	23	--

Fuente: (1), (2) y (B): Guidelines for Pollution Classification of Great Lakes Harbor Soils and Sediments ($\mu\text{g/g}$), adaptado de USEPA (US EPA, 1977). (3) y (4): Soils and Sediments Quality of Ontario Ministry of the Environment and Energy for nutrients and metals, adaptado de OME (OME, 1992). (A) Norma Oficial Mexicana-147-SEMARNAT/SSA1-2004 (NOM-147, 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.

LMP= Límite Máximo Permissible.

1.10. Remediación de suelos contaminados por metales

La aplicación de tecnologías de remediación, tienen como objetivo proteger y si es posible restaurar el medio ambiente, y, por ende, a la salud humana. En términos de la contaminación por metales en suelos, se puede cumplir la meta mediante el uso de tecnologías que provocan baja solubilidad, movilidad, toxicidad y biodisponibilidad de los elementos contaminantes (Hu, H., Jin, Q., & Kavan, P. , 2014). Las tecnologías basadas en uno o varios de estos principios, dependerá de la especiación química del elemento y las propiedades fisicoquímicas del suelo en que se encuentran (Pradhan, S., Kumar, S., Kumar, Y., & Sharma, H. C., 2019).

1.11. Transformaciones mediadas por microorganismos

Las interacciones entre microorganismos y metales y elementos como carbono, nitrógeno, fosforo y azufre, son parte de los ciclos biogeoquímicos. Estas interacciones son importantes en la materia de biotecnología ambiental, ya que son la base para implementar metodologías de remoción, recuperación o detoxificación de contaminantes (Nuñez, W. E., Sotomayor, D. A., Ballardo, C. V., & Herrera, E., 2023). Dependerá del estado químico de oxidación y especie en la que se presenta un elemento, los microorganismos puede realizar dos posibles fenómenos:

- **Movilización**, ocurre cuando un elemento que en su etapa inicial es insoluble, pasa a un estado soluble en su etapa final, en fase acuosa. Este proceso es conocido como lixiviación microbiana (Vullo L. D., 2003).
- **Inmovilización**, este fenómeno ocurre cuando el elemento esta soluble en su etapa inicial, y pasa a ser insoluble en su etapa final, en fase sólida (Vullo L. D., 2003).

1.12. Dinámica de metales

La presencia de metales de mayor densidad (metales pesados) en suelos, es extremadamente duradera, se pueden encontrar hasta miles de años después de haberse depositado en la matriz. Una vez incorporados al suelo, pueden continuar en cuatro posibles vías:

- i) Se quedan retenidos en el suelo, disueltos en la fase acuosa o fijados por procesos de adsorción o precipitación.
- ii) Son absorbidos por la vegetación, para terminar incorporados en las cadenas tróficas.
- iii) Ser volátiles y pasar a la atmósfera.
- iv) Ser móviles y pasar a las aguas superficiales y subterráneas.

El impacto sobre el ambiente que generan los elementos contaminantes, siempre dependerán de la especiación, su facilidad de movilización y por lo tanto, la disponibilidad (Manceau, A., Lanson, B., Schlegel, M. L., Harge, J. C., Musso, M., Eybert-Berard, L., & Lamble, G. M., 2000; Voegelin, A., Barmettler, K., & Kretzschmar, R., 2003; Basta, N. T., Ryan, J. A., & Chaney, R. L. , 2005; Alloway, B. J., 2013).

1.13. Movilización de metales pesados

La movilización de metales en suelo es un proceso que se puede dar de manera natural, ya sea por la intervención de la actividad biológica, interacciones de partículas sólido-líquido, o bien por la acción del agua que proviene de la lluvia.

Los mecanismos anteriores ocasionan el proceso conocido como biolixiviación (Vullo L. D., 2003).

1.13.1. Biolixiviación

La biolixiviación se refiere a la disolución de un elemento por acción de un agente lixivante propio o externo suministrado en las condiciones fisicoquímicas adecuadas (Cárdenas, F., Díaz, M., Guajardo, C., & Oliva, M., 2011).

Este mecanismo ocurre por la liberación de compuestos orgánicos que tienen la capacidad de formar complejos y solubilizar metales (Vullo L. D., 2003).

1.14. Inmovilización de metales pesados

La inmovilización de metales, son procesos de gran importancia, ya que de esto dependerá la baja disponibilidad de los contaminantes, lo cual tiene una influencia directa sobre la toxicidad del metal, algunos de estos mecanismos son: biosorción, bioacumulación, biomineralización y biotransformación (Vullo L. D., 2003).

1.14.1. Biosorción

Este mecanismo se caracteriza por la retención del contaminante, que se lleva a cabo mediante ligandos sobre la pared celular, a través de grupos funcionales de moléculas que componen la pared celular y que son expuestos al exterior, por ejemplo: carboxilo, amino, hidroxilo y sulfhidrilo (Cuizano, N. A., & Navarro, A. E., 2008).

Los microorganismos que son aislados de entornos contaminados, son utilizados como biosorbentes, estos, retienen a los metales por muy corto tiempo, lo que conlleva a una disminución de costos en las técnicas de biorremediación, ya que no requiere que se le añadan nutrientes extras. Por esta razón, el estudio de los microorganismos con esta capacidad es de importancia y está en crecimiento, ya que se pueden utilizar para aumentar el rendimiento en la captación e inmovilización de los elementos contaminantes (Vullo L. D., 2003).

1.14.2. Bioacumulación

El mecanismo de bioacumulación, se refiere al incremento en la concentración de uno o más elementos en los organismos (Perales Aguilar, L., Santos Díaz, M. D. S., Gómez Aguirre, Y. A., Ramos Gómez, M. S., & Pérez Molphe Balch, E. , 2020).

La bioacumulación, involucra la internalización de metales que se encuentran en el entorno de la célula, a través de un sistema de transporte de membrana. Cuando el metal se encuentra en el citoplasma, es captado por metalotioneínas ricas en grupo sulfhidrilos, o bien, encapsulados en vacuolas, tal y como ocurre en los hongos (Vullo L. D., 2003).

1.14.3. Biomineralización

Se trata de un mecanismo el cual funciona con una bomba que transporta el metal tóxico desde el citoplasma hacia el exterior de la célula, lo que produce que el pH sobre la superficie celular sea alcalino lo que conlleva a la precipitación del metal. Otro mecanismo para la precipitación de metales, es a través de la formación de sulfuros o fosfatos, que son resultado del mecanismo enzimático del microorganismo (Paco Pérez, V., Gonzales Torrico, M., Barrientos, E., & Carevic, F. S., 2022).

1.14.4. Biotransformación

Es un mecanismo donde ocurre un cambio químico sobre el metal, ya sea sobre el estado de oxidación o de la especiación. Este cambio que sufren los metales a través de una acción biológica, da como resultado compuestos volátiles o solubles en agua (Vullo L. D., 2003).

1.15. Biorremediación

Las tecnologías de biorremediación, trata de utilizar el potencial metabólico de los microorganismos para interactuar y transformar contaminantes en compuestos más simples, o bien poco e incluso nada contaminantes, por lo que su utilización podría ser para limpiar áreas contaminadas (Karim, N., Afroj, S., Lloyd, K., Oaten, L. C., Andreeva, D. V., Carr, C. & Novoselov, K. S. , 2020).

Las técnicas de biorremediación se consideran como tecnologías verdes, debido a su bajo impacto sobre el ambiente, ya que depende de la utilización de organismos y sus procesos biológicos. El uso adecuado y exitoso de alguna técnica de biorremediación, dependerá de la diversidad de organismos que han sido adaptados a condiciones apropiadas, que posteriormente pueden aplicarse in situ y ex situ (Glick, B. R., 2003).

La biorremediación es una tecnología prometedora, sin embargo, tiene sus limitaciones, es decir, algunos elementos o compuestos químicos no son susceptibles para procesos de degradación biológica, y asea por sus propiedades químicas, o porque están fuertemente adheridos a la matriz, o bien, la degradación de contaminantes por acción microbiana produce metabolitos secundarios que pudieran ser más tóxicos que el compuesto principal (Rojas-Jimenez, K., Fonvielle, J. A., Ma, H., & Grossart, H. P., 2017).

La aplicación de las técnicas de biorremediación es amplia, teniendo como base los estados de la materia:

- Sólido: utilización de técnicas sobre suelos, sedimentos, lodos o residuos.
- Líquido: aplicación sobre aguas superficiales, subterráneas y residuales.
- Gases: emisiones industriales, así como productos derivados del tratamiento de aguas o suelos (Ariza Baron, J. C., Castellanos Sanchez, J. S., & Ramirez Morales, C. F., 2019).

Las estrategias empleadas, requieren factores ambientales específicos que afectan el resultado, por lo que se debe de tomar en cuenta algunos parámetros que están directamente implicados en el uso de estrategias de biorremediación (Figura 1) (Juárez-Hernández, E. O., 2023).

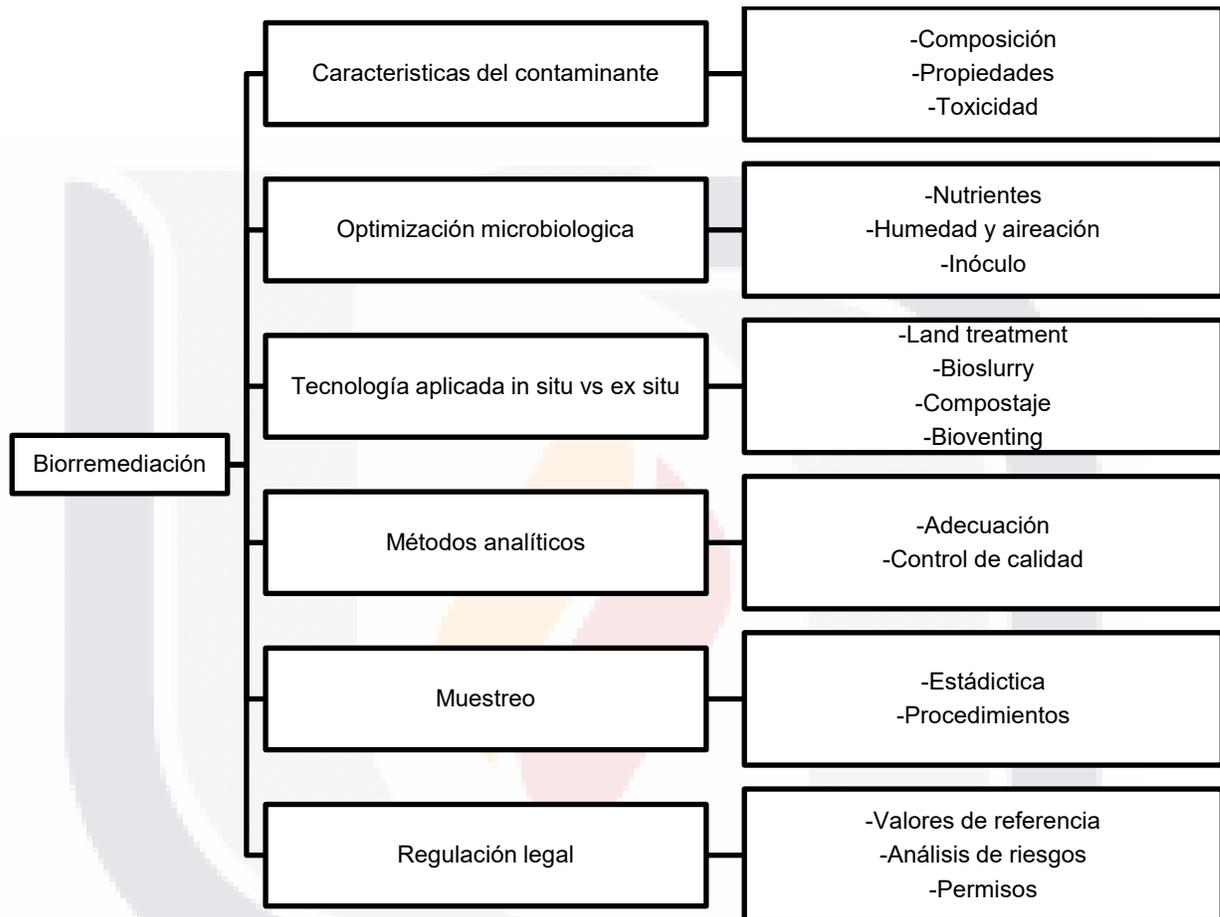


Figura 1. Parámetros utilizados para considerar aplicación de biorremediación. (Hurst, C. J., Crawford, R. L., Garland, J. L., & Lipson, D. A., 2007)

1.16. Diversidad microbiana en suelos

Los microorganismos que se encuentran en los suelos, son los responsables de aportar una gama de mecanismos que son esenciales para el funcionamiento de los ecosistemas, actúan como principal mediador en los ciclos nutrimentales, son los responsables de la fijación del carbono, estructuración física del suelo, y aumentan la eficacia en la absorción de nutrientes en la vegetación (FAO, 2012). Todo lo

anterior, son funciones esenciales y necesarias para que los ecosistemas tengan un correcto funcionamiento (Cifuentes, E. L. A., & Espinosa, P. A., 2008).

Como se habla de microorganismos, su presencia no es evidente a simple vista, sin embargo, esta comunidad es de los hábitats más variados. Por ejemplo, un gramo de suelo puede contener miles de especies de bacterias y hongos.

La cantidad de especies de microorganismos dependerá de varios factores fisicoquímicos, incluyendo: aireación, temperatura, acidez, humedad, contenido de nutrientes y sustrato orgánico (FAO, 2012).

1.17. Micorremediación de suelos contaminados con metales pesados

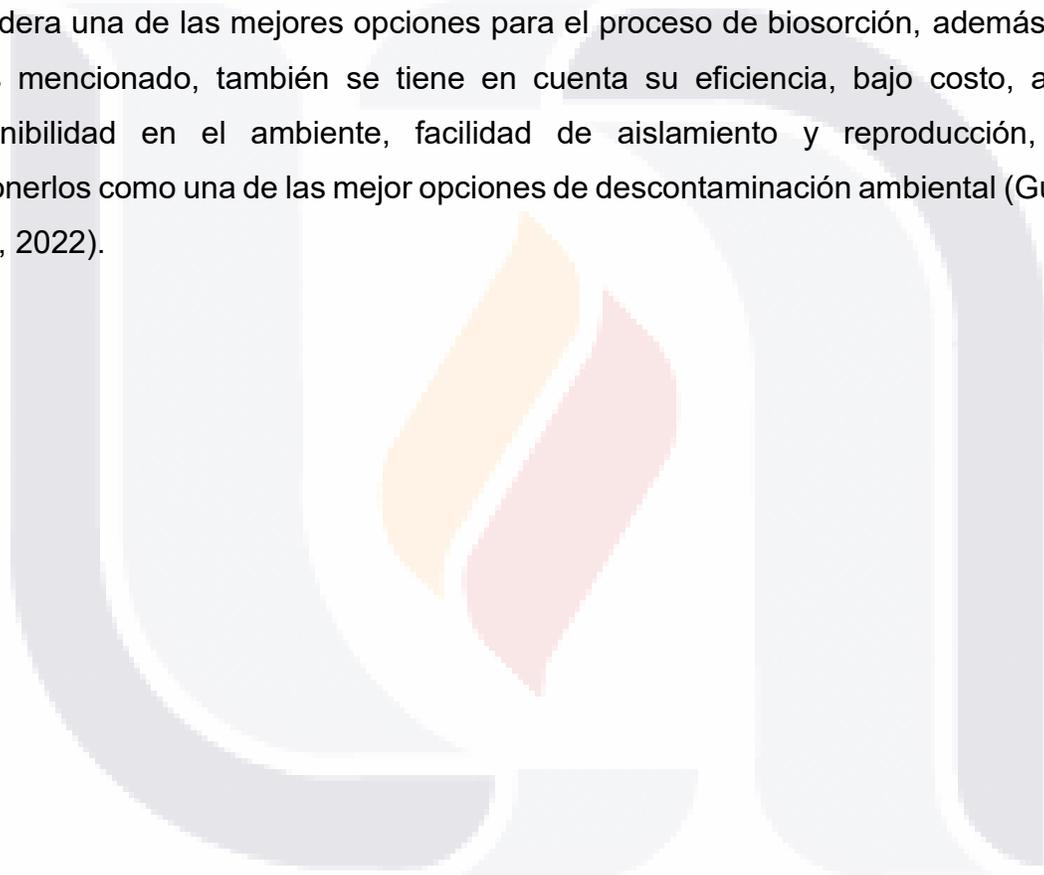
Los hongos, tienen un papel importante en el ambiente natural, ya que participan en procesos de descomposición de la materia orgánica, y en los ciclos de los nutrientes, también son indispensables para conservación del suelo, ya que hacen un equilibrio en los ecosistemas debido a su relación con otros organismos (hongos, bacterias y plantas) (Knudsen, G. R., & Dandurand, L. M. C., 2014).

Los hongos son utilizados en los procesos de biorremediación de lugares que han sido contaminados con metales pesados, por su producción de biomasa, tienen una alta superficie de contacto de la pared celular que proporciona sitios de unión a estos metales (Gualoto M. A., 2022).

La micorremediación, se describe como el uso de hongos y su maquinaria enzimática para remover, degradar o transformar contaminantes (Stamets, P., 2005). Esta biotecnología, es una alternativa para el tratamiento de suelos contaminados con metales, debido a que los hongos tienen una gran capacidad de biosorber contaminantes gracias a la presencia de diferentes grupos funcionales en la pared celular que forman enlaces con los iones metálicos (Banik, S., Das, K., Islam, M., & Salimullah, M., 2014).

La contaminación de suelos por elementos químicos aumenta conforme pasa el tiempo, los contaminantes que predominan son cadmio, cromo, mercurio, plomo y arsénico, es por eso, que en la biorremediación de suelos contaminados con estos elementos empleando hongos, consiste en la explotación de sus procesos biológicos como biomineralización, bioprecipitación, bioacumulación y biosorción. (Rahman, Z., & Singh, V. P. , 2020).

La biomasa producida por los hongos, ofrecen una amplia superficie de contacto, y se considera una de las mejores opciones para el proceso de biosorción, además de lo antes mencionado, también se tiene en cuenta su eficiencia, bajo costo, amplia disponibilidad en el ambiente, facilidad de aislamiento y reproducción, para proponerlos como una de las mejor opciones de descontaminación ambiental (Gualoto M. A., 2022).



2. ANTECEDENTES

2.1. Zacatecas

Zacatecas tiene una extensión territorial de 75.040 km², esto representa el 3,83% del territorio nacional. Sus coordenadas son 25°09' al norte, 21°04' al sur de latitud norte; al este 100°49' y al oeste 104°19' de longitud oeste. Limita al norte con Coahuila, al noroeste con Durango, al oeste con Nayarit, al este con San Luis Potosí y Nuevo León, y al sur con Jalisco, Aguascalientes y Guanajuato (Figura 2).

El 73% de su territorio presenta clima seco y semiseco, 17% templado subhúmedo en el oeste del estado, 6% es muy seco y se localiza hacia la región norte y noreste, el resto es cálido subhúmedo y se encuentra hacia el sur y suroeste de la entidad. La temperatura oscila en los 17° C media anual (INEGI, 2016).



Figura 2. Localización del estado de Zacatecas.
(INEGI, 2017)

2.2. Minería en Zacatecas

La minería es por mucho una de las actividades más antiguas realizadas en el estado de Zacatecas, así como una de las más importantes. Entre los siglos II y X de la era moderna, los primeros asentamientos de tribus indígenas utilizaban herramientas rudimentarias hechas de piedra para extraer malaquita, turquesa y otros minerales. Con estos materiales, podían fabricar tintes con los que plasmaban códigos, así como hermosos objetos de ornato (INEGI, 2016).

Estos materiales y objetos fabricados por los indígenas, tenían un amplio valor comercial, ya que los intercambiaban por alimentos y el vestido necesario para vivir, lo que convirtió a esta región en la zona minera más importante de Mesoamérica. La riqueza de esta privilegiada tierra fue de tal magnitud, que el rededor de 1549, Zacatecas ya era considerada una de las poblaciones novohispánicas más importantes, sólo después de la Ciudad de México (INEGI, 2016).

Actualmente las zonas mineralizadas más importantes, contienen principalmente agregados minerales en forma de óxidos y sulfuros complejos de plomo, zinc y cobre, con pequeñas cantidades de plata y oro. Tales zonas están localizadas principalmente en 13 distritos mineros, entre los que destacan por su importancia los de Fresnillo, Zacatecas, Sombrerete, Chalchihuites y Concepción del Oro (INEGI, 2016).

2.3. Concepción del Oro

Concepción del Oro, es un municipio del estado de Zacatecas ubicado al noroeste del estado, entre las coordenadas 24°36'42"N, 101°24'43"O y 24°36'48"N, 101°24'49"O (Figura 3), debido a su ubicación geográfica, este municipio cuenta con grandes yacimientos de oro, hierro y plata (INEGI, 2017).



Figura 3. Localización del municipio de Concepción del Oro, Zacatecas.
(INEGI, 2010)

2.4. Minería en Concepción del Oro

La explotación de los minerales es la actividad primaria en esta región, puesto que se trabaja el plomo, cobre, zinc, plata y oro, además de que en algunos puntos del municipio hay depósitos de mármol de diferentes colores, ónix y cuarzo que hasta se encuentran a flor de tierra, existen alrededor de 800 hectáreas para la explotación (INEGI, 2016).

Entre los desechos de la mina se pueden encontrar diferentes metales altamente nocivos para la salud de todo ser vivo y el medio ambiente, entre los cuales se encuentra el plomo, y se puede decir que junto con el arsénico son de los elementos más tóxicos para la vida (INEGI, 2016).

2.5. Determinación de arsénico en suelos de Concepción del Oro

Anteriormente, se cuantificó la cantidad de arsénico en suelos del municipio de Concepción del Oro, Zacatecas. Se eligieron tres zonas de las cuales se obtuvieron 15 muestras de suelo en total (Figura 4) (Medrano Monreal, A, Y., 2010).



Figura 4. Sitios de muestreo en el municipio de Concepción del Oro, Zacatecas. (Medrano Monreal, A, Y., 2010).

El Arsénico se cuantificó mediante la técnica de energía dispersiva de fluorescencia de rayos X, se obtuvo como resultado niveles muy altos de arsénico en las tres zonas de estudio, siendo la zona 1 con mayor concentración de este metal (741.6 mg Kg^{-1}), seguido de la zona 3 (593.4 mg Kg^{-1}) y al final la zona 2 (187.7 mg Kg^{-1}), estas concentraciones rebasan lo permitido por la NOM-147 (NOM-147, 2004), la cual establece que el límite máximo permisible en el suelo debe de ser de 22 mg Kg^{-1} .

Cabe mencionar que el área de muestreo es una unidad deportiva dentro de la cabecera municipal, la cual es un espacio de recreación en donde acuden numerosos usuarios, que a su vez, están en contacto con las altas concentraciones del arsénico que se encuentran en el suelo de esta zona, por lo que puede repercutir en la salud de los usuarios (Medrano Monreal, A, Y., 2010).

3. JUSTIFICACIÓN

Debido a que la minería en el estado de Zacatecas ha representado a través de su historia una importante fuente de desarrollo económico, y puesto que en la actualidad la explotación y exploración de suelo zacatecano para la extracción de metales sigue activa, el estudio y desarrollo de estrategias que permitan el tratamiento de suelos contaminados con desechos minerales es necesario para contrarrestar los efectos negativos que tienen las altas concentraciones de metales sobre la salud y el ambiente.

Las estrategias para el tratamiento de suelos contaminados son muy variadas, sin embargo, los procesos de biorremediación de suelos contaminados continúa siendo una alternativa que presenta ventajas en cuanto a costo e impacto ambiental, debido a que las alternativas de biorremediación requieren tiempos largos para mostrar su efectividad, el primer paso para que el estado de Zacatecas pueda acceder al desarrollo de técnicas eficientes de biorremediación, es el estudio que permita la caracterización de la biodiversidad presente en suelos contaminados de las regiones mineras de Zacatecas, como lo es el caso del municipio de Concepción del Oro, que proporcione el uso de especies nativas de dichos suelos, para contrarrestar los efectos adversos producidos por la presencia de altas concentraciones de arsénico en poblaciones cercanas a sitios contaminados, sin la necesidad de introducir especies que afecten los nichos ecológicos del ecosistema.

Ya que la contaminación con metales pesados es una consecuencia inherente a la actividad minera del estado de Zacatecas, la búsqueda de hongos microscópicos, que han adoptado mecanismos de resistencia a altas concentraciones de arsénico, ofrece una oportunidad que puede ser aprovechada para el aislamiento e identificación de especies nativas de ambientes contaminados que contribuyan al conocimiento de la biodiversidad microbiana en estos ambientes.

4. HIPÓTESIS

Los suelos de Concepción del Oro, Zacatecas, contienen elevada concentración de arsénico que repercuten en el deterioro ambiental, además, en estos suelos existen hongos resistentes a la presencia de arsénico, los cuales pueden ser utilizados con potencial en la biorremediación, y tienen una influencia directa sobre la disponibilidad y toxicidad de dicho contaminante.

5. OBJETIVOS

5.1. Objetivo general

Caracterización fisicoquímica y analítica de los suelos de Concepción del Oro, Zacatecas, y aislamiento e identificación de hongos microscópicos resistentes a arsénico, y estudios del potencial uso en biorremediación.

5.2. Objetivos particulares

1. Determinar la concentración total de elementos de los puntos muestreados.
2. Caracterización fisicoquímica de las muestras de suelo.
3. Estudiar la movilidad de metales mediante pruebas de potencial de lixiviación y fraccionamiento de metales.
4. Aislamiento de hongos provenientes de suelos contaminados con actividad minera.
5. Caracterización morfológica de los hongos aislados.
6. Estudio *in vitro* de la resistencia a As(V) de los hongos aislados.
7. Identificación molecular de los hongos con mayor capacidad de resistencia a As(V).
8. Estudio de la interacción hongo-arsénico.

6. METODOLOGÍA

6.1. Muestreo y transporte de muestras

El muestreo de suelos se realizó conforme a la NOM-021. Eligiendo la zona a muestrear, el equipo necesario y útil para la toma de muestra, y el medio de transporte y almacenaje de las muestras.

6.1.1. Zona de muestreo

La zona de muestreo se encuentra en el municipio de Concepción del Oro, ubicado al noroeste del estado de Zacatecas, se seleccionaron dos sitios para recolección de muestras de suelo, el “Sitio 1” en las coordenadas $24^{\circ}36'42''\text{N}$, $101^{\circ}24'43''\text{O}$, el cual es una zona de jales localizado entre la población, y el “Sitio 2” en las coordenadas $24^{\circ}36'48''\text{N}$, $101^{\circ}24'49''\text{O}$, es un sitio de recreación familiar (Figura 5).

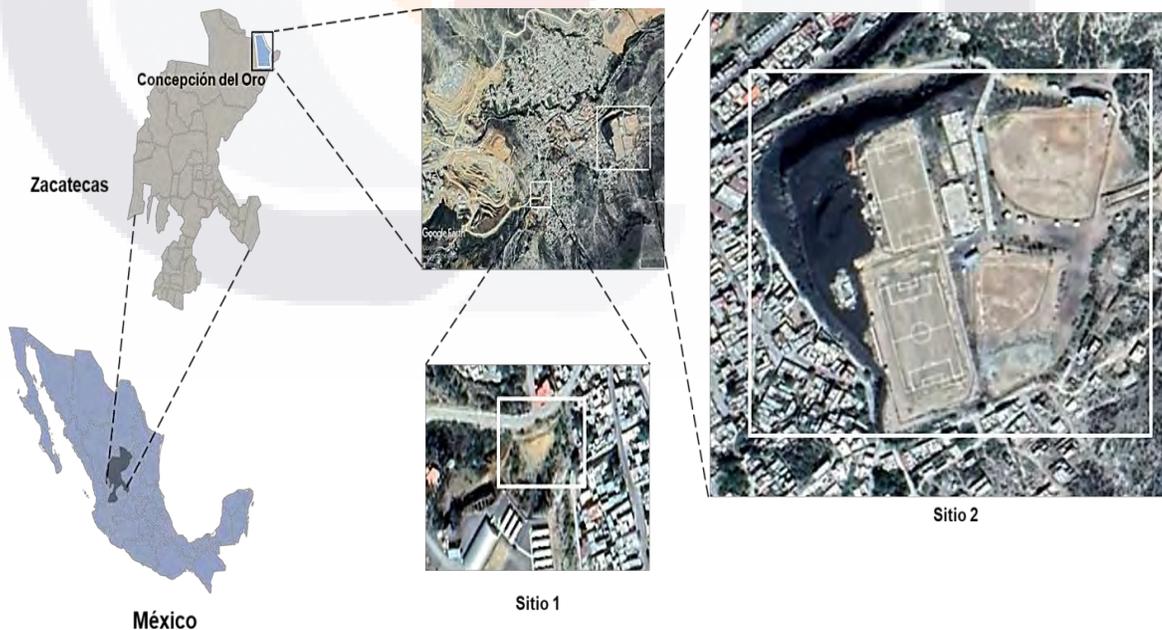


Figura 5. Imagen satelital de las zonas de muestreo.
(www.googleearth.com)

Esta zona se seleccionó por que las características que presenta el suelo dan un indicio de que presenta contaminación por desechos mineros, además de que no existen estudios previos a cerca de la caracterización fisicoquímica o la concentración de metales, y tampoco existen estudios de biorremediación aplicada a los suelos de este municipio.

6.1.2. Equipo de Muestreo

Para el muestreo de suelos se utilizó un cucharón de daga, ya que es fácil de descontaminar, y es apto para excavaciones de 0 a 100 cm de profundidad. El equipo se lavó previamente con agua destilada estéril y seguidamente se dejó sumergido en hipoclorito de sodio comercial durante 10 min. Luego, se realizó un último lavado con agua destilada (NOM-021, 2000).

6.1.3. Técnica de muestreo

Se realizó una inspección del área del muestreo con la finalidad de determinar las zonas a muestrear, tomando puntos aleatorios en un esquema en donde se demarcaron 5 cuadrantes de 25m² equidistantes. Utilizando la técnica de tresbolillo (Figura 6), se eligió un punto en específico dentro de cada cuadrante, a partir del primer punto se midió un metro al norte, sur, este y oeste, para finalmente tener 5 puntos, en los que se excavó de 15 a 20 cm de profundidad con el cucharón de daga para obtener 5 submuestras con un peso de 100g cada una, se mezclaron para obtener una muestra compuesta, cuyo peso promedio fue de 500g. Este procedimiento se llevó a cabo en cada uno de los 5 cuadrantes. Para obtener 5 muestras compuestas separadas por 100 m entre ellas. Se tomaron fotografías del sitio y de los puntos de muestreo (NOM-021, 2000).

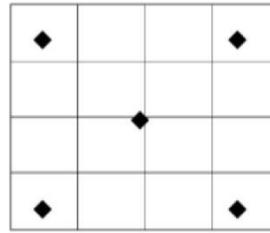


Figura 6. Esquema de distribución en tresbolillo.
(NOM-021, 2000)

6.1.4. Transporte de muestras

Cada una de las muestras se homogenizó utilizando bolsas de polietileno con cierre hermético previamente estériles, haciendo girar la muestra en todas direcciones. Se colocaron las muestras en un recipiente de material hermético con hielo, con la finalidad de mantener las muestras a una temperatura de 4 °C y se transportaron al laboratorio (NOM-021, 2000).

6.2. Cuantificación de metales

Con la finalidad de conocer la concentración de los contaminantes, se determinaron los siguientes elementos en las muestras de suelo: arsénico (As), cadmio (Cd), cromo (Cr), cobre (Cu), hierro (Fe), plomo (Pb), zinc (Zn), níquel (Ni), aluminio (Al) y manganeso (Mn).

La concentración de metales se cuantificó por espectrofotometría de absorción atómica en la modalidad de flama, ya que es el método que, de acuerdo a la normatividad tiene la mayor precisión y exactitud, empleando el método 3113-B para la cuantificación en el equipo de los métodos estandarizados (APHA-AWWA-WPCF, 1998).

6.3. Análisis fisicoquímico de las muestras de suelo

Para conocer las características fisicoquímicas de las muestras de suelo, se realizó el análisis de pH, humedad, conductividad eléctrica, potencial redox, contenido de materia orgánica, capacidad de intercambio catiónico, contenido de carbonatos totales y textura de las muestras obtenidas.

6.3.1. Medición de pH

Para la medición del pH el instrumento se calibró con tres puntos con las soluciones amortiguadoras de pH 4, 7 y 10. Si en necesario y debido a irregularidades en los resultados, se deberá realizar una segunda calibración. La calibración y la medición de pH deben realizarse a $25\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 1.0\text{ }^{\circ}\text{C}$ (Cao, X., Chen, Y., Wang, X., & Deng, X., 2001).

La preparación de extractos para la medición de pH, se realizó mediante la colocación de 5 gr de suelo aforando a 50 mL de agua destilada en tubos cónicos que permiten tanto la agitación como la centrifugación, agitándose 24 horas, y posteriormente se dejan reposar por otras 24 horas, esto para que todos los analitos libres se disuelvan en el agua y se pueda medir el pH de los extractos los más estable posible. El electrodo se debe sumergir en la parte clara del sobrenadante, tomando la lectura de potenciómetro, esperando que ésta sea la más constante (Aguilar, S. A., 1988; Fernández Linares, L. C., Avelizapa, R., Gabriela, N., Carrillo, R., Guadalupe, T., Islas, R., & Elena, M., 2006).

6.3.2. Contenido de humedad

El exceso de agua en los suelos favorece la lixiviación de sales y de algunos otros compuestos, por lo tanto, el agua es un regulador importante de las

actividades físicas, químicas y biológicas en el suelo (Drewry, J. J., Carrick, S., Penny, V., Houlbrooke, D. J., Laurenson, S., & Mesman, N. L., 2021).

El método gravimétrico para determinar el contenido de humedad del suelo, se basa en la eliminación del agua del mismo por desecamiento, pesando la muestra de suelo cuando húmeda y cuando seca, calculando la cantidad de agua eliminada por diferencia de pesos. Para el desecamiento se pone la muestra dentro de una estufa, sometiéndose a una temperatura de 105 °C, durante 24 horas (Aguilar, S. A., 1988).

6.3.3. Conductividad eléctrica

Este análisis cuantitativo de sales solubles en suelos muestra procesos muy importantes en el estudio de los suelos, la dinámica de las sales y evaluación de la salinidad (Guang-Ming, L. I. U., Jing-Song, Y. A. N. G., & Rong-Jiang, Y. A. O., 2006).

El procedimiento es utilizando un conductímetro que detecta automáticamente la conductividad además de realizar el ajuste automático interno por compensación de temperatura (Fernández Linares, L. C., Avelizapa, R., Gabriela, N., Carrillo, R., Guadalupe, T., Islas, R., & Elena, M., 2006).

6.3.4. Potencial redox

Cuantificar potencial redox en suelos se realiza para conocer la intensidad de reducción u oxidación y la relación de esto con procesos biológicos que suceden dentro de los suelos, conforme el O₂ disuelto en el suelo desaparece, el potencial redox decrece (Wang, J., & Wang, S., 2019).

El potencial redox se debe cuantificar en solución acuosa preferentemente, para lo cual se preparan extractos de igual forma que para la cuantificación de

pH y conductividad eléctrica, posteriormente se procede a introducir el electrodo en el sobrenadante para obtener el valor de potencial redox (Ordóñez, R., Kheraiwish, D., Polo, M. J., Giráldez, J. V., & González, P., 2005).

6.3.5. Contenido de materia orgánica

Mediante el método de Walkley y Black que se basa en la oxidación del carbono orgánico del suelo por medio de una disolución de dicromato de potasio y el calor de reacción que se genera al mezclarla con ácido sulfúrico concentrado. Después de un cierto tiempo de espera, la mezcla se diluye y se adiciona ácido fosfórico para evitar interferencias de Fe^{3+} y el dicromato de potasio residual (que no reaccionó) es valorado con sulfato ferroso, utilizando difenilamina como indicador. Por este procedimiento se detecta entre 70–84% del carbón orgánico total (Aguilar, S. A., 1988).

6.3.6. Capacidad de intercambio catiónico

La capacidad de intercambio catiónico (CIC), es la capacidad del suelo para retener e intercambiar diferentes elementos minerales. Esta capacidad aumenta notablemente con la presencia de materia orgánica. Y dependerá a su vez del tipo de carga, catión (ion cargado positivamente): NH_4^+ , K^+ , Ca^{2+} , Fe^{2+} , Na^+ , H^+ , Al^{3+} ; o anión (ion cargado negativamente): NO_3^- , PO_4^{2-} , SO_4^{2-} .

La CIC depende de la textura del suelo y del contenido de materia orgánica, en general, entre más arcilla y materia orgánica en el suelo, la capacidad de intercambio es mayor. El contenido de arcilla es importante, debido a que estas pequeñas partículas tienen una relación alta de área superficial a volumen (Fernández Linares, L. C., Avelizapa, R., Gabriela, N., Carrillo, R., Guadalupe, T., Islas, R., & Elena, M., 2006). El complejo es saturado con el catión amonio (NH_4^+), luego el exceso de este catión es lavado con alcohol etílico. El NH_4^+

adsorbido es determinado cuantitativamente por desplazamiento con potasio tratando la muestra con KCl al 10%, para luego medir el ion amonio por colorimetría (Bazán Tapia, 2017).

6.3.7. Carbonatos totales

La cantidad de carbonatos presentes en el suelo puede ser estimada por el método de titulación ácido-base, no se recomienda para detectar cantidades muy pequeñas de carbonatos, ni cuando se requieran resultados muy exactos y precisos. Se sugiere conducir este método solamente cuando el pH del suelo es claramente superior a 7.0. El valor de pH de los suelos que contienen carbonatos normalmente varía ente 7.5 y 8.5.

Los carbonatos son minerales que están presentes en muchos suelos, se presentan como CaCO_3 o $\text{CaMg}(\text{CO}_3)_2$, el suelo se trata con una cantidad conocida de un ácido fuerte y el exceso de ácido se cuantifica mediante titulación volumétrica con una base fuerte (Aguilar, S. A., 1988).

6.3.8. Textura de suelo

La textura del suelo se analiza a treves del método de Bouyoucos, el cual elimina la agregación debida a materia orgánica y la floculación debida a los cationes calcio y magnesio, no se eliminan otros cementantes como carbonatos. El tiempo de lectura es a los 40 segundos para la separación de partículas mayores de 0.05 mm (arena) y de 2 horas para partículas de diámetro mayores de 0.002 mm (limo y arena).

La metodología que se siguió fue la establecida por la NOM-021, con una modificación que fue la omisión del uso de peróxido de hidrógeno, debido al alto porcentaje de carbonatos en las muestras de suelos (NOM-021, 2000).

6.4. Movilidad de metales en muestras de suelo

La movilidad de los metales es un factor importante que determina su biodisponibilidad por las plantas y microorganismos que toman los elementos disueltos en la solución del suelo (Salomons, W., Förstner, U., & Mader, P. , 2012).

6.4.1. Potencial de lixiviación

La prueba de potencial de lixiviación se llevó a cabo en dos etapas: la primera consiste en colocar en agitación al sustrato disuelto en solución extractante: agua meteórica (agua destilada pH 5.5) en una proporción de 1:5 por 4 h, para la segunda etapa se trasladó la suspensión a una celda de alteración (Mendez, O., 2003), se dejó en inundación por 12 horas, y se obtiene el lixiviado por filtración al vacío (Sahuquillo, A., Rigol, A., & Rauret, G., 2003). Para determinar la influencia del pH sobre la liberación del metal, se llevó a cabo el mismo procedimiento, ensayando tres diferentes soluciones extractantes: agua desmineralizada a pH 4.7 y 9 (Ramos-Gómez Magdalena, Avelar-González Francisco, Medel-Reyes Alejandro, Yamamoto Laura, Godinez Luis, Ramírez Marcela, Guerra Ricardo, Rodríguez Francisco., 2012).

6.4.2. Extracción secuencial

El fraccionamiento de metales se realiza de acuerdo con la modificación del método de extracción secuencial de Tessier, obteniendo 5 fracciones: intercambiable, ligada a carbonatos, ligada a óxidos de hierro (Fe) y manganeso (Mn), ligada a materia orgánica y sulfuros, y residual.

- I. Intercambiable. Sedimento extraído a temperatura ambiente por 1 hora con 8 mL de una solución de cloruro de magnesio (1M a pH 7.0), en continua agitación.

- II. Unida a carbonatos. A partir del residuo anterior se trabaja a temperatura ambiente con 8 mL de acetato de sodio (1 M a pH 5.0), en continua agitación, el tiempo necesario para completar la extracción.
- III. Unida a óxidos de manganeso y fierro. Con el residuo del paso anterior se extrae esta fracción agregando 20 mL de $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_4$ + 0.175 M de Citrato de sodio + 0.025 M de ácido cítrico, a temperatura de 96 ± 3 °C con agitación ocasional.
- IV. Unida a materia orgánica. A partir del residuo anterior se le adicionan 3 mL de 0.02 M de ácido nítrico y 5 mL de peróxido de hidrógeno al 30% a pH 2 ajustándolo con ácido nítrico, la mezcla se lleva a 85 ± 2 °C por 2 horas con agitación ocasional. Se le agrega un segundo volumen de peróxido de hidrógeno al 30% (3 mL) con agitación ocasional ya que estuviese a la temperatura de 85 °C. Posterior a enfriarlo se le agrega 5 mL de acetato de amonio 3.2 M en un volumen al 20% de ácido nítrico, agitado continuamente por 30 minutos. La adición del acetato de amonio se realiza para prevenir la absorción de metales extraídos en los sedimentos oxidados.
- V. Residual. El residuo de la anterior fracción se digiere utilizando una combinación de ácido fluorhídrico y ácido perclórico. (Tessier, A. P. G. C., Campbell, P. G., & Bisson, M. J. A. C., 1979).

6.5. Aislamiento de hongos microscópicos

El aislamiento de hongos que provienen de las muestras de suelo de Concepción del Oro, permitirá estudiar la adaptación y resistencia que han desarrollado estos microorganismos al estar el contacto con condiciones extremas, también, el análisis de estos aislados ayudará a elucidar por lo menos un mecanismo de interacción entre los hongos y el contaminante.

6.5.1. Medio de cultivo Papa Dextrosa Agar (PDA)

Trozos de papas peladas	200 g
Dextrosa	20 g
Agar	15 g
Agua destilada	1000 mL

Las papas se hierven por 30 minutos, se filtra para obtener el sobrenadante. Se añaden el resto de los ingredientes, se afora a un litro con agua destilada, y se esteriliza en la autoclave (Ulloa, M., & Hnlin, R. T., 1978).

6.5.2. Método de siembra directa en placa

Se colocó 1 gramo de cada muestra en cajas de petri estériles con Agar PDA (Agar papa dextrosa). Se incubaron los cultivos a 28°C por 7 días para hogos (Mueller, G. M. , 2011).

6.5.3. Selección y aislamiento de colonias

Se llevó a cabo la observación de todos los cultivos, a criterio se seleccionaron colonias basándose en su morfología macroscópica, y se asignó una clave de identificación a cada selección.

Para la obtención de cultivos puros y para obtener colonias aisladas, se toman una azada de las colonias más aisladas obtenidas del apartado 7.5.2., se inocula en agar PDA extendiendo la muestra en el medio con ayuda de una varilla de vidrio, se incuban a 28°C por 7 días.

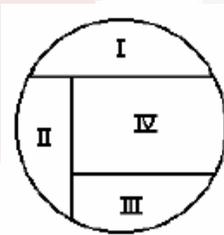
Este proceso se realiza para cada colonia seleccionada (Reynoso, M. M., Magnoli, C. E., Barros, G. G., & Demo, M. S., 2015).

6.5.4. Técnica de dilución por agotamiento

Es el método más utilizado, se prepara una placa con medio PDA estéril. Primero, se marca la parte exterior de la contratapa de acuerdo a la Figura 7A.

Posteriormente se carga el asa con la muestra (Figura 7B), se deposita en un punto de la superficie del sector (I) cercano al borde, y se extiende en el mismo con estrías próximas y paralelas, a continuación, se quema el asa y se deja enfriar, se gira la placa 90 °, se pasa el asa una vez sobre la última estría de la región ya inoculada, y se arrastra al sector (II) efectuando sobre él, la siembra sin superponer las estrías con las realizadas antes. Se quema nuevamente el asa y de la misma manera se estría el sector (III), luego de quemar el asa, en el sector (IV) se realizan estrías con el material que se arrastra de (III), más amplias y que terminan en el centro de la placa (Reynoso, M. M., Magnoli, C. E., Barros, G. G., & Demo, M. S., 2015).

A.



B.



Figura 7. Técnica de dilución por agotamiento.

A. Ilustración de regiones en las placas, B. Técnica de estriado en las regiones de la placa.

6.5.5. Purificación de colonias

La purificación de los hongos se realizó de inóculos provenientes del aislado de la etapa anterior mediante la técnica de resiembra sucesivas en el medio de cultivo PDA. Las cajas petri fueron colocadas en incubación a 28°C., durante 8 días (Cano-Ruera, S., 2006).

6.6. Colección de hongos

Es un método eficaz porque se paraliza el crecimiento de las células, pero éstas no han muerto. Se garantiza la estabilidad genética por evitarse la aparición de generaciones sucesivas (García, L., & Uruburu, F. , 2014).

6.6.1. Conservación por suspensión en agua destilada y glicerol

Es un método muy utilizado ya que da altos porcentajes de viabilidad, alcanzando viabilidades (Smith, D., & Onions, A. H., 1994). Consiste en suspender en agua destilada o glicerol estériles, las células del cultivo como conidias, esporas, esclerocios, etc. (Jong, S. C., & Birmingham, J. M., 2001).

La conservación de hongos por este método muestra altos porcentajes de viabilidad en periodos superiores a 5 años, se ha demostrado que la estabilidad para caracteres morfológicos y fisiológicos es muy eficaz (García, L., & Uruburu, F. , 2014).

6.7. Identificación morfológica de los hongos aislados

La identificación morfológica de hongos, basándose en su estructura macro y microscópica, es una metodología que ayudará a conocer el género de los hongos, sin embargo, a veces puede ser algo subjetiva, debido a la similitud entre los diferentes géneros que se pudieran identificar, por lo que es

recomendable realizar la identificación genética para poder identificar los aislados en cuanto a género y especie.

6.7.1. Observación macroscópica por fragmentación fúngica

Este método se emplea para impulsar el desarrollo de la colonia fúngica a partir de un disco de 7 mm de diámetro de agar con desarrollo del hongo, el disco es transferido a una placa de agar PDA estéril, de tal modo que la estructura del hongo haga contacto con la superficie del medio (Alexopoulos, C. J., Mims, C. W., & Blackwell, M., 1996).

Posteriormente, el medio de cultivo con el disco fúngico, se incuba durante 7 días a 28 °C, después del tiempo de incubación se hace la descripción macroscópica de acuerdo a las características del cultivo, tales como: color, contorno, textura, pigmento, forma, tamaño y consistencia (Pacasa-Quisbert, F, 2017).

6.7.2. Observación microscópica por microcultivo

Este método permite observar las estructuras fúngicas de manera microscópica, en una caja de petri de cristal se coloca una cama húmeda (un trozo de gasa humedecido con agua), sobre la gasa se coloca un trozo de varilla de vidrio en forma de “U”, posteriormente se coloca un porta objeto sobre la varilla, y sobre este se coloca un cubo medio PDA de 1 x 1 x 1 cm, con el asa bacteriológica inocular las cuatro esquinas del medio de cultivo, y colocar un cubreobjetos, cabe resaltar que todo debe de estar previamente estéril. Incubar a 28 °C durante 7 días (Arenas, R., 2014).

Pasado el tiempo de incubación, con ayuda de unas pinzas estériles se retira cuidadosamente el cubreobjetos, y se coloca sobre un portaobjeto nuevo que

contiene una gota de azul de lactofenol, se observó al microscopio con 10x para enfocar y 40x para analizar (Casas, G., 1994).

6.8. Estudio de la resistencia de los hongos a la presencia de arsénico

En la prueba de resistencia a arsénico se siguió el protocolo reportado por Liang, y haciendo modificaciones hechas para este trabajo. Para que el total de los hongos partieran de la misma concentración y observar las diferencias en el crecimiento, se inocularon 5×10^5 conidias, en medio PDA con diferentes concentraciones de $\text{Na}_2\text{HAsO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, teniendo en cuenta la concentración real del As(V); y la ausencia de As(V) se tomó como control. Las placas se incubaron durante 7 días a 28 °C. Después del tiempo de incubación, se midió en centímetros el diámetro de las colonias de los hongos (Romo-Rodríguez, P., Acevedo-Aguilar, F. J., Lopez-Torres, A., Wrobel, K., Wrobel, K., & Gutiérrez-Corona, J. F., 2015; Liang, J., Diao, H., Song, W., & Li, L., 2018).

6.9. Identificación molecular de los hongos con mayor capacidad de resistencia a arsénico.

La identificación de hongos con técnicas moleculares, de los hongos con alta resistencia a la presencia de arsénico en el medio, confirmará la identificación morfológica, además, podremos identificar la especie en base a la información de las bases de datos en las que se analicen las secuencias obtenidas de cada uno de los hongos.

6.9.1. Obtención de biomasa fúngica

Para la obtención de biomasa fúngica se preparó medio de cultivo PDB, el cual se realiza con la misma receta para PDA, sólo que se omite el agar bacteriológico. En matraces de 250 mL se añadió 50 mL de PDB estéril, y

posteriormente se agregó 100 μ l del stock de conidios. Se incubó el inóculo en agitación constante de 200 rpm, a 28 ± 2 °C, durante 7 días.

Posteriormente, se obtuvo la biomasa fresca, filtrando al vacío con ayuda de un matraz kitasato, un embudo de Büchner y papel filtro grado 40 Whatman, todo previamente estéril. Se rescató la biomasa y el sobrenadante se desechó. Este procedimiento se realizó para cada uno de los hongos que resultaron ser los más resistentes a la presencia de arsénico en el medio de cultivo.

6.9.2. Extracción de ADN fúngico

Se utilizó una combinación de método mecánico y químico para la extracción de ADN de la biomasa fúngica. Se coloca la biomasa fresca en un mortero, se agrega nitrógeno líquido de tal manera que quede cubierta totalmente, ya que la biomasa esté completamente congelada, se tritura con la ayuda de un brazo de porcelana hasta obtener un polvo fino.

Después, se toma aproximadamente 100 mg de micelio pulverizado en un tubo Eppendorf con 400 μ l de buffer de homogenización, se agita en vórtex 30 segundos; a continuación, al homogenizado se añade 8 μ l de proteinasa K y 40 μ l de SDS al 20%. Se mezcla en vórtex 30 segundos. Después de la agitación, se incuba la mezcla en baño María durante una hora a 60 °C.

Posteriormente, se agrega 300 μ l de cloruro de sodio 6 M, agitando en vórtex durante 30 segundos, se centrifuga durante 30 minutos, 10,000 rpm a 4 °C, y se pasa el sobrenadante a un tubo Eppendorf nuevo, y se vuelve centrifugar por 5 min, 12,000 rpm a 4 °C. Se agregan 300 μ l de isopropanol, se incuba por una hora a -20 °C, pasado el tiempo de incubación, se centrifuga durante 20 minutos, 10,000 rpm a 4°C. Eliminar el sobrenadante.

Se lava la pastilla con 1 mL de etanol al 70%, se mezcla por inversión. Y se centrifuga durante 1 minuto a 10,000 rpm, y se elimina el sobrenadante. Este paso se realiza 3 veces. La pastilla se deja secar a temperatura ambiente, y se resuspende en 100 µl de agua destilada estéril (Aljanabi, S. M., & Martinez, I., 1997).

6.9.3. Secuenciación de ADN para identificación molecular de hongos

Las muestras fueron secuenciadas con el método de didesoxinucleótidos marcados en el secuenciador modelo 3130 y 3500 Genetic Analyzer (Applied Biosystems), por Laboratorio Nacional de Biotecnología Agrícola, Médica y Ambiental (IPICYT).

6.10. Estudio de la interacción hongo – arsénico

Se realizaron estudios para ver la consecuencia que tiene el arsénico sobre el hongo en medio líquido, de tal manera que se utilizaron una serie de metodologías para observar posibles daños en la pared celular del hongo, grupos funcionales que tienen importancia en la presencia de arsénico y la capacidad de interacción del hongo con el arsénico del medio.

6.10.1. Microscopía Electrónica de Barrido (SEM)

Se obtuvo biomasa fúngica a partir de 50 mL de PDB, se lavó 3 veces con agua destilada estéril para eliminar residuos de medio de cultivo y se decantó. Posteriormente, se añadió PDB nuevo a la biomasa aforando a 50 mL, este PDB nuevo estaba en ausencia (control) y presencia de una concentración de 7000 mg/L de As(V), a partir de una sal de $\text{Na}_2\text{HAsO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, y se incubó en agitación durante 7 días, 28 °C a 150 rpm.

Pasado el tiempo de incubación, se tomó una pequeña cantidad de biomasa libre de medio de cultivo, se lavó con PBS, y se colocó en una placa de grafito, una vez que la muestra quedó fija se introduce al sputter para recibir un baño de partículas de oro. Posteriormente, se colocó el disco de grafito en el porta muestras de tal manera que quede fija, y se introduce al detector de muestras (El-Sayed, M. T., 2015; Liang, J., Diao, H., Song, W., & Li, L., 2018).

Se observaron varios campos de la muestra y se hizo un registro fotográfico a 2000 y 5000 X con un equipo especializado Denton Vacuum II (JOEL USA, Specimen Preparation Methods for Scanning Electron Microscopes).

6.10.2. Espectroscopia Infrarroja (FTIR)

Se obtuvo biomasa fúngica a partir de 50 mL de PDB, se lavó 3 veces con agua destilada estéril para eliminar residuos de medio de cultivo y se decantó. Posteriormente, se añadió PDB nuevo a la biomasa aforando a 50 mL, este PDB nuevo estaba en ausencia (control) y presencia de una concentración de 7000 mg/L de As(V), a partir de una sal de $\text{Na}_2\text{HAsO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, y se incubó en agitación durante 7 días, 28 °C a 150 rpm.

Se deshidrató la biomasa fúngica durante 24 horas a 55 ± 2 °C, una vez que la muestra esté completamente seca se tritura en un mortero con un brazo de porcelana hasta que quede un polvo fino (El-Sayed, M. T., 2015; Liang, J., Diao, H., Song, W., & Li, L., 2018).

Se toma la cantidad necesaria para el porta-muestra, y se analiza en un espectro de infrarrojo en el rango de $400 - 4000 \text{ cm}^{-1}$. La carga de micelio se analizó por un sistema automático Jasco FT/IR-4100.

6.10.3. Peso seco

Se obtuvo biomasa fúngica a partir de 50 mL de PDB, se lavó 3 veces con agua destilada estéril para eliminar residuos de medio de cultivo y se decantó. Posteriormente, se añadió PDB nuevo a la biomasa aforando a 50 mL, este PDB nuevo estaba en ausencia (control) y presencia de una concentración de 7000 mg/L de As(V), a partir de una sal de $\text{Na}_2\text{HAsO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, y se incubó en agitación durante 7 días, 28 °C a 150 rpm.

Una vez que terminó la incubación, se volvió a lavar la biomasa como en el paso anterior. La biomasa lavada se colocó dentro de una estufa a 55 ± 2 °C durante 48 horas, para que se secase y se deshidratara. Este experimento se realizó por triplicado, y se obtuvo el promedio del peso seco de cada uno de los hongos.

6.10.4. Interacción hongo – arsénico

Se evaluó la influencia que tiene el hongo en presencia de un contaminante en el medio, como lo es el As(V). Se obtuvo biomasa a partir de 50 mL de PDB, se lavó 3 veces con agua destilada estéril para eliminar residuos de medio de cultivo y se decantó.

Se preparó PDB y se tomó una alícuota de 5 mL (blanco); después se le agregó la solución de $\text{Na}_2\text{HAsO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, con 7000 mg/L de As(V), se tomó una alícuota de 5 mL (estándar).

En tubos Falcón de 50 mL se colocó la biomasa previamente lavada, y se aforó hasta la marca de 50 mL con medio PDB que contiene la sal de arsénico, se tomó una alícuota de 5 mL (Tiempo 0).

Los cultivos se incubaron durante siete días, 200 rpm a $28 \pm 2^\circ\text{C}$, tomando alícuotas del sobrenadante cada 24 horas.

Al término de la incubación (siete días) se obtuvo la biomasa se lavó con agua destilada estéril, se centrifugó (10 minutos, a 5000 rpm), se decantó el sobrenadante para recuperar el micelio libre de medio de cultivo (Nota: hacer el procedimiento de lavado las veces que sea necesario hasta que no se observen residuos de PDB). Posteriormente se secó en una estufa durante 24 horas a 60°C .

Conforme se fueron obteniendo las alícuotas del medio de cultivo, se centrifugaban durante 15 min a 5,000 rpm para eliminar el resto de micelio que pudiera estar presente. La biomasa y el sobrenadante se procesaron para analizar en absorción atómica (AA) por el método de generador de hidruros.

6.10.5. Digestión de muestras para absorción atómica por el método de generador de hidruros

Se resuspendió la biomasa seca en 8 mL de ácido nítrico concentrado grado Instra, una vez que la muestra quedó perfectamente resuspendida, se pasó el contenido a un matraz Erlenmeyer de 10 mL.

El matraz se colocó a digestión abierta en parrilla para que se evapore la solución hasta 1 mL. Después se afora a 2 mL con agua tridestilada y finalmente se lee la muestra en absorción atómica, si después de hacer la digestión abierta, esta queda turbia, se debe de repetir el procedimiento hasta que se obtenga una solución clarificada (APHA-AWWA-WPCF, 1998).

7. RESULTADOS

7.1. Muestreo de suelos

La zona de estudio se encuentra localizada en el municipio de Concepción del Oro, en el estado de Zacatecas, este municipio aloja residuos de actividades de la industria minera que se localiza en este lugar, se eligieron 2 sitios para muestrear: Sitio 1, que es una zona de jales mineros (Figura 8) y el Sitio 2 que es una unidad deportiva rodeada de desechos y escoria de la minería (Figura 9).



Figura 8. Fotografía satelital de la zona de jales mineros. “Sitio 1”, Concepción del Oro, Zacatecas, coordenadas: 24°36’42” N, 101°24’43” O (www.googleearth.com).



Figura 9. Fotografía satelital de la zona deportiva. “Sitio 2”, Concepción del Oro, Zacatecas, coordenadas 24°36’48” N, 101°24’49” O. Zona A (Cancha de Fútbol), Zona B (Cancha de Beisbol), Zona C (Zona de Escoria) y Zona D (Zona de Montaña) (www.googleearth.com).

7.2. Determinación de la concentración de metales y metaloides

Algunos metales como cobre, zinc y manganeso, son considerados como micronutrientes, y son esenciales para el desarrollo de diferentes organismos, por otro lado, elementos como cadmio, plomo, mercurio y arsénico, no son requeridos en el metabolismo, y pueden ser tóxicos incluso a muy bajas concentraciones (Mejía, C. A. Z., Rodríguez, A. C., & Torres, A., 2013).

En este estudio, se determinó la concentración de los siguientes metales Cd, Cr, Cu, Fe, Pb, Zn, Ni, Al y Mn, y también del metaloide As, en muestras de suelo. Las concentraciones de arsénico obtenidas en las muestras de suelos de Concepción del Oro, Zacatecas, arrojan que todas las muestras analizadas sobrepasan el límite máximo permisible (LMP) de 22 mg/Kg (NOM-147, 2004) (Figura 10).

El 100% de las muestras se encuentran “muy contaminadas” con As (> 8 mg/Kg), así como el 100% de las muestras se consideran con “efecto tóxico severo” ya que rebasan los límites reportados en instancias internacionales. (US EPA, 1977; OME, 1992). El As es considerado como extremadamente tóxico, además de cáncer de piel, la exposición prolongada al arsénico también puede causar cáncer de vejiga y de pulmón (OMS, 1980), por lo que la concentración determinada en las muestras de Concepción del Oro se consideran como “foco rojo”, ya que son suelos que están aledaños a la población de este municipio que posiblemente tenga repercusiones en la salud de los seres vivos.

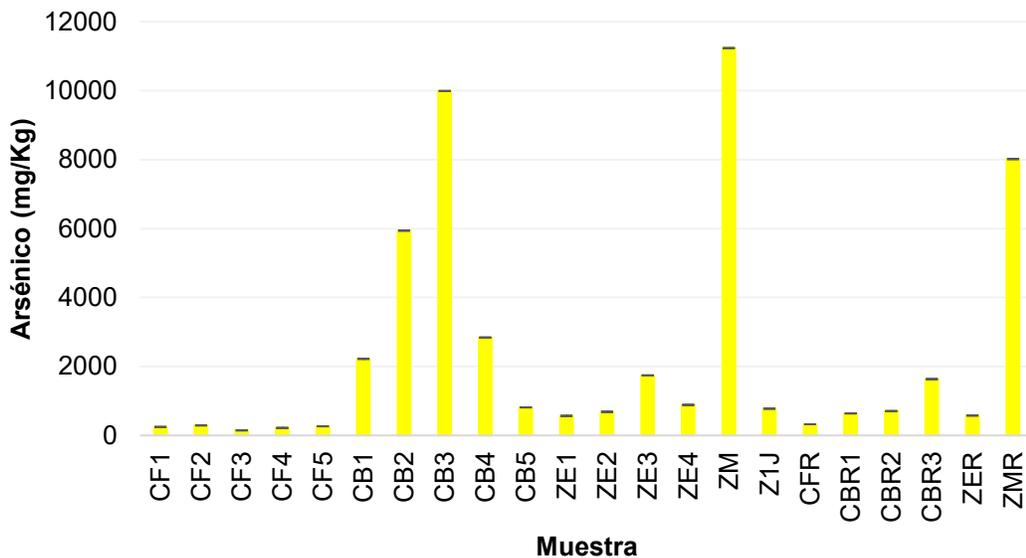
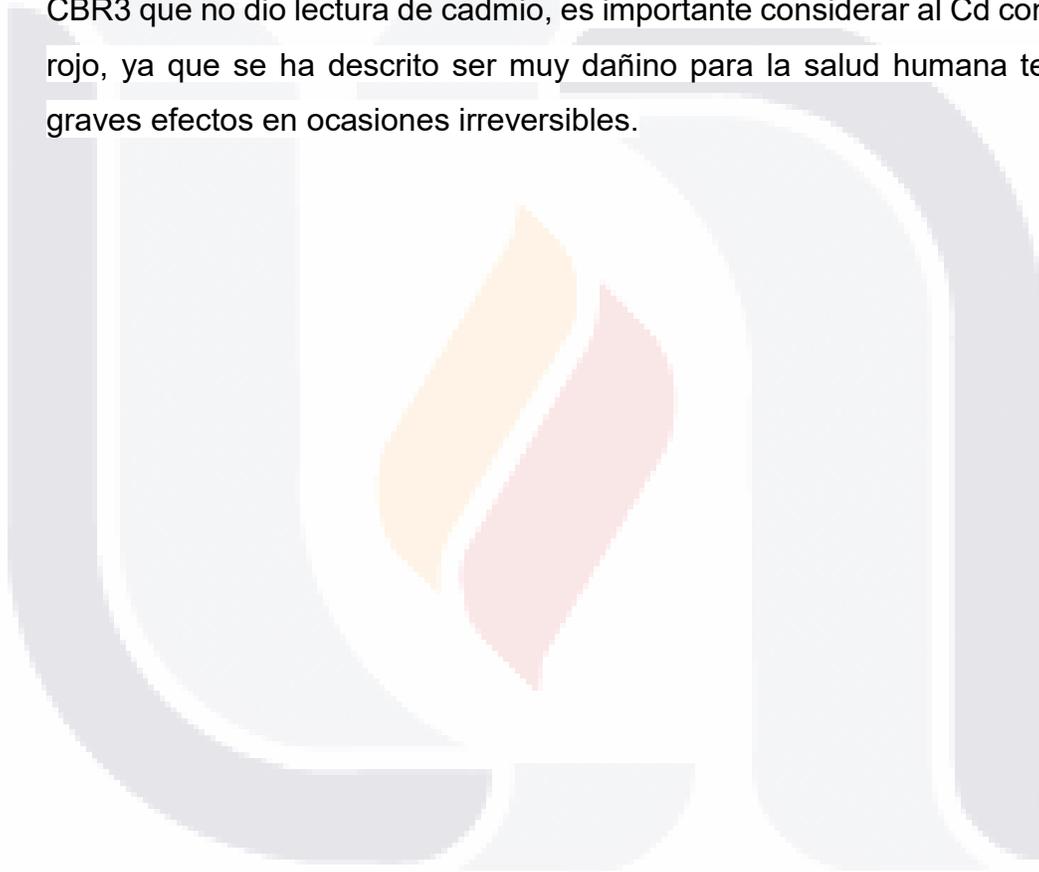


Figura 10. Concentración de Arsénico (mg/Kg).

Determinado en los 22 puntos de muestreo distribuidos en 2 sitios de Concepción del Oro, Zacatecas. Puntos de muestreo: CF = Cancha de Fútbol (puntos del 1 al 5); CB = Cancha de Béisbol (puntos del 1 al 5); ZE = Zona de Escoria (puntos del 1 al 4); ZM = Zona de Montaña; Z1J = Zona 1 Jales; CFR = Cancha de Fútbol Rizosfera; CBR = Cancha de Béisbol Rizosfera (Puntos del 1 al 3); ZER = Zona Escoria Rizosfera; ZMR = Zona de Montaña Rizosfera. --- LMP (22 mg/Kg) (NOM-147, 2004); --- Moderadamente contaminados (2 – 8 mg/Kg), --- Muy contaminado (> 8 mg/Kg) (US EPA, 1977); --- Efecto medio (6 mg/Kg), --- Efecto severo (33 mg/Kg) (OME, 1992).

El cadmio está presente en el medio ambiente en niveles bajos, sin embargo, la actividad humana ha incrementado considerablemente esos niveles, y ha sido clasificado como carcinógeno para los seres humanos (OMS, 1980).

La concentración determinada con cadmio en las muestras de suelo indican que solo 18% de las muestras sobre pasan el LMP de 37 mg/Kg (NOM-147, 2004) (Figura 11), el resto de las muestras no sobre pasen el LMP, y la muestra CBR3 que no dio lectura de cadmio, es importante considerar al Cd como foco rojo, ya que se ha descrito ser muy dañino para la salud humana teniendo graves efectos en ocasiones irreversibles.



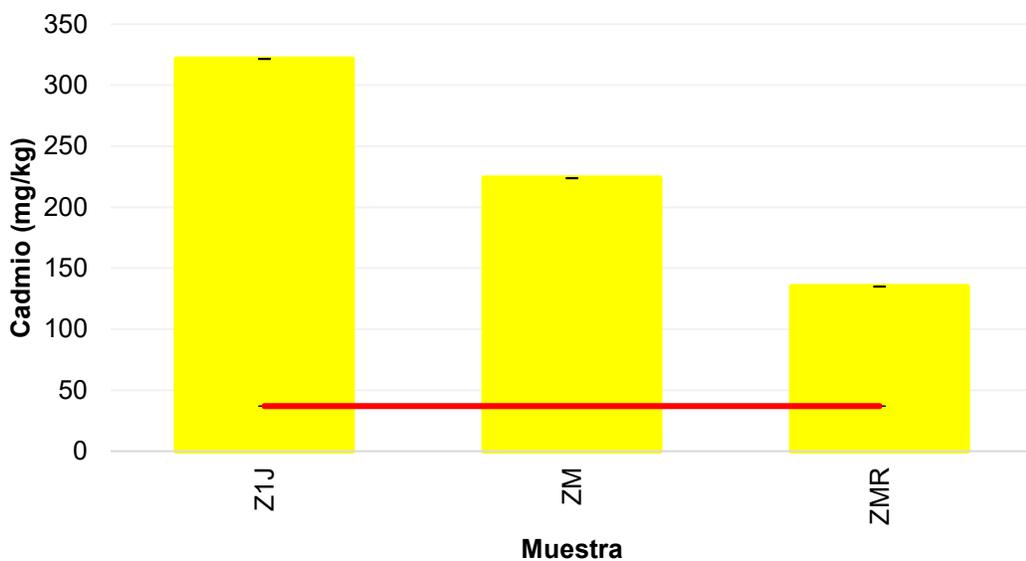
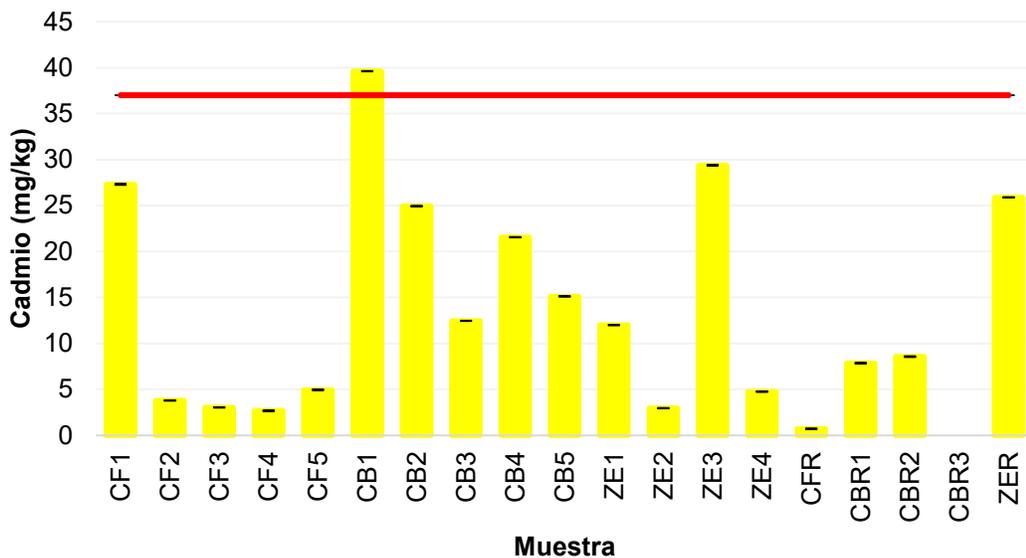


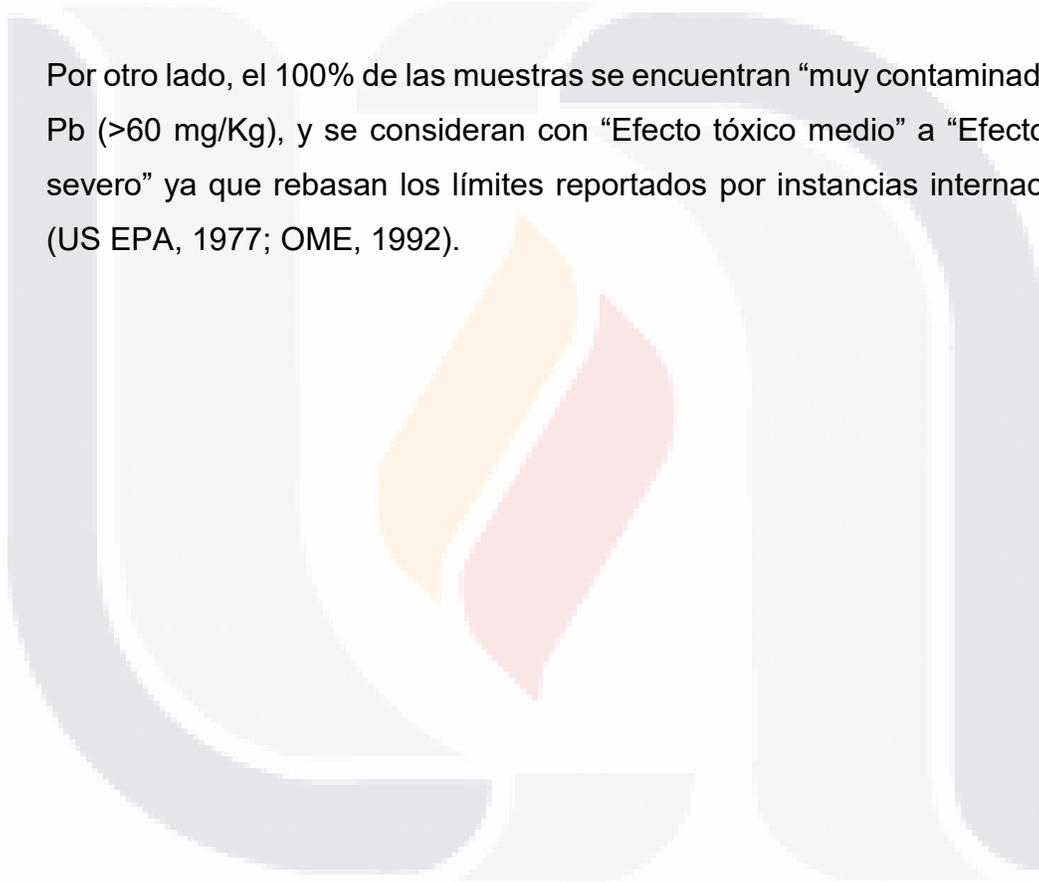
Figura 11. Concentración de Cadmio (mg/Kg).

Determinado en los 22 puntos de muestreo distribuidos en 2 sitios de Concepción del Oro, Zacatecas. Puntos de muestreo: CF = Cancha de Fútbol (puntos del 1 al 5); CB = Cancha de Béisbol (puntos del 1 al 5); ZE = Zona de Escoria (puntos del 1 al 4); ZM = Zona de Montaña; Z1J = Zona 1 Jales; CFR = Cancha de Fútbol Rizosfera; CBR = Cancha de Béisbol Rizosfera (Puntos del 1 al 3); ZER = Zona Escoria Rizosfera; ZMR = Zona de Montaña Rizosfera. Se obtuvieron dos gráficos, debido a la escala que se utilizó para representar las concentraciones de Cd determinadas. --- LMP (37 mg/Kg) (NOM-147, 2004).

El plomo es muy tóxico aún en concentraciones relativamente bajas; no es biodegradable y se acumula a lo largo de las redes tróficas. Sin embargo, es ampliamente utilizado en diferentes procesos tecnológicos (OMS, 1980).

En la Figura 12, se muestran los resultados de las concentraciones determinadas de Pb, se observa que el 64% de las muestras rebasan el LMP de 400 mg/Kg (NOM-147, 2004).

Por otro lado, el 100% de las muestras se encuentran “muy contaminadas” con Pb (>60 mg/Kg), y se consideran con “Efecto tóxico medio” a “Efecto tóxico severo” ya que rebasan los límites reportados por instancias internacionales (US EPA, 1977; OME, 1992).



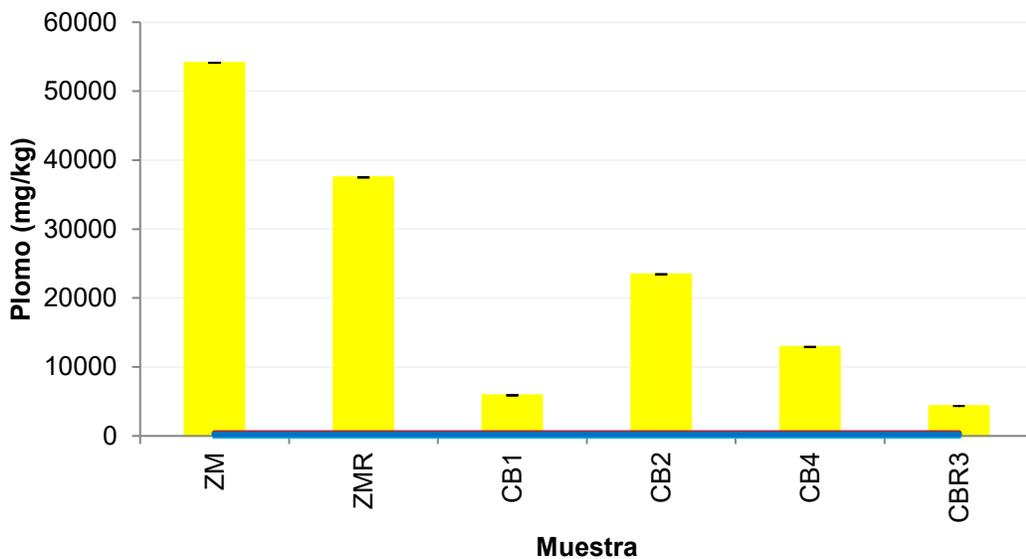
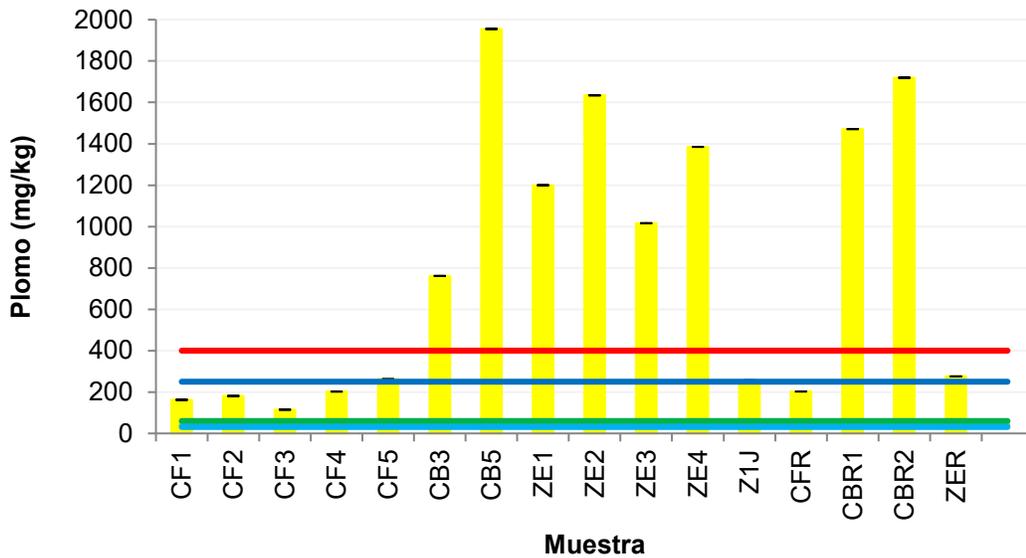


Figura 12. Concentración de Plomo (mg/Kg).

Determinado en los 22 puntos de muestreo distribuidos en 2 sitios de Concepción del Oro, Zacatecas. Puntos de muestreo: CF = Cancha de Fútbol (puntos del 1 al 5); CB = Cancha de Béisbol (puntos del 1 al 5); ZE = Zona de Escoria (puntos del 1 al 4); ZM = Zona de Montaña; Z1J = Zona 1 Jales; CFR = Cancha de Fútbol Rizosfera; CBR = Cancha de Béisbol Rizosfera (Puntos del 1 al 3); ZER = Zona Escoria Rizosfera; ZMR = Zona de Montaña Rizosfera. Se obtuvieron dos gráficos, debido a la escala que se utilizó para representar las concentraciones de Pb determinadas. --- LMP (400 mg/Kg) (NOM-147, 2004); --- Moderadamente contaminados (40 - 60 mg/Kg), --- Muy contaminado (> 60 mg/Kg) (US EPA, 1977); --- Efecto medio (31 mg/Kg), --- Efecto severo (250 mg/Kg) (OME, 1992).

El níquel se encuentra generalmente en niveles muy bajos en el ambiente; puede ser liberado en el suelo por actividades antropogénicas en donde forma ligandos con iones de hierro o manganeso. Los ambientes ácidos aumentan la movilidad de este metal, lo que facilita su deposición en los cuerpos de agua (OMS, 1980).

La Figura 13, muestra los resultados obtenidos de la concentración de níquel en las muestras de suelo, el 100% de las muestras están por debajo del LMP que es de 420 mg/Kg (US EPA, 1977). Se observa que, la mayoría de las muestras se encuentran “moderadamente contaminadas” con Ni (20 - 50 mg/Kg), y se consideran con “Efecto tóxico medio” (16 mg/Kg) (US EPA, 1977; OME, 1992).

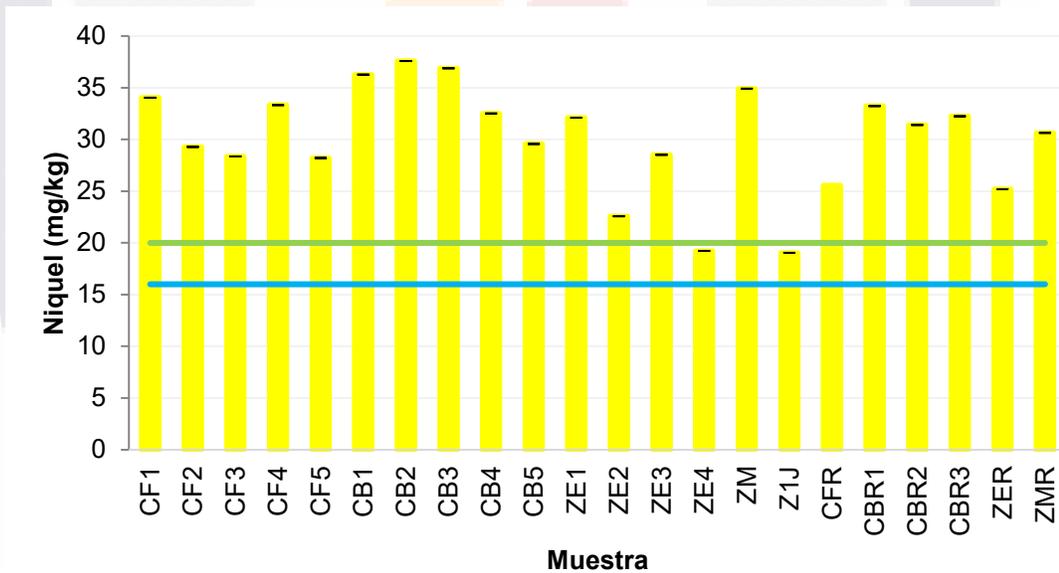


Figura 13. Concentración de Níquel (mg/Kg).

Determinado en los 22 puntos de muestreo distribuidos en 2 sitios de Concepción del Oro, Zacatecas. Puntos de muestreo: CF = Cancha de Fútbol (puntos del 1 al 5); CB = Cancha de Béisbol (puntos del 1 al 5); ZE = Zona de Escoria (puntos del 1 al 4); ZM = Zona de Montaña; Z1J = Zona 1 Jales; CFR = Cancha de Fútbol Rizosfera; CBR = Cancha de Béisbol Rizosfera (Puntos del 1 al 3); ZER = Zona Escoria Rizosfera; ZMR = Zona de Montaña Rizosfera. --- LMP (420 mg/Kg), --- Moderadamente contaminados (20 - 50 mg/Kg), --- Muy contaminado (> 50 mg/Kg) (US EPA, 1977); --- Efecto medio (16 mg/Kg), --- Efecto severo (75 mg/Kg) (OME, 1992).

El cobre es uno de los elementos esenciales sobre las funciones vitales de los organismos vivos, sin embargo, en altas concentraciones puede causar efectos tóxicos severos y adversos (OMS, 1980).

La Figura 14 muestra las concentraciones de Cu obtenidas para cada uno de los sitios de colecta, la mayoría de los puntos rebasan el LMP que es de 168 mg/kg (US EPA, 1977), el 100% de las muestras se consideran muy contaminadas con efecto severo ya que todos los resultados obtenidos rebasan los valores de referencia (US EPA, 1977; OME, 1992).



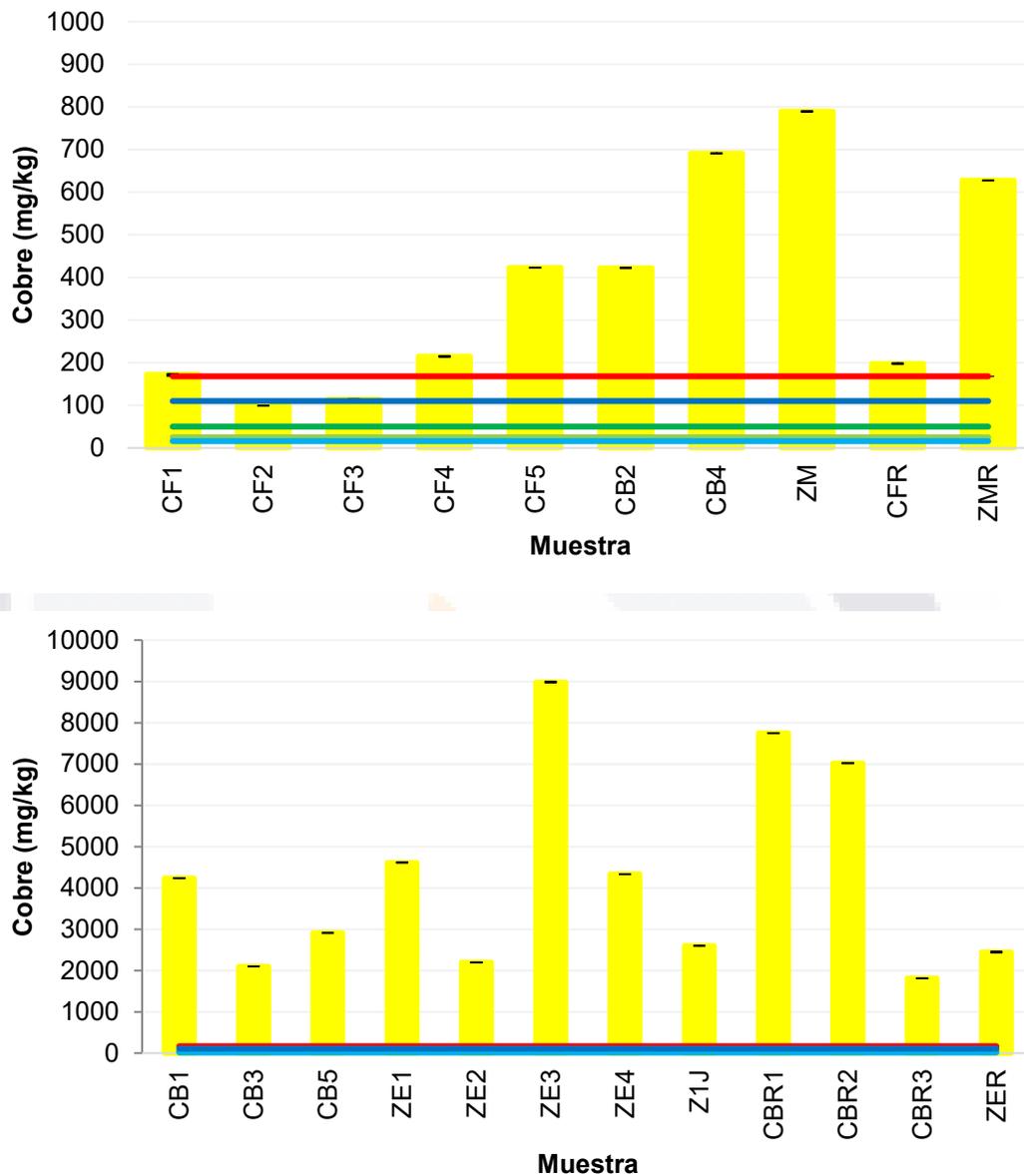


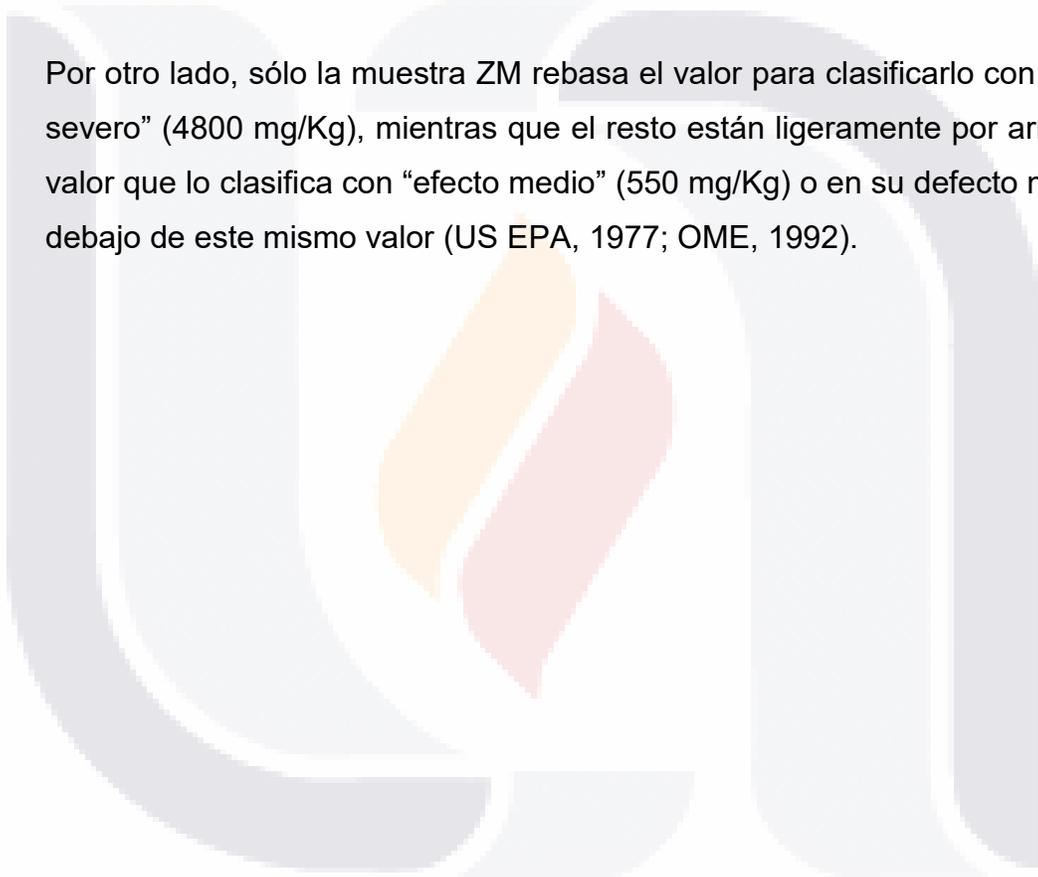
Figura 14. Concentración de Cobre (mg/Kg).

Determinado en los 22 puntos de muestreo distribuidos en 2 sitios de Concepción del Oro, Zacatecas. Puntos de muestreo: CF = Cancha de Fútbol (puntos del 1 al 5); CB = Cancha de Béisbol (puntos del 1 al 5); ZE = Zona de Escoria (puntos del 1 al 4); ZM = Zona de Montaña; Z1J = Zona 1 Jales; CFR = Cancha de Fútbol Rizosfera; CBR = Cancha de Béisbol Rizosfera (Puntos del 1 al 3); ZER = Zona Escoria Rizosfera; ZMR = Zona de Montaña Rizosfera. Se obtuvieron dos gráficos, debido a la escala que se utilizó para representar las concentraciones de Cu determinadas. --- LMP (168 mg/Kg), --- Moderadamente contaminados (25 - 50 mg/Kg), --- Muy contaminado (> 50 mg/Kg) (US EPA, 1977); --- Efecto medio (16 mg/Kg), --- Efecto severo (110 mg/Kg) (OME, 1992).

Las concentraciones elevadas de zinc en suelos, se debe a diferentes actividades humanas, principalmente actividades mineras (IZA, 2009).

En la figura 15, se observa que solo cinco muestras de suelo rebasan el límite máximo permisible de 904 mg/Kg, pero, la mayoría de las muestras se clasifican como “muy contaminado” y el resto de ellas (siete muestras) se clasifican como “moderadamente contaminado”.

Por otro lado, sólo la muestra ZM rebasa el valor para clasificarlo con “efecto severo” (4800 mg/Kg), mientras que el resto están ligeramente por arriba del valor que lo clasifica con “efecto medio” (550 mg/Kg) o en su defecto muy por debajo de este mismo valor (US EPA, 1977; OME, 1992).



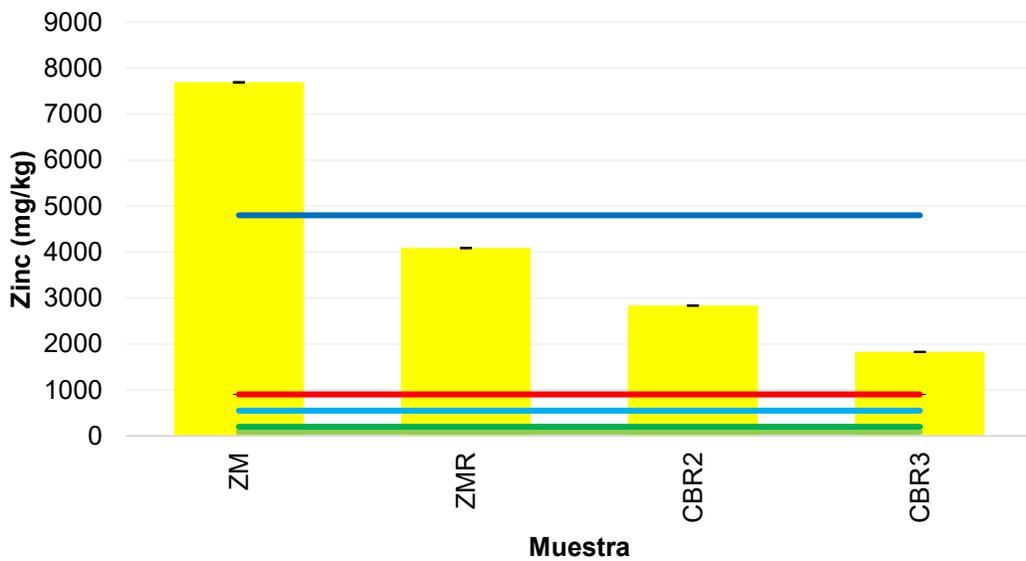
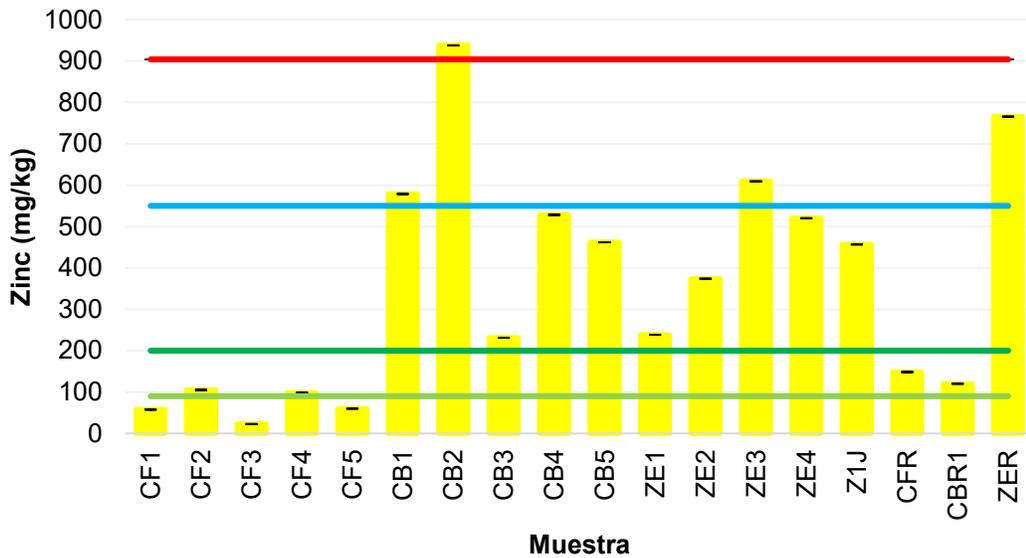


Figura 15. Concentración de Zinc (mg/Kg).

Determinado en los 22 puntos de muestreo distribuidos en 2 sitios de Concepción del Oro, Zacatecas. Puntos de muestreo: CF = Cancha de Fútbol (puntos del 1 al 5); CB = Cancha de Béisbol (puntos del 1 al 5); ZE = Zona de Escoria (puntos del 1 al 4); ZM = Zona de Montaña; Z1J = Zona 1 Jales; CFR = Cancha de Fútbol Rizosfera; CBR = Cancha de Béisbol Rizosfera (Puntos del 1 al 3); ZER = Zona Escoria Rizosfera; ZMR = Zona de Montaña Rizosfera. Se obtuvieron dos gráficos, debido a la escala que se utilizó para representar las concentraciones de Zn determinadas. --- LMP (904 mg/Kg), --- Moderadamente contaminados (90 - 200 mg/Kg), --- Muy contaminado (> 200 mg/Kg) (US EPA, 1977); --- Efecto medio (550 mg/Kg), --- Efecto severo (4800 mg/Kg) (OME, 1992).

El aluminio ejerce un papel importante en los procesos geoquímicos y ambientales. Su presencia en los diferentes ecosistemas se debe a las actividades humanas como naturales (OMS, 1980).

En la figura 16, se muestran las concentraciones de aluminio determinado en cada punto de muestreo, ninguna de las muestras presenta cantidades del metal considerable para catalogarlo como contaminante, el LMP para considerar los sitios evaluados como contaminados con Al (>71000 mg/Kg) (Lindsay, W. L., & Walthall, P. M., 2020).

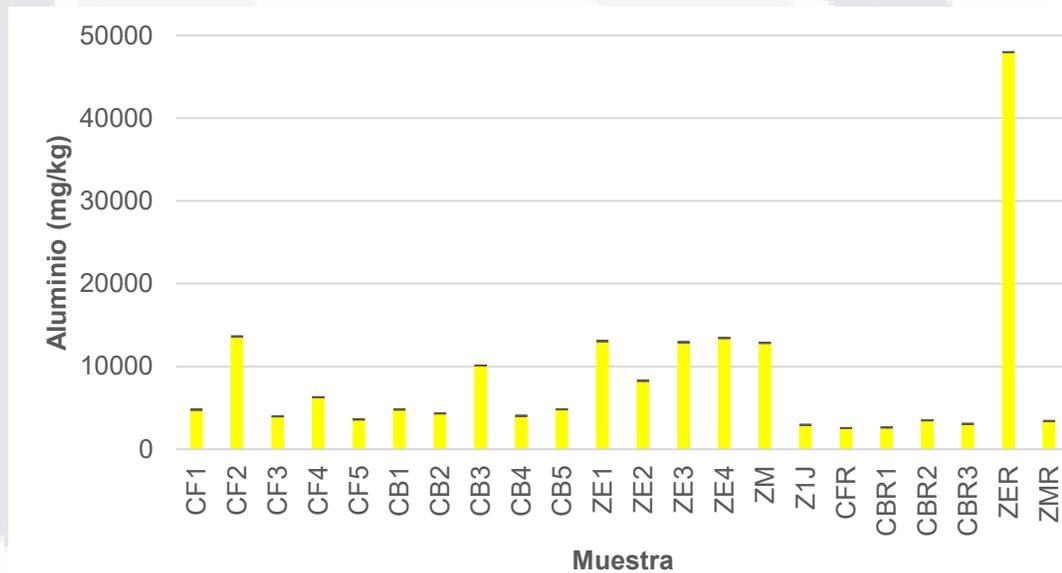


Figura 16. Concentración de Aluminio (mg/Kg). Determinado en los 22 puntos de muestreo distribuidos en 2 sitios de Concepción del Oro, Zacatecas. Puntos de muestreo: CF = Cancha de Fútbol (puntos del 1 al 5); CB = Cancha de Béisbol (puntos del 1 al 5); ZE = Zona de Escoria (puntos del 1 al 4); ZM = Zona de Montaña; Z1J = Zona 1 Jales; CFR = Cancha de Fútbol Rizosfera; CBR = Cancha de Béisbol Rizosfera (Puntos del 1 al 3); ZER = Zona Escoria Rizosfera; ZMR = Zona de Montaña Rizosfera. --- LMP (>71,000 mg/Kg) (Lindsay, W. L., & Walthall, P. M., 2020).

El manganeso, es un microelemento esencial en la alimentación humana, aunque sea necesario, las concentraciones elevadas de ese elemento pueden ser tóxicas (Rabin, O., Hegedus, L., Bourre, J. M., & Smith, Q. R. , 1993).

Los valores de manganeso determinados en las muestras se observan en la Figura 17, todas a excepción de una muestra se consideran muy contaminadas con Mn (>500 mg/Kg) con un efecto severo de contaminación en la mayoría de las muestras (1100 mg/Kg) (US EPA, 1977; OME, 1992).

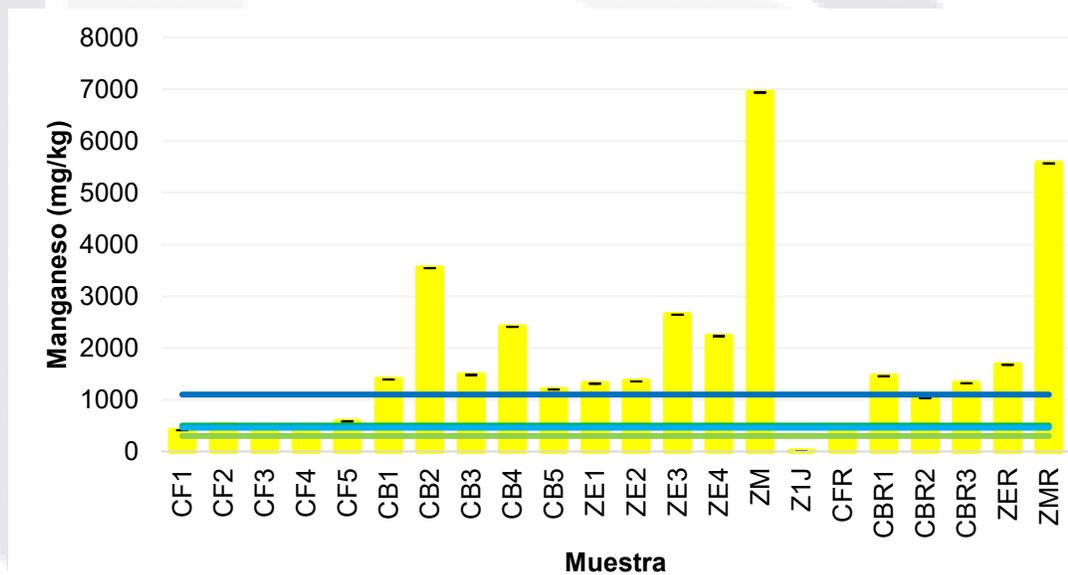


Figura 17. Concentración de Manganeso (mg/Kg).

Determinado en los 22 puntos de muestreo distribuidos en 2 sitios de Concepción del Oro, Zacatecas. Puntos de muestreo: CF = Cancha de Fútbol (puntos del 1 al 5); CB = Cancha de Béisbol (puntos del 1 al 5); ZE = Zona de Escoria (puntos del 1 al 4); ZM = Zona de Montaña; Z1J = Zona 1 Jales; CFR = Cancha de Fútbol Rizosfera; CBR = Cancha de Béisbol Rizosfera (Puntos del 1 al 3); ZER = Zona Escoria Rizosfera; ZMR = Zona de Montaña Rizosfera. --- Moderadamente contaminados (300 - 500 mg/Kg), --- Muy contaminado (> 500 mg/Kg) (US EPA, 1977); --- Efecto medio (460 mg/Kg), --- Efecto severo (1000 mg/Kg) (OME, 1992).

El hierro es uno de los elementos más abundantes en la tierra, representa el 5.1% de su peso total, por lo que también es considerado un elemento esencial para la conformación y funcionamiento de los ecosistemas, su contenido en el suelo se estima en un 3.8% (Lindsay, W. L., & Walthall, P. M., 2020).

La Figura 18 muestra que la mayoría de las muestras contienen una concentración de Fe que sobrepasa los 25,000 mg/Kg, y es considerado como suelo muy contaminado con este elemento (US EPA, 1977).

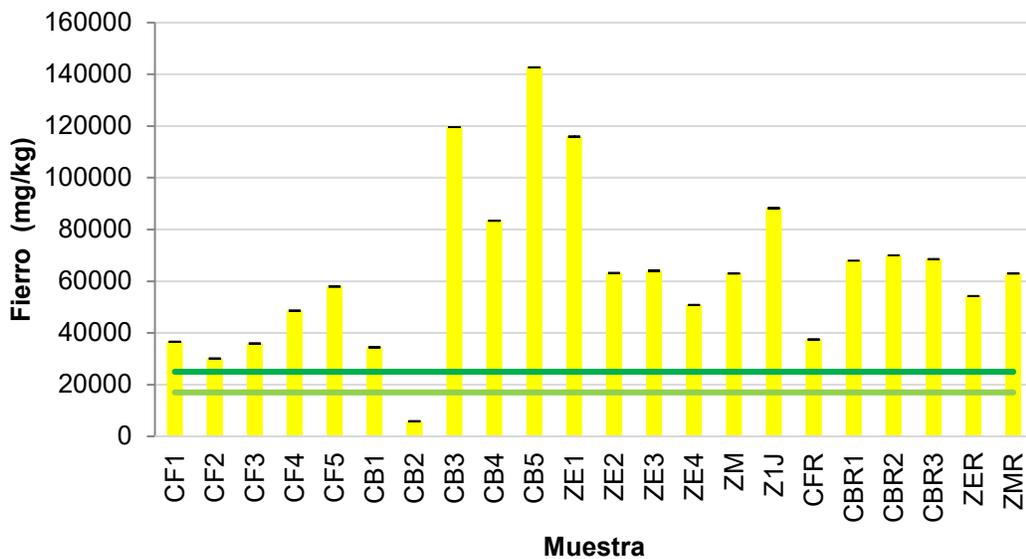


Figura 18. Concentración de Hierro (mg/Kg).

Determinado en los 22 puntos de muestreo distribuidos en 2 sitios de Concepción del Oro, Zacatecas. Puntos de muestreo: CF = Cancha de Fútbol (puntos del 1 al 5); CB = Cancha de Béisbol (puntos del 1 al 5); ZE = Zona de Escoria (puntos del 1 al 4); ZM = Zona de Montaña; Z1J = Zona 1 Jales; CFR = Cancha de Fútbol Rizosfera; CBR = Cancha de Béisbol Rizosfera (Puntos del 1 al 3); ZER = Zona Escoria Rizosfera; ZMR = Zona de Montaña Rizosfera. --- Moderadamente contaminados (17000 - 25000 mg/Kg), --- Muy contaminado (> 25000 mg/Kg) (US EPA, 1977).

El cromo, también es un elemento que ha sido clasificado como un micronutriente esencial; sin embargo, a concentraciones elevadas y dependiendo de su forma química actúa como agente cancerígeno (OMS, 1980). Debido a que es ampliamente utilizado en la industria (curtientes, pigmentos, electrogalvanizados, etc.) se acumula en suelos y sedimentos a partir de descargas de aguas residuales sin tratamiento.

En la Figura 19 se muestran las cantidades de cromo determinadas en los puntos de muestreo, se observa que ninguna de las muestras alcanzó a superar el LMP (280 mg/Kg) (NOM-147, 2004), e incluso en algunas de las muestras no hubo presencia de este elemento.

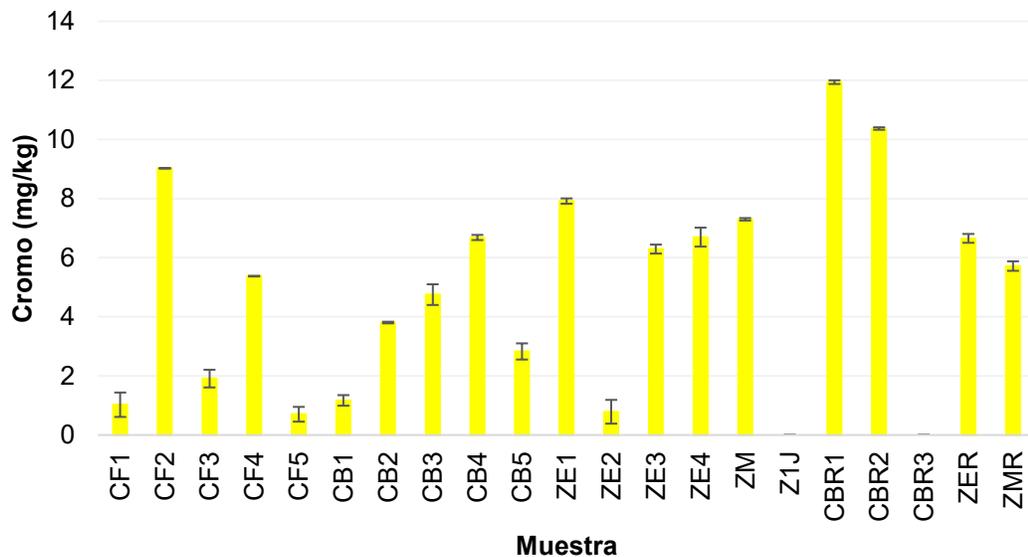


Figura 19. Concentración de Cromo (mg/Kg).

Determinado en los 22 puntos de muestreo distribuidos en 2 sitios de Concepción del Oro, Zacatecas. Puntos de muestreo: CF = Cancha de Fútbol (puntos del 1 al 5); CB = Cancha de Béisbol (puntos del 1 al 5); ZE = Zona de Escoria (puntos del 1 al 4); ZM = Zona de Montaña; Z1J = Zona 1 Jales; CFR = Cancha de Fútbol Rizosfera; CBR = Cancha de Béisbol Rizosfera (Puntos del 1 al 3); ZER = Zona Escoria Rizosfera; ZMR = Zona de Montaña Rizosfera. --- LMP (280 mg/Kg) (NOM-147-SEMARNAT-2004); --- Moderadamente contaminados (27 - 75 mg/Kg), --- Muy contaminado (> 75 mg/Kg) (US EPA, 1977); --- Efecto medio (26 mg/Kg), --- Efecto severo (110 mg/Kg) (OME, 1992).

7.3. Caracterización fisicoquímica de las muestras de suelos de Concepción del Oro, Zacatecas

El suelo del municipio de Concepción del Oro, Zacatecas, presenta un comportamiento irregular, por la influencia de la minería en el municipio y por las actividades antropogénicas del hombre, por lo que han siniestrado y alterado la composición del suelo, lo cual repercute fuertemente en los parámetros geo-edáficos, por lo que determinar estos parámetros en las muestras obtenidas de los sitios de interés es de gran importancia, esta reportado que estos parámetros influyen directamente sobre la disponibilidad, movilidad y toxicidad de metales o metaloides presentes en el suelo (Ramos-Gómez Magdalena, Avelar-González Francisco, Medel-Reyes Alejandro, Yamamoto Laura, Godinez Luis, Ramírez Marcela, Guerra Ricardo, Rodríguez Francisco., 2012).

Por otro lado, se puede sugerir que los hongos aislados de estos sitios presentan mecanismos de adaptación a condiciones extremas, y que el contenido ajeno al suelo lo han ido adaptando para evitar que la toxicidad de los contaminantes repercuta sobre el desarrollo fúngico.

7.3.1. Contenido de humedad

La humedad del suelo influye sobre el espacio poroso, compactación, consistencia, pero también sobre la solubilidad y movilidad de contaminantes (Ramos-Gómez Magdalena, Avelar-González Francisco, Medel-Reyes Alejandro, Yamamoto Laura, Godínez Luis, Ramírez Marcela, Guerra Ricardo, Rodríguez Francisco., 2012).

El contenido de humedad en las muestras de suelo (Figura 20), muestran que el 100% de los puntos presentan un contenido de humedad menor al 20%, clasificándose como suelos con bajo contenido de humedad (Aguilar, S. A., 1988). Por lo que el contenido bajo de humedad indica que puede existir un equilibrio entre la fase líquida y gaseosa, y que esto puede repercutir en el desarrollo de microorganismos presentes en el suelo.

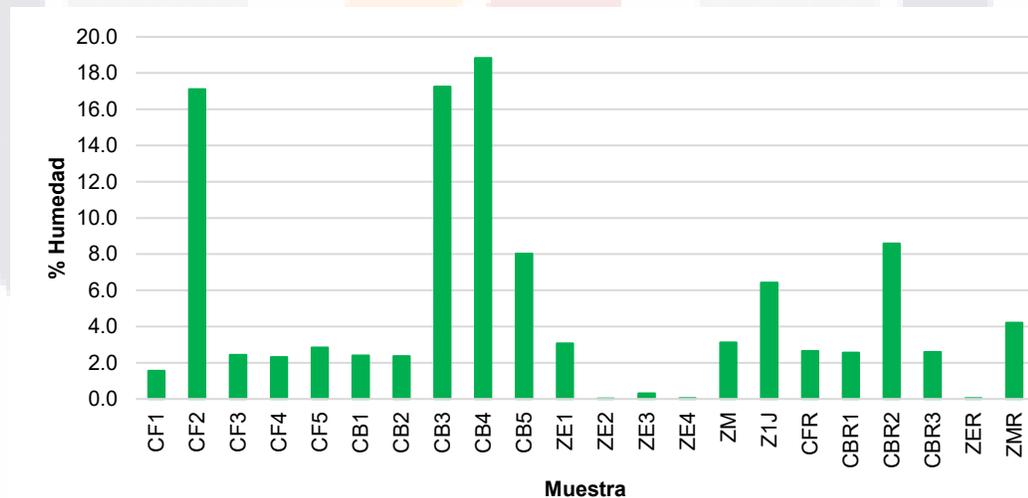


Figura 20. Contenido de humedad (%).

Determinado en los 22 puntos de muestreo distribuidos en 2 sitios de Concepción del Oro, Zacatecas. Puntos de muestreo: CF = Cancha de Fútbol (puntos del 1 al 5); CB = Cancha de Béisbol (puntos del 1 al 5); ZE = Zona de Escoria (puntos del 1 al 4); ZM = Zona de Montaña; Z1J = Zona 1 Jales; CFR = Cancha de Fútbol Rizosfera; CBR = Cancha de Béisbol Rizosfera (Puntos del 1 al 3); ZER = Zona Escoria Rizosfera; ZMR = Zona de Montaña Rizosfera.

7.3.2. pH

El pH interviene en la movilidad de muchos metales, en medios ácidos el H⁺ presente a concentraciones elevadas desplaza a los cationes metálicos adsorbidos, de manera que se produce su lixiviación (Aguilar, S. A., 1988). La Figura 21, muestra que cerca del 70% de las muestras tienen un pH de mediana a fuertemente alcalino, mientras que el resto de las muestras presentan un pH de neutro a fuertemente ácido (NOM-021, 2000).

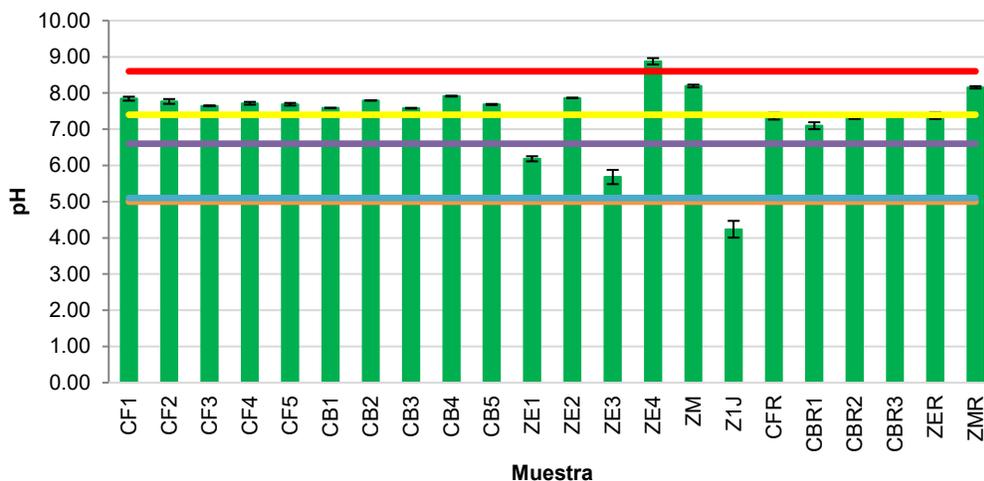


Figura 21. pH.

Determinado en los 22 puntos de muestreo distribuidos en 2 sitios de Concepción del Oro, Zacatecas. Puntos de muestreo: CF = Cancha de Fútbol (puntos del 1 al 5); CB = Cancha de Béisbol (puntos del 1 al 5); ZE = Zona de Escoria (puntos del 1 al 4); ZM = Zona de Montaña; Z1J = Zona 1 Jales; CFR = Cancha de Fútbol Rizosfera; CBR = Cancha de Béisbol Rizosfera (Puntos del 1 al 3); ZER = Zona Escoria Rizosfera; ZMR = Zona de Montaña Rizosfera. --- Fuertemente ácido (< 5), --- Moderadamente ácido (5.1 – 6.5), --- Neutro (6.6 – 7.3), --- Medianamente alcalino (7.4 – 8.5), --- Fuertemente alcalino (> 8.5) (Aguilar, S. A., 1988).

De acuerdo a estos resultados de pH, tres sitios (ZE1, ZE3 Y Z1J) tienen una posible disponibilidad de metales ya que presentan valores de pH menores a 6.6 aumentando su solubilidad y movilización, de lo contrario el resto de las muestras con pH mayores a 7.3 tienen la capacidad de inmovilizar metales lo que repercute directamente en la toxicidad de los contaminantes.

7.3.3. Conductividad

El contenido de sales en el medio tiene influencia sobre la movilidad de metales, ya que una elevada concentración de sales puede reemplazar a los metales en los sitios de adsorción (Aguilar, S. A., 1988).

En la Figura 22, se muestran los valores de salinidad en las muestras de suelos, según los valores de referencia para la interpretación de la conductividad eléctrica, el 100% de las muestras presentan valores de “no salinos” a “poco salinos” con valores numéricos menores a 4000 $\mu\text{S}/\text{cm}$ (Fernández Linares, L. C., Avelizapa, R., Gabriela, N., Carrillo, R., Guadalupe, T., Islas, R., & Elena, M., 2006). Por lo que el contenido de sales podría estar fungiendo como parte de los nutrientes de la biota presente en las muestras.

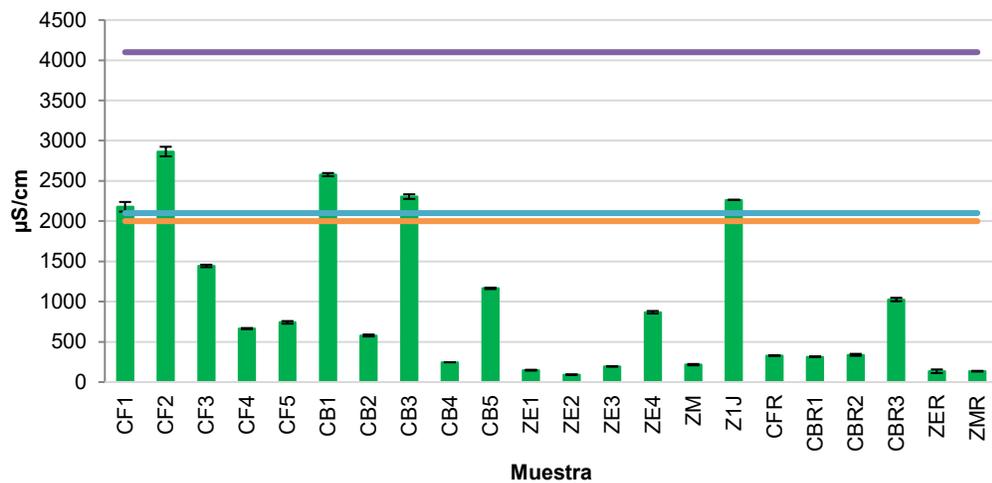


Figura 22. Conductividad ($\mu\text{S}/\text{cm}$).

Determinado en los 22 puntos de muestreo distribuidos en 2 sitios de Concepción del Oro, Zacatecas. Puntos de muestreo: CF = Cancha de Fútbol (puntos del 1 al 5); CB = Cancha de Béisbol (puntos del 1 al 5); ZE = Zona de Escoria (puntos del 1 al 4); ZM = Zona de Montaña; Z1J = Zona 1 Jales; CFR = Cancha de Fútbol Rizosfera; CBR = Cancha de Béisbol Rizosfera (Puntos del 1 al 3); ZER = Zona Escoria Rizosfera; ZMR = Zona de Montaña Rizosfera. --- No salino (0 – 2000 $\mu\text{S}/\text{cm}$), --- Poco Salino (2100 – 4000 $\mu\text{S}/\text{cm}$), --- Moderadamente salino (4100 – 8000 $\mu\text{S}/\text{cm}$), --- Muy salino (8100 – 16000 $\mu\text{S}/\text{cm}$), --- Extremadamente salino (>16,000 $\mu\text{S}/\text{cm}$) (Aguilar, S. A., 1988).

7.3.4. Potencial Redox

El potencial redox de un suelo oscila entre +400 a +700 mV, y en un suelo inundado, los resultados son negativos, los compuestos presentes pasan a estar en un ambiente reductor y cambiar las propiedades fisicoquímicas del sustrato (Ramos-Gómez Magdalena, Avelar-González Francisco, Medel-Reyes Alejandro, Yamamoto Laura, Godinez Luis, Ramírez Marcela, Guerra Ricardo, Rodríguez Francisco., 2012).

En la Figura 23, se observa que El 100% de las muestras presentan valores de potencial redox positivos, lo que indica que el carácter del suelo en estudio es aerobio, y se clasifica como un suelo oxidante, lo cual es importante, ya que la presencia de oxígeno favorece el desarrollo de biota con la presencia de microorganismos aerobios.

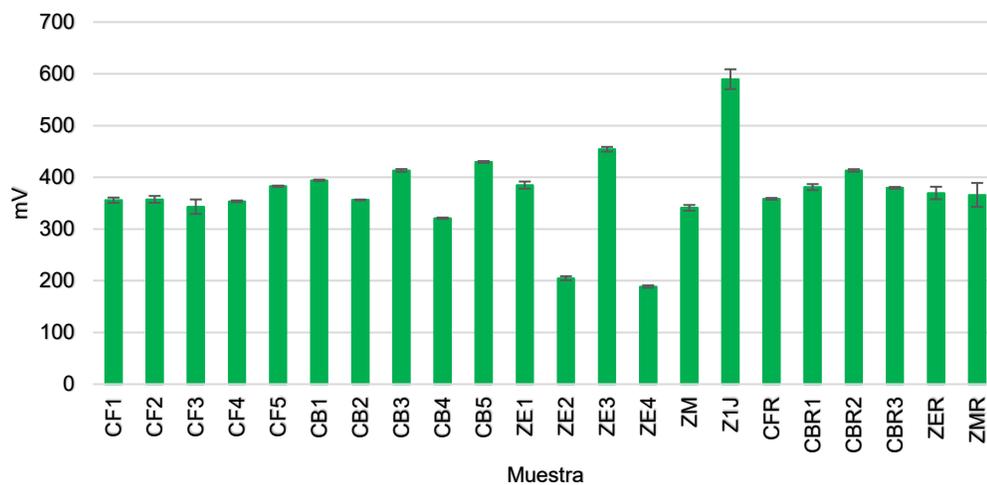


Figura 23. Potencial Redox (mV).

Determinado en los 22 puntos de muestreo distribuidos en 2 sitios de Concepción del Oro, Zacatecas. Puntos de muestreo: CF = Cancha de Fútbol (puntos del 1 al 5); CB = Cancha de Béisbol (puntos del 1 al 5); ZE = Zona de Escoria (puntos del 1 al 4); ZM = Zona de Montaña; Z1J = Zona 1 Jales; CFR = Cancha de Fútbol Rizosfera; CBR = Cancha de Béisbol Rizosfera (Puntos del 1 al 3); ZER = Zona Escoria Rizosfera; ZMR = Zona de Montaña Rizosfera.

7.3.5. Materia Orgánica

La materia orgánica provee la capacidad de retención de agua, y ayuda al crecimiento y desarrollo de la vegetación y microorganismos, ya que proporciona nutrientes esenciales como nitrógeno, fósforo y azufre (Ramos-Gómez Magdalena, Avelar-González Francisco, Medel-Reyes Alejandro, Yamamoto Laura, Godínez Luis, Ramírez Marcela, Guerra Ricardo, Rodríguez Francisco., 2012).

Los resultados observados del contenido de materia orgánica obtenidas en las muestras de suelos (Figura 24), presentan porcentajes no mayores al 3.5%, estos valores clasifican a las muestras respecto a su contenido de materia orgánica de “muy bajo” a “medio” (Aguilar, S. A., 1988).

Los valores del contenido de materia orgánica en las muestras, indican la cantidad de oxígeno con el cual puede favorecer el contenido de vegetación y microbiota presentes en el suelo.

El contenido de materia orgánica, establece una relación directa con su capacidad de quelación y adsorción de metales, por lo tanto, cabe esperar que estos suelos favorezcan la inmovilización de metales al medio disminuyendo su riesgo potencial.

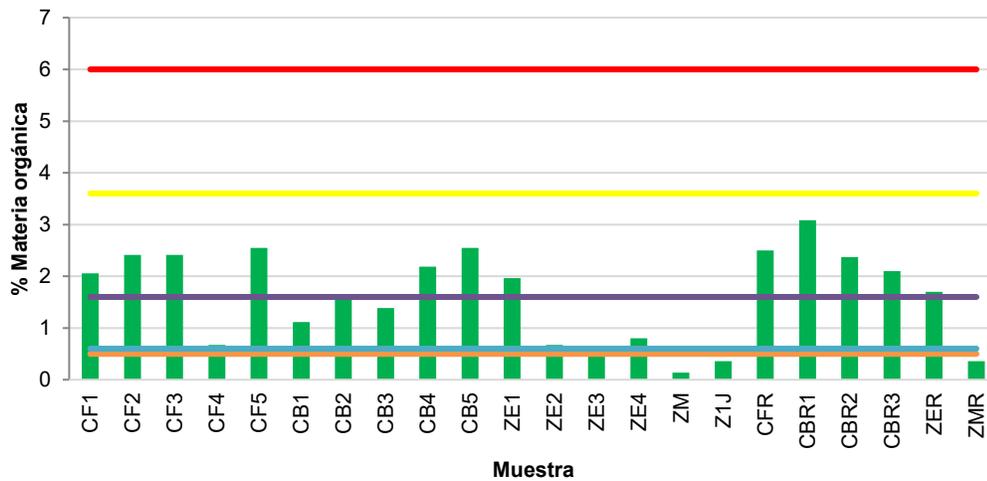


Figura 24. Materia orgánica (%).

Determinado en los 22 puntos de muestreo distribuidos en 2 sitios de Concepción del Oro, Zacatecas. Puntos de muestreo: CF = Cancha de Fútbol (puntos del 1 al 5); CB = Cancha de Béisbol (puntos del 1 al 5); ZE = Zona de Escoria (puntos del 1 al 4); ZM = Zona de Montaña; Z1J = Zona 1 Jales; CFR = Cancha de Fútbol Rizosfera; CBR = Cancha de Béisbol Rizosfera (Puntos del 1 al 3); ZER = Zona Escoria Rizosfera; ZMR = Zona de Montaña Rizosfera. --- Muy bajo (< 0.5%), --- Bajo (0.6 – 1.5%), --- Medio (1.6 – 3.5%), --- Alto (3.6 – 6.0%), --- Muy alto (> 6%) (Santelises, 1988).

7.3.6. Carbonatos totales

La presencia de carbonatos puede ser benéfica, ya que tiene acción directa sobre la estructura del suelo y la actividad de poblaciones microbianas, sin embargo, el exceso de carbonato en suelos puede ocasionar problemas de nutrición, ya que actúan como antagonistas de algunos elementos esenciales como el fierro (Loeppert, R. H., Hallmark, C. T., & Koshy, M. M., 1984).

El pH y el contenido de carbonatos se relaciona, en suelos con pH ácido no debería de haber presencia de carbonatos, mientras que en suelos con pH alcalinos se esperan alto contenido de carbonatos (Loeppert, R. H., Hallmark, C. T., & Koshy, M. M., 1984).

En la Figura 25, se observa la cantidad en porcentaje de carbonatos totales que contiene cada una de las muestras de suelo de Concepción del Oro, se aprecia que el 100% de los sitios contienen carbonatos, lo que se relaciona con un sistema de amortiguamiento del suelo para su equilibrio.

A pesar de que las características físicas del suelo no son iguales a un suelo con esta cantidad de carbonatos, se tiene la hipótesis de que se utilizaron soluciones carbonatadas para enmendar la acidez en el poblado, se ha reportado que el uso de estas enmiendas son comunes debido a la facilidad y lo económico que es aplicarla (Castellanos J. Z., 2021).

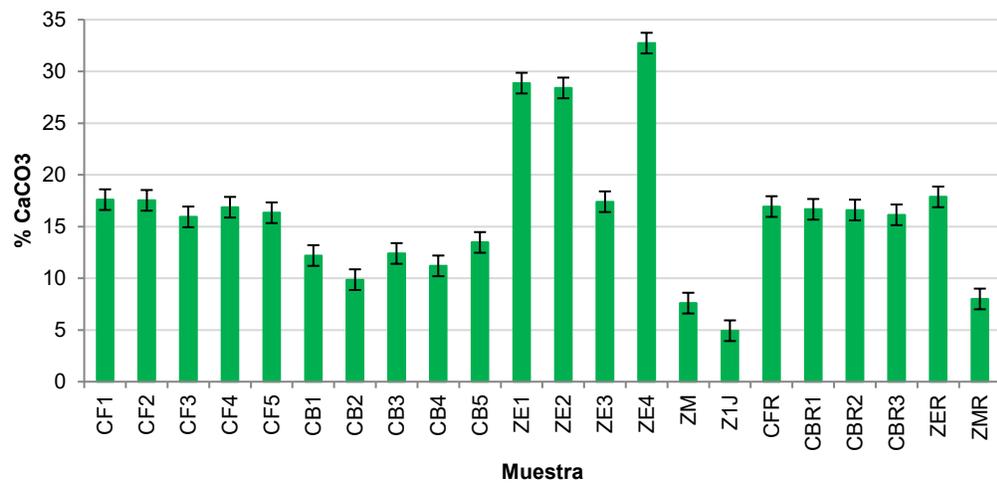


Figura 25. Cantidad de carbonatos (%).

Determinado en los 22 puntos de muestreo distribuidos en 2 sitios de Concepción del Oro, Zacatecas. Puntos de muestreo: CF = Cancha de Fútbol (puntos del 1 al 5); CB = Cancha de Béisbol (puntos del 1 al 5); ZE = Zona de Escoria (puntos del 1 al 4); ZM = Zona de Montaña; Z1J = Zona 1 Jales; CFR = Cancha de Fútbol Rizosfera; CBR = Cancha de Béisbol Rizosfera (Puntos del 1 al 3); ZER = Zona Escoria Rizosfera; ZMR = Zona de Montaña Rizosfera.

7.3.7. Capacidad de Intercambio Catiónico (CIC)

En general, cuanto mayor sea la capacidad de intercambio catiónico, mayor será la capacidad del suelo de fijar metales, pues se tendrán más sitios de intercambio en la fracción coloidal, sin embargo, la CIC depende a su vez de otros parámetros, principalmente del pH por lo que no es un indicativo de la movilidad de los metales (Ramos-Gómez Magdalena, Avelar-González Francisco, Medel-Reyes Alejandro, Yamamoto Laura, Godinez Luis, Ramírez Marcela, Guerra Ricardo, Rodríguez Francisco., 2012).

Los valores obtenidos de CIC se encuentran por debajo de los 5 Cmol/Kg, lo que se catalogan como suelos con muy baja CIC (NOM-021, 2000) (Figura 26).

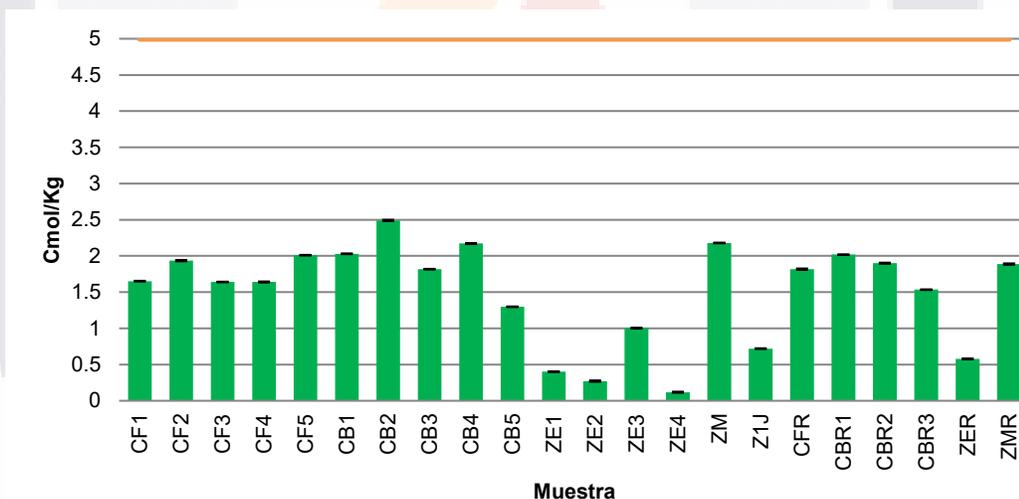


Figura 26. Capacidad de Intercambio Catiónico (Cmol/Kg).

Determinado en los 22 puntos de muestreo distribuidos en 2 sitios de Concepción del Oro, Zacatecas. Puntos de muestreo: CF = Cancha de Fútbol (puntos del 1 al 5); CB = Cancha de Béisbol (puntos del 1 al 5); ZE = Zona de Escoria (puntos del 1 al 4); ZM = Zona de Montaña; Z1J = Zona 1 Jales; CFR = Cancha de Fútbol Rizosfera; CBR = Cancha de Béisbol Rizosfera (Puntos del 1 al 3); ZER = Zona Escoria Rizosfera; ZMR = Zona de Montaña Rizosfera. --- Muy baja (< 5 Cmol/Kg), --- Baja (5 – 15.5 Cmol/Kg), --- Media (15 – 25.5 Cmol/Kg), --- Alta (25 - 40), --- Muy alta (> 40.5 Cmol/Kg) (García- Gutiérrez C., & Félix-Herrán J. A., 2014).

7.3.8. Textura de suelos

Se obtuvo el porcentaje de arcilla, arena y limo, para determinar el tipo de suelo de cada una de las muestras (Tabla 3), como se puede observar, se obtuvieron diferentes texturas de suelo de los diferentes puntos de muestreo, un mayor porcentaje de puntos son de textura franco arenoso, el suelo de esta textura tiene una CIC por debajo de 10 Cmol/Kg (INTAGRI, 2021), este resultado se relaciona con la baja capacidad de intercambio catiónico obtenido en este trabajo (<5 Cmol/Kg) (NOM-021, 2000).

Tabla 3. Textura de las muestras de suelo.

Muestra	Textura	Muestra	Textura
CF1	Franco limosa	ZE2	Arenosa
CF2	Franco limosa	ZE3	Arenosa
CF3	Franco limosa	ZE4	Arenosa
CF4	Franco limosa	ZM	Franco arenosa
CF5	Areno francosa	Z1J	Franco arenosa
CB1	Areno francosa	CFR	Areno francosa
CB2	Franco arenosa	CBR1	Franco arcillosa
CB3	Franco arenosa	CBR2	Franca
CB4	Franco arenosa	CBR3	Areno francosa
CB5	Franco arenosa	ZER	Arenosa
ZE1	Arenosa	ZMR	Franco arenosa

7.4. Estudios de la movilidad de metales

La movilidad de los metales es un factor importante que determina su biodisponibilidad por las plantas y microorganismos que toman los elementos disueltos en la solución del suelo (Salomons, W., Förstner, U., & Mader, P. , 2012).

7.4.1. Potencial de lixiviación

Para realizar la prueba de potencial de lixiviación, se utilizaron celdas de alteración, que simulan las condiciones naturales a las que el suelo está expuesto (agua meteórica de pH 5.5), y posteriormente haciendo una modificación a la prueba implementando agua meteórica pH 4.7 y 9.0 (Ramos Gómez Magdalena, Avelar-González Francisco, Medel-Reyes Alejandro, Yamamoto Laura, Godínez Luis, Ramírez Marcela, Guerra Ricardo, Rodríguez Francisco., 2012).

Respecto al potencial de lixiviación empleando agua meteórica con pH 4.7, se observó que en las muestras en general el As, Cu y Zn presentaron menos del 1% de movilidad (entre 0.3 y 0.98%), el Mn presentó movilidad menor al 0.1%, y el resto de los metales presentaron una movilidad menor al 0.01%.

Por otro lado, cuando se utilizó agua a pH de 5.5, tanto el Cu, Zn y Mn, tuvieron el mismo comportamiento que cuando se usó pH de 4.7, la diferencia es que esta vez el As presentó una movilidad menor que 0.1%, mientras que el resto de los metales fue < 0.01%.

Finalmente usando condiciones alcalinas (pH 9.0), se obtuvo el mismo comportamiento para As, Cu y Zn que en las otras condiciones, respecto al Al presentó movilidad menor a 0.1% y el resto de los metales fue menos 0.01%.

En general, los resultados del ensayo de potencial de lixiviación indicaron que, a pesar del importante contenido de metales en las muestras de suelos los porcentajes de lixiviación generalmente fueron inferiores al 1%, aun cuando se utilizaron soluciones extractantes a diferentes pH.

Los cambios de pH en la solución de extracción no tuvieron influencia significativa sobre la movilidad de los elementos presentes en los puntos muestreados. Esto indica que tanto a pH ácido como alcalino se presenta una estabilidad de los elementos a diferentes condiciones imperantes de los suelos que los contienen.

7.4.2. Fraccionamiento de metales

En el fraccionamiento de metales se utilizó la técnica de Tessier, donde se obtuvieron cinco fracciones, se cuantificó la concentración de metal en cada una de las fracciones por espectrofotometría de absorción atómica de generador de hidruros para el caso del arsénico, y en flama para el resto de los metales (Tessier, A. P. G. C., Campbell, P. G., & Bisson, M. J. A. C., 1979; APHA-AWWA-WPCF, 1998).

Para obtener valores de confiabilidad, cada determinación de todas las fracciones se realizó por triplicado.

En el caso del cobre (Figura 27), la mayor concentración del metal se localizó en la fracción residual y en menor proporción, pero mayor que las otras fracciones en la fracción unida a materia orgánica.

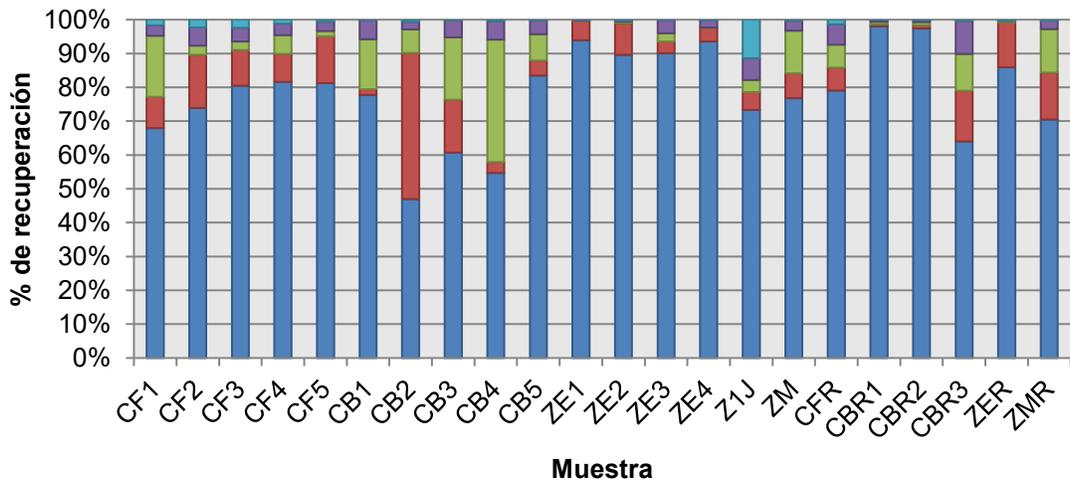


Figura 27. Porcentajes de recuperación del Cu.

Obtenido por la extracción secuencial de Tessier. ♦F1, Fracción intercambiable, ♦F2, Fracción unida a carbonatos, ♦F3, Fracción unida a óxidos de Fe y Mn, ♦F4, Fracción unida a materia orgánica, ♦F5, Fracción residual.

En la Figura 28, se muestra los porcentajes de recuperación del plomo, se aprecia un comportamiento más variado en cada uno de los puntos muestreados, sin embargo, gran parte del metal se localiza en la fracción V en la mayoría de las muestras.

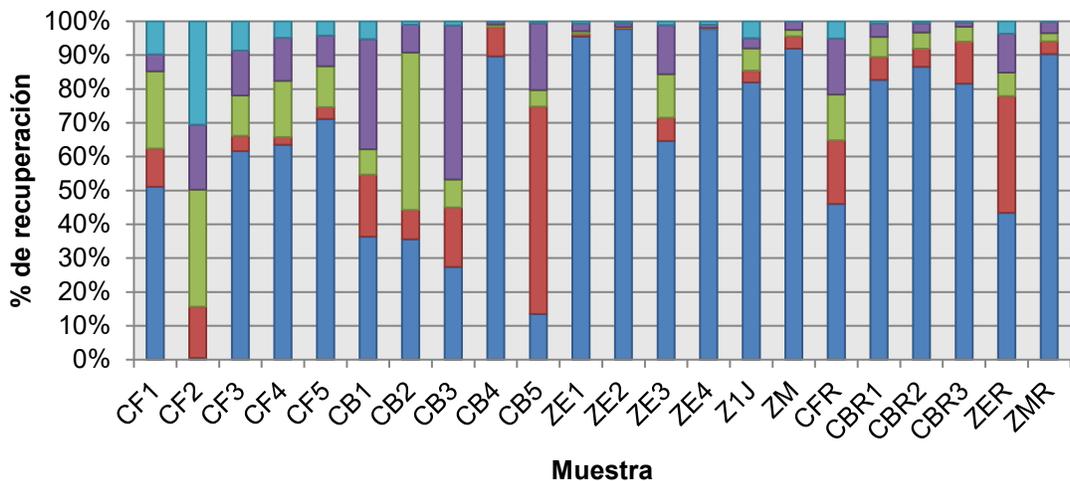


Figura 28. Porcentajes de recuperación del Pb.

Obtenido por la extracción secuencial de Tessier. ♦F1, Fracción intercambiable, ♦F2, Fracción unida a carbonatos, ♦F3, Fracción unida a óxidos de Fe y Mn, ♦F4, Fracción unida a materia orgánica, ♦F5, Fracción residual.

Respecto al Zinc, al igual que el plomo presenta un comportamiento distinto en cada muestra, se observa el metal presente en todas las fracciones, predominando en unos casos la fracción unida a óxidos de Fe y Mn hasta con el 63.5%, en otras muestras el metal está presente mayormente en la fracción unida a materia orgánica hasta con el 67.7% y en otros casos el metal se encontró en la fracción residual con un valor de recuperación hasta de 95% (Figura 29).

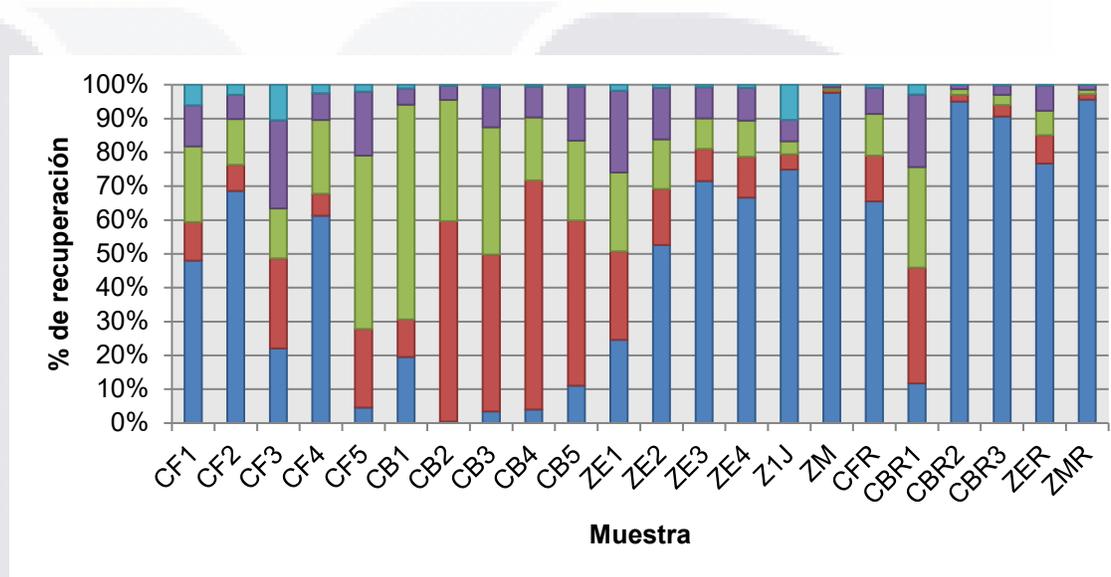


Figura 29. Porcentajes de recuperación del Zn. Obtenido por la extracción secuencial de Tessier. ♦F1, Fracción intercambiable, ♦F2, Fracción unida a carbonatos, ♦F3, Fracción unida a óxidos de Fe y Mn, ♦F4, Fracción unida a materia orgánica, ♦F5, Fracción residual.

La Figura 30 muestra los resultados de los porcentajes de recuperación de cadmio en cada fracción, se observa una alta presencia del metal en la fracción unida a carbonatos alcanzando hasta 87%, pero también hay un alto anclaje del metal en la fracción residual alcanzando un 95%.

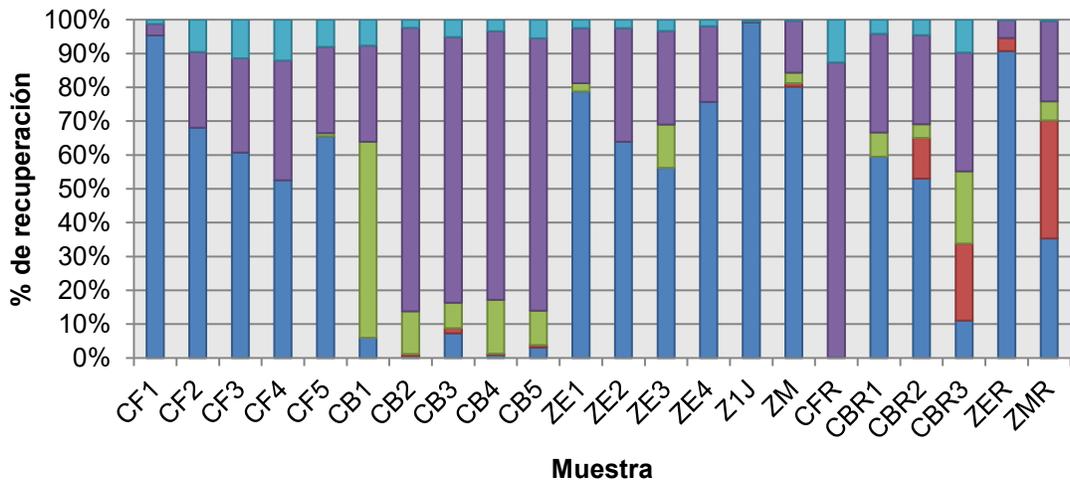


Figura 30. Porcentajes de recuperación del Cd. Obtenido por la extracción secuencial de Tessier. ♦F1, Fracción intercambiable, ♦F2, Fracción unida a carbonatos, ♦F3, Fracción unida a óxidos de Fe y Mn, ♦F4, Fracción unida a materia orgánica, ♦F5, Fracción residual.

El porcentaje de níquel recuperado, se muestra en la Figura 31, se observa que el metal está presente en la fracción II y V, alcanzando el 35.5 y 76.3%, respectivamente. Este fue el único metal que se presentó en mayor cantidad en la fracción intercambiable a diferencia del resto de los metales.

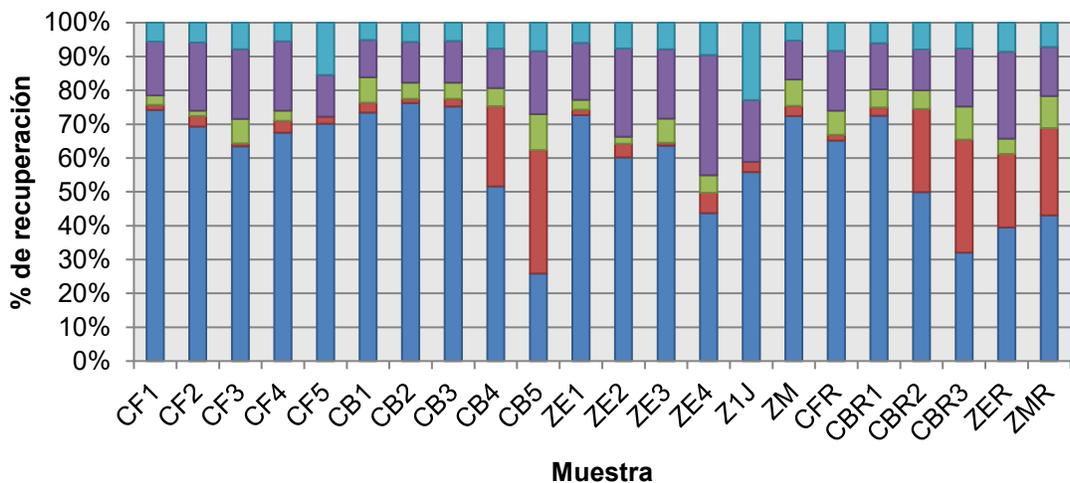


Figura 31. Porcentajes de recuperación del Ni. Obtenido por la extracción secuencial de Tessier. ♦F1, Fracción intercambiable, ♦F2, Fracción unida a carbonatos, ♦F3, Fracción unida a óxidos de Fe y Mn, ♦F4, Fracción unida a materia orgánica, ♦F5, Fracción residual.

En la mayoría de las muestras, el aluminio (Figura 32), está presente en la fracción unida a materia orgánica y en la residual, alcanzando un 97.6 y 98.3 % respectivamente.

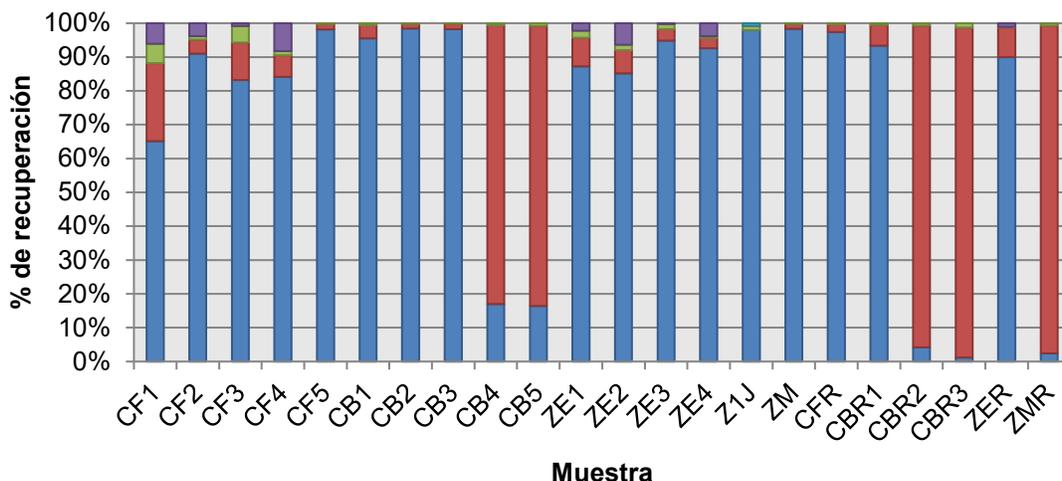


Figura 32. Porcentajes de recuperación del Al. Obtenido por la extracción secuencial de Tessier. ♦F1, Fracción intercambiable, ♦F2, Fracción unida a carbonatos, ♦F3, Fracción unida a óxidos de Fe y Mn, ♦F4, Fracción unida a materia orgánica, ♦F5, Fracción residual.

A pesar de considerable concentración de fierro que contienen las muestras, no se observa movilidad entre las fracciones, por lo que todo el metal se recuperó en la fracción residual (Figura 33).

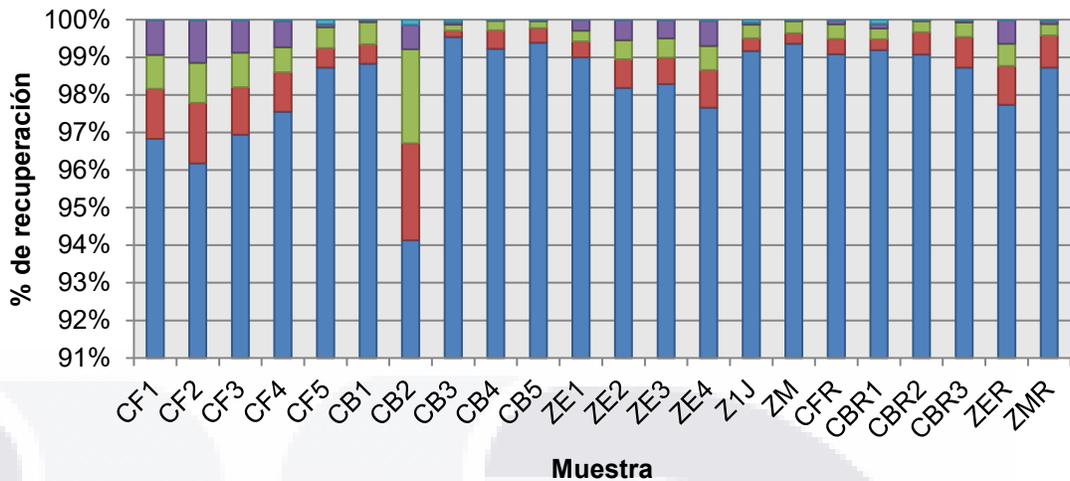


Figura 33. Porcentajes de recuperación del Fe.

Obtenido por la extracción secuencial de Tessier. ♦F1, Fracción intercambiable, ♦F2, Fracción unida a carbonatos, ♦F3, Fracción unida a óxidos de Fe y Mn, ♦F4, Fracción unida a materia orgánica, ♦F5, Fracción residual.

Al igual que el fierro, el manganeso se presenta en altas concentraciones en las muestras de suelo, sin embargo, el Mn tuvo un comportamiento diferente en cada muestra, estando presente en todas las fracciones sin ninguna en particular que predomine el porcentaje de recuperación (Figura 34).

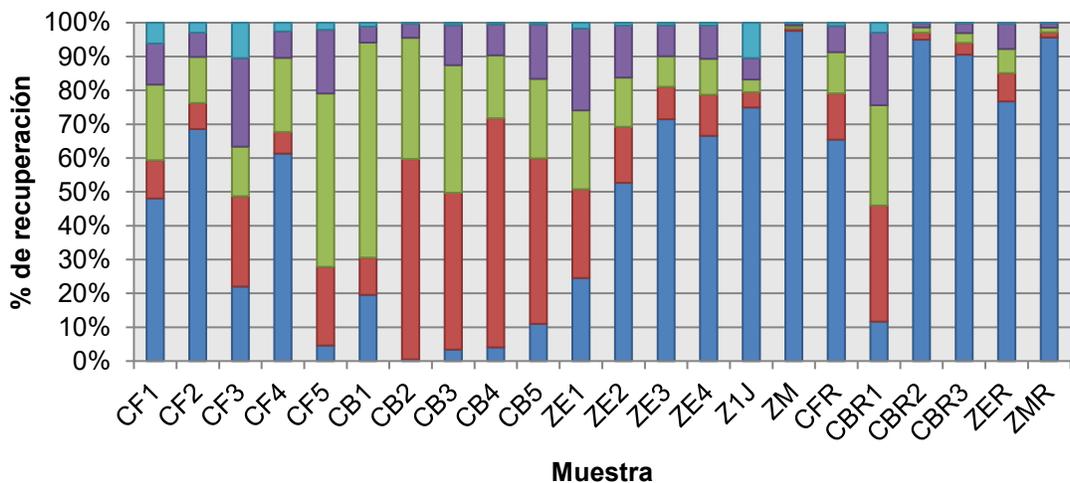


Figura 34. Porcentajes de recuperación del Mn.

Obtenido por la extracción secuencial de Tessier. ♦F1, Fracción intercambiable, ♦F2, Fracción unida a carbonatos, ♦F3, Fracción unida a óxidos de Fe y Mn, ♦F4, Fracción unida a materia orgánica, ♦F5, Fracción residual.

Como se observa en la Figura 19, el cromo se encuentra muy por debajo del límite máximo permisible, incluso hay muestras en las que no se detectó la presencia de este contaminante.

En la Figura 35 se muestra que el 100% del metal se recuperó en la fracción residual en el total de las muestras que contienen Cr.

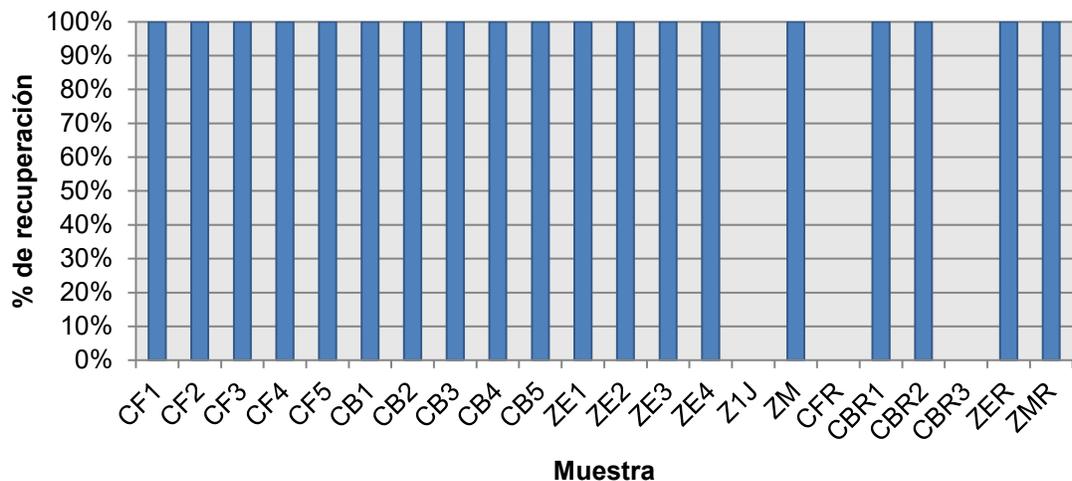


Figura 35. Porcentajes de recuperación del Cr. Obtenido por la extracción secuencial de Tessier. ♦F1, Fracción intercambiable, ♦F2, Fracción unida a carbonatos, ♦F3, Fracción unida a óxidos de Fe y Mn, ♦F4, Fracción unida a materia orgánica, ♦F5, Fracción residual.

En la Figura 36, se muestra el porcentaje de recuperación de arsénico en cada una de las fracciones, se logra observar que la mayor concentración fue determinada en la las fracciones IV y V.

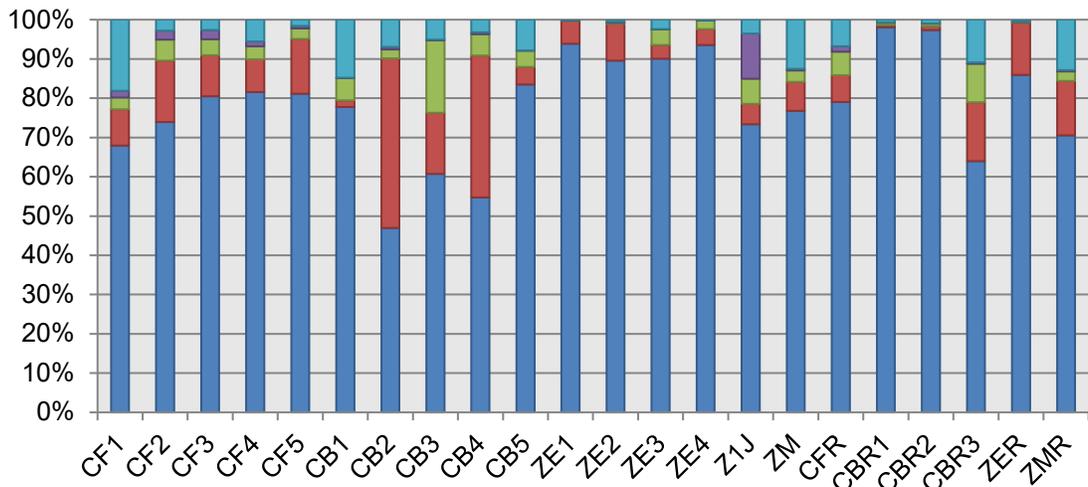


Figura 36. Porcentajes de recuperación del As. Obtenido por la extracción secuencial de Tessier. ♦F1, Fracción intercambiable, ♦F2, Fracción unida a carbonatos, ♦F3, Fracción unida a óxidos de Fe y Mn, ♦F4, Fracción unida a materia orgánica, ♦F5, Fracción residual.

En general, los resultados del fraccionamiento señalan la poca disposición de los contaminantes determinados en las muestras de suelo, ambientalmente es una buena señal, debido a que la poca o nula movilidad reduce el riesgo ecológico que estos pueden representar.

7.4.3. Factor de movilidad

El factor de movilidad (MF) indica la facilidad con que los metales pueden moverse e ingresar a la biota (Gasparatos et al.2015), se calculó a partir de la suma de las fracciones donde los metales pudieran presentar menos dificultad para ser liberados, como lo son las fracciones intercambiable y la unida a carbonatos, entre la suma de los porcentajes de recuperación de todas las fracciones. Por lo tanto, este factor indica la cantidad de metal que pudiera estar disponible y a su vez móvil (Tabla 4). Los valores obtenidos de este factor, se observa que el MF general fue <1%, siendo cadmio y níquel los metales más móviles, hasta 0,99 y 0,45% respectivamente; seguido del zinc hasta el 0,26%; y finalmente Pb y Cu (0,21 y 0,18%, respectivamente). El factor de movilidad siguió el orden de Cd> Ni> Zn> Pb y Cu.

Tabla 4. Factor de movilidad de los elementos determinados en las muestras de suelo.

		Factor de movilidad									
		Cu	Pb	Zn	Cd	Ni	Al	Fe	Mn	Cr	As
Muestra	CF1	0.047	0.147	0.183	0.046	0.215	0.060	0.009	0.183	0.000	0.003
	CF2	0.076	0.497	0.101	0.319	0.260	0.038	0.012	0.101	0.000	0.005
	CF3	0.064	0.219	0.366	0.393	0.285	0.009	0.009	0.366	0.000	0.005
	CF4	0.046	0.175	0.104	0.474	0.260	0.083	0.007	0.104	0.000	0.007
	CF5	0.033	0.133	0.209	0.335	0.278	0.000	0.002	0.209	0.000	0.001
	CB1	0.058	0.378	0.059	0.361	0.161	0.000	0.001	0.059	0.000	0.000
	CB2	0.029	0.092	0.045	0.862	0.177	0.000	0.008	0.045	0.000	0.001
	CB3	0.052	0.467	0.126	0.837	0.177	0.000	0.001	0.126	0.000	0.002
	CB4	0.059	0.009	0.097	0.828	0.193	0.000	0.000	0.097	0.000	0.000
	CB5	0.043	0.203	0.166	0.860	0.270	0.000	0.000	0.166	0.000	0.001
	ZE1	0.002	0.029	0.259	0.188	0.228	0.022	0.003	0.259	0.000	0.006
	ZE2	0.005	0.017	0.162	0.360	0.337	0.063	0.005	0.162	0.000	0.001
	ZE3	0.040	0.156	0.099	0.310	0.283	0.003	0.005	0.099	0.000	0.009
	ZE4	0.023	0.020	0.106	0.243	0.450	0.039	0.007	0.106	0.000	0.012
	Z1J	0.179	0.080	0.167	0.008	0.411	0.008	0.001	0.167	0.000	0.009
	ZM	0.033	0.026	0.008	0.156	0.168	0.000	0.000	0.008	0.000	0.007
	CFR1	0.074	0.216	0.087	0.998	0.260	0.000	0.001	0.087	0.000	0.002
	CBR1	0.006	0.046	0.244	0.333	0.197	0.000	0.002	0.244	0.000	0.001
	CBR2	0.007	0.033	0.013	0.309	0.200	0.000	0.000	0.013	0.000	0.008
	CBR3	0.101	0.016	0.030	0.449	0.248	0.000	0.001	0.030	0.000	0.001
ZER	0.004	0.152	0.077	0.054	0.343	0.011	0.006	0.077	0.000	0.000	
ZMR	0.028	0.034	0.015	0.241	0.217	0.000	0.001	0.015	0.000	0.008	

Factor de movilidad calculado a partir de las fracciones móviles. El experimento se realizó por triplicado (D.E. 0.0005).

7.5. Aislamiento de hongos de suelos de Concepción del Oro, Zacatecas contaminados con arsénico y metales

Se utilizaron diferentes técnicas para aislar hongos de las muestras de suelo de Concepción del Oro, para poder ver si el suelo era rico en la presencia de hongos se realizó la siembra directa, para posteriormente, seleccionar los hongos de interés para proceder a aislarlos.

Las técnicas de aislamiento y purificación de colonias fúngica, resultaron ser efectivas, ya que se obtuvieron colonias con la misma morfología, lo cual se corroboró con la observación microscópica posteriormente con el análisis molecular.

7.5.1. Siembra directa y selección de colonias fúngicas

A partir de la siembra directa del suelo en medio PDA e incubando durante 7 días a 28°C (Mueller, G. M. , 2011).

Se obtuvo un gran desarrollo de colonias en el medio, observándose una gran diversidad de hongos provenientes de las muestras de suelo y rizosferas obtenidas del municipio de Concepción del Oro, Zacatecas, para el aislamiento de colonias fúngicas, se eligieron a criterio y basándose en la morfología macroscópica (Figura 37).

Se identificaron cada una de las colonias seleccionadas, se realizó el registro del punto de muestreo que se inoculó.

A.



B.

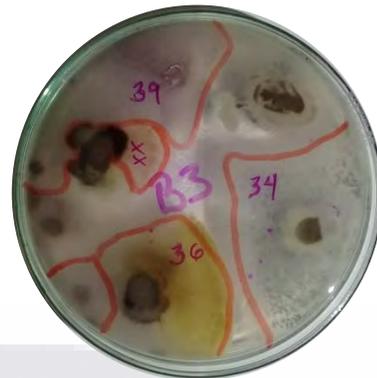


Figura 37. Diversidad de hongos.

A) Desarrollo de múltiples colonias fúngicas utilizando el método de siembra directa. B) Selección a criterio de colonias para aislar.

7.5.2. Purificación de colonias fúngicas

Para obtener y facilitar el aislamiento de hongos, la técnica en dilución por agotamiento en placa, permitió el desarrollo de colonias fúngicas sin llegar a la saturación del medio de cultivo, facilitando su observación y la selección de colonias para la purificación de cepas Figura 38.

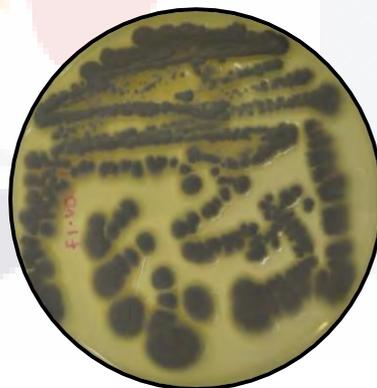


Figura 38. Técnica de dilución por agotamiento en placa con medio PDA.

7.5.3. Hongos aislados

Se aislaron 57 hongos de los puntos muestreados (Figura 39), los cuales sirvieron para obtener una colección de hongos (Anexo A).

La conservación de hongos muestra altos porcentajes de viabilidad en periodos superiores a 5 años. Se ha demostrado que la estabilidad para caracteres morfológicos y fisiológicos es muy eficaz (García, L., & Uruburu, F. , 2014).

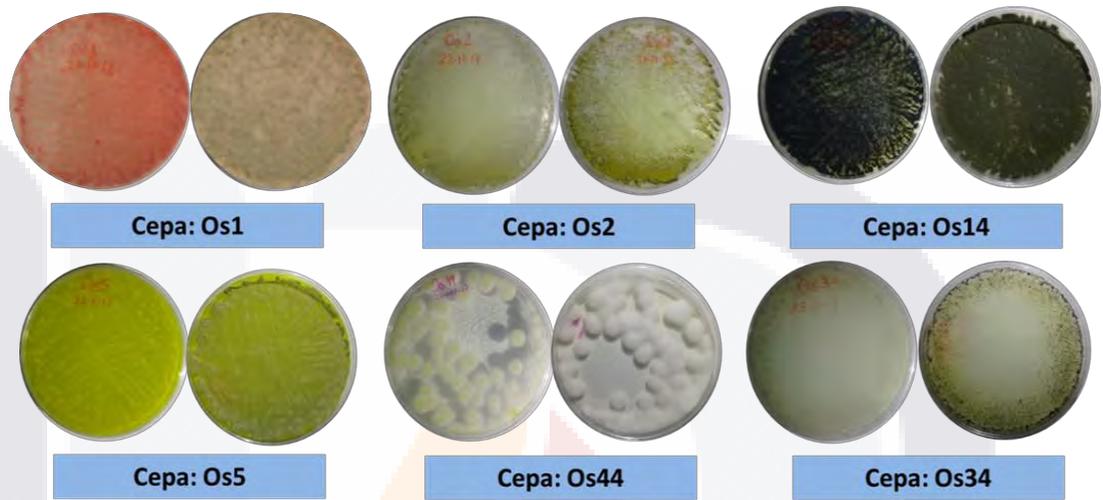


Figura 39. Imagen representativa de hongos aislados.

Se eligieron algunos de los 57 hongos aislados de suelos contaminados con metales del municipio de Concepción del Oro, Zacatecas. En el panel izquierdo de cada hongo se muestra la vista externa inferior de la caja de petri, y en el panel derecho vista interna superior de la caja de petri. La totalidad de los hongos aislados se localizan en el Anexo A.

Se realizó un registro de los hongos aislados y del sitio de muestreo donde provienen (Tabla 5), ya que es de suma importancia saber el punto de origen de cada uno de los hongos, con el fin de asociar la concentración de los metales determinados en cada punto y la resistencia del hongo a dicho metal elegido para este estudio.

Tabla 5. Hongos aislados en cada punto de muestreo.

Sitio de muestreo	Hongos aislados	Total
CF1	Os22, Os23, Os24 y Os25	4
CF2	Os26 y Os27	2
CF3	Os28 y Os29	2
CF4	Os30	1
CF5	Os31	1
CB1	Os32	1
CB2	Os33	1
CB3	Os4, Os34, Os35, Os36, Os37, Os38 y Os39	6
CB4	Os40 y Os41	2
CB5	Os42 y Os43	2
ZE1	Os2 y Os3	2
ZE2	Os5, Os6, Os7, Os8, Os9 y Os10	7
ZE3	Os16, Os17, Os18, Os19, Os20 y Os21	6
ZE4	Os11, Os12, Os13, Os14 y Os15	5
ZM	Os44, Os45 y Os46	3
Z1J	Os1	1
CFR	Ab3 y Ab4	2
CBR1	Ab5	1
CBR2	Ab6, Ab7 y Ab8	3
CBR3	Ab9 y Ab10	2
ZER	Ab1 y Ab2	1
ZMR	Ab11	1
Total de hongos aislados		57

7.6. Caracterización morfológica de los hongos aislados

A partir de un conjunto de técnica como es el método de fragmentación fúngica y microcultivo, se obtuvo una descripción de cada uno de los hongos aislados tanto macro y microscópicamente.

De manera macroscópica se registraron datos como: color, forma, tamaño, pigmentación y consistencia. En cuanto a lo microscópico se registraron datos como: presencia o ausencia de septos, tipo de estructura fúngica y presencia de cuerpos fructíferos (Tabla 6).

Tabla 6. Identificación morfológica (macro y microscópica) de los hongos aislados de muestras de suelo de Concepción del Oro, Zacatecas.

Hongo	Género	Hongo	Género	Hongo	Género
Os1	<i>Penicillium sp.</i>	Os20	<i>Penicillium sp.</i>	Os 39	<i>Cladosporium sp.</i>
Os2	<i>Aspergillus sp.</i>	Os21	<i>Penicillium sp.</i>	Os 40	<i>Mucor sp.</i>
Os3	<i>Mucor sp.</i>	Os22	<i>Acremonium sp.</i>	Os41	<i>Pythium sp.</i>
Os4	<i>Rhizopus sp.</i>	Os23	<i>Aspergillus sp.</i>	Os42	<i>Penicillium sp.</i>
Os5	<i>Penicillium sp.</i>	Os24	<i>Fusarium sp.</i>	Os43	<i>Paecilomyces sp.</i>
Os6	<i>Paecilomyces sp.</i>	Os25	<i>Cladosporium sp.</i>	Os44	<i>Mucor sp.</i>
Os7	<i>Rhizopus sp.</i>	Os26	<i>Fusarium sp.</i>	Os45	<i>Paecilomyces sp.</i>
Os8	<i>Aspergillus sp.</i>	Os27	<i>Fusarium sp.</i>	Os46	<i>Fusarium sp.</i>
Os9	<i>Cunninghamella sp.</i>	Os28	<i>Scopulariopsis sp.</i>	Ab1	<i>Scedosporium sp.</i>
Os10	<i>Phytophthora sp.</i>	Os29	<i>Mucor sp.</i>	Ab2	<i>Alternaria sp.</i>
Os11	<i>Aspergillus sp.</i>	Os30	<i>Absidia sp.</i>	Ab3	<i>Didymella sp.</i>
Os12	<i>Alternaria sp.</i>	Os31	<i>Penicillium sp.</i>	Ab4	<i>Cladosporium sp.</i>
Os13	<i>Paecilomyces sp.</i>	Os32	<i>Cladosporium sp.</i>	Ab5	<i>Mucor sp.</i>
Os14	<i>Alternaria sp.</i>	Os33	<i>Fusarium sp.</i>	Ab6	<i>Acremonium sp.</i>
Os15	<i>Aspergillus sp.</i>	Os34	<i>Aspergillus sp.</i>	Ab7	<i>Fusarium sp.</i>
Os16	<i>Aspergillus sp.</i>	Os35	<i>Aspergillus sp.</i>	Ab8	<i>Penicillium sp.</i>
Os17	<i>Scedosporium sp.</i>	Os36	<i>Cunninghamella sp.</i>	Ab9	<i>Mucor sp.</i>
Os18	<i>Mucor sp.</i>	Os 37	<i>Penicillium sp.</i>	Ab10	<i>Mucor sp.</i>
Os19	<i>Paecilomyces sp.</i>	Os 38	<i>Fusarium sp.</i>	Ab11	<i>Mucor sp.</i>

La identificación de los 57 hongos aislados en cuanto al género, se basó en atlas que describen las características de hongos filamentosos (Alexopoulos, C. J., Mims, C. W., & Blackwell, M., 1996) (Anexo B).

La Figura 40 representa el porcentaje de cada uno de los géneros identificados, se identificaron 16 géneros, entre los cuales destacan por su mayor incidencia *Mucor*, *Aspergillus*, *Penicillium* y *Fusarium*, que, como ya se ha reportado antes son de los hongos comúnmente encontrados en suelos (Pacasa-Quisbert, F, 2017).

Cabe resaltar que este método, sólo es funcional para la identificación del género, si se requiere una información más precisa como la especie e incluso la subespecie (si es que llegase a existir), lo recomendable es aplicar técnicas moleculares. Sin embargo, conocer el género de los hongos, amplía el

panorama de estudio, ya que la información que da es suficiente para conocer la manera de cultivarlos y conservarlos.

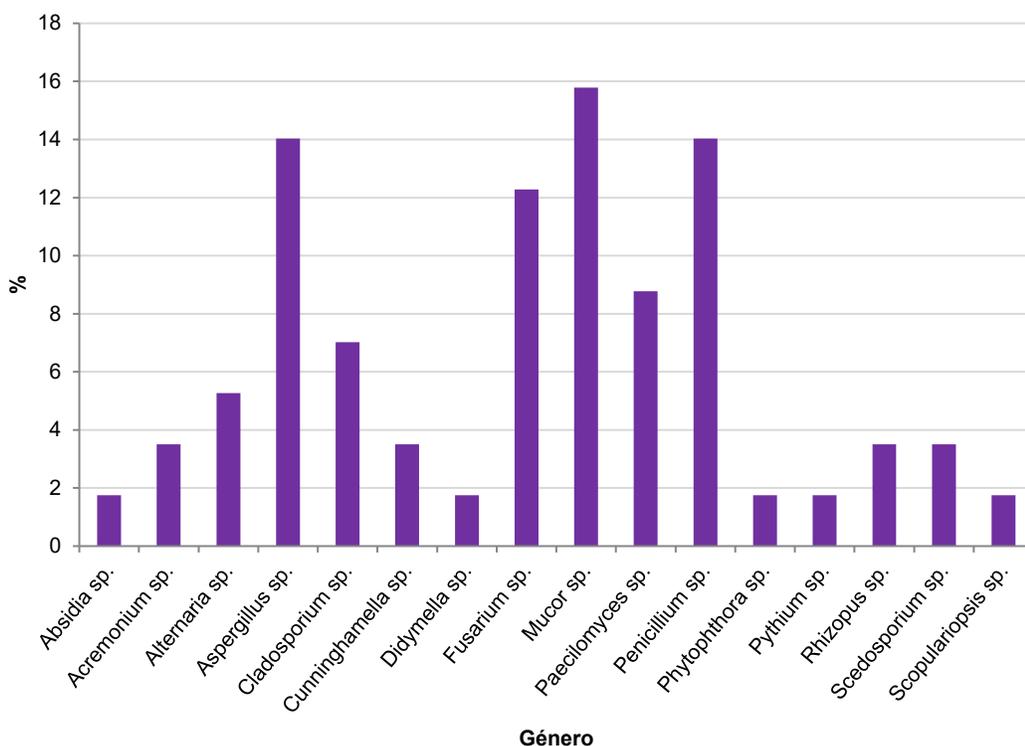


Figura 40. Porcentaje de los géneros identificados en cuanto a morfología macro y microscópica.

7.7. Resistencia de los hongos aislados a la presencia de As(V)

Como se muestra en el apartado 8.2., el total de las muestras de suelo obtenidas de Concepción del Oro Zacatecas, sobrepasan el LMP de arsénico por lo que se considera una zona de riesgo ambiental.

Por lo anterior, se realizó un estudio donde se evaluó la resistencia que tienen los hongos aislados de los suelos antes mencionados, frente a la presencia de As(V) en el medio.

Los 57 hongos aislados se inocularon en PDA en ausencia de la sal de arsenato de sodio ($\text{Na}_2\text{HAsO}_4 \cdot 7 \text{H}_2\text{O}$), y también en presencia de esta sal. La concentración que se utilizó fue de 1000 en 1000 mg/L, ya que hubo muestras de suelo que reportaron arriba de 11,000 mg/Kg de arsénico.

El estudio se realizó por duplicado, y se obtuvo un promedio de los diámetros de cada uno de los hongos, se observó que conforme aumentaba la concentración de arsénico en el medio, el diámetro de los hongos se fue reduciendo, esto debido a la presencia del contaminante que estaba afectando el desarrollo del crecimiento fúngico.

En la Tabla 7, se muestran los promedios de los diámetros obtenidos de cada uno de los hongos, a grandes rasgos se observa que algunos hongos muestran resistencia a altas concentraciones de arsénico, mientras que otros se inhibieron a bajas concentraciones.

Tabla 7. Diámetro de los hongos aislados que fueron expuestos frente a As(V).

ID	Hongo	mg/L															
		0	1K	2K	3K	4K	5K	6K	7K	8K	9K	10K	11K	12K	13K	14K	15K
		Diámetro (cm)															
Os 1	<i>Penicillium sp.</i>	4.2	3.8	2.2	1.8	1.8	1.8	1.9	1.0	0.9	0.9	0.7	0	0	0	0	0
Os 2	<i>Aspergillus sp.</i>	7.2	6.3	5.9	5.2	4.6	4.2	4.3	4.0	3.7	3.0	1.5	1.0	0.7	0	0	0
Os 3	<i>Mucor sp.</i>	7.8	5.7	4.8	3.6	3.5	3.5	3.3	3.3	3.0	2.5	1.5	1.5	1.0	0.9	0	0
Os 4	<i>Rhizopus sp.</i>	5.7	5.6	5.3	3.9	3.1	2.2	2.2	2.4	1.8	1.8	1.5	1.5	1.5	1.5	1.1	1.0
Os 5	<i>Penicillium sp.</i>	4.6	4.3	4.4	3.1	1.4	1.4	1.4	1.4	1.0	1.0	1.0	0.9	0.8	0	0	0
Os 6	<i>Paecilomyces sp.</i>	3.6	2.7	2.4	1.9	1.9	1.4	1.3	1.9	2.0	1.7	1.1	0.8	0.8	0	0	0
Os 7	<i>Rhizopus sp.</i>	6	5.1	4.6	4.1	2.5	2.3	2.0	2.0	1.7	1.4	1.0	0.8	0.8	0	0	0
Os 8	<i>Aspergillus sp.</i>	3.2	3	2.9	2.7	2.5	2.2	2.1	2.0	1.5	1.9	1.4	1.2	1.2	0.9	0	0
Os 9	<i>Cunninghamella sp.</i>	8.3	7.5	7.2	5.1	5.2	4.7	4.8	4.0	3.0	2.0	1.8	1.0	0.9	0	0	0
Os 10	<i>Phytophthora sp.</i>	6.0	5.5	5.6	3.7	2.5	2.6	1.4	1.5	1.5	1.6	1.5	0.9	0.8	0	0	0
Os 11	<i>Aspergillus sp.</i>	4.5	4	3.5	3.1	0.9	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Os 12	<i>Alternaria sp.</i>	7.5	6.2	3.7	1.7	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Os 13	<i>Paecilomyces sp.</i>	4.2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Os 14	<i>Alternaria sp.</i>	4.7	3.7	3.2	2.4	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Os 15	<i>Aspergillus sp.</i>	3.2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Os 16	<i>Aspergillus sp.</i>	3.7	2.5	2.6	2.5	2.3	1.8	1.5	1.5	1.5	1.3	1.3	1.5	1.0	0.8	0	0
Os 17	<i>Scedosporium sp.</i>	8.2	8.3	7.7	7.5	2.5	2.5	2.4	2.2	2.0	2.1	1.1	1.1	1.1	0.8	0	0
Os 18	<i>Mucor sp.</i>	7.7	7.0	3.8	3	2.8	2.2	2.4	2.2	1.9	1.9	1.1	1.0	1.0	0.5	0	0
Os 19	<i>Paecilomyces sp.</i>	6.3	5.8	4.0	3.3	2.1	2.0	2.1	2.2	1.7	1.5	1.5	1.5	1.0	0.8	0	0
Os 20	<i>Penicillium sp.</i>	4.0	3.4	3.5	2.2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Os 21	<i>Penicillium sp.</i>	8.4	0.7	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Os 22	<i>Acremonium sp.</i>	5.1	5.0	4.6	4.4	4.4	4.5	4.2	4.0	3.7	3.5	1.2	1.3	1.0	0.7	0	0
Os 23	<i>Aspergillus sp.</i>	3.6	3.5	3.4	3.4	3.3	3.2	3.1	3.0	2.5	2.1	1.2	1.0	0.9	0	0	0
Os 24	<i>Fusarium sp.</i>	4.8	4.8	4.8	4.6	4.4	4.4	4.3	4.0	3.9	3.9	1.5	1.2	1.0	0.8	0	0
Os 25	<i>Cladosporium sp.</i>	2.1	1.9	1.8	1.8	0.4	0.3	0.3	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Os 26	<i>Fusarium sp.</i>	3.4	3.1	3.0	2.8	2.6	2.3	1.8	2.0	1.7	1.7	1.4	1.4	1.3	1.1	0.9	0.8
Os 27	<i>Fusarium sp.</i>	6.4	6.0	5.9	5.4	5.1	4.9	4.7	3.9	2.7	2.1	1.6	1.2	1.3	0.6	0	0

Os 28	<i>Scopulariopsis sp.</i>	4.5	4.0	4.0	3.7	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Os 29	<i>Mucor sp.</i>	6.3	5.0	4.6	3.2	3.0	3.0	2.9	2.5	1.4	1.4	0.9	0.7	0.4	0	0	0
Os 30	<i>Absidia sp.</i>	8.3	8.3	5.8	3.5	3.3	3.5	2.6	2.5	0	0	0	0	0	0	0	0
Os 31	<i>Penicillium sp.</i>	6.3	5.3	5.5	5.3	4.8	4.6	4.3	3.9	2.5	2.1	1.4	1.3	1.0	0.9	0	0
Os 32	<i>Cladosporium sp.</i>	3.0	2.9	3.0	0.2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Os 33	<i>Fusarium sp.</i>	4.0	3.9	4.0	3.7	3.3	3.3	3.0	3.0	3.0	2.2	1.1	1.0	0.9	0.6	0	0
Os 34	<i>Aspergillus sp.</i>	3.9	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Os 35	<i>Aspergillus sp.</i>	8.3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Os 36	<i>Cunninghamella sp.</i>	8.3	6.5	5.3	4.9	4.4	4.0	3.8	3.2	3.0	2.7	1.1	1.1	1.0	0.7	0	0
Os 37	<i>Penicillium sp.</i>	8.3	6.1	5.8	5.0	1.7	1.6	1.3	1.0	1.0	1.1	1.0	1.0	1.0	0.8	0	0
Os 38	<i>Fusarium sp.</i>	4.4	4.1	4.1	3.9	3.7	3.1	3.1	3.0	2.6	2.4	0	0	0	0	0	0
Os 39	<i>Cladosporium sp.</i>	8.3	5.0	4.5	4.0	3.5	2.0	1.4	1.1	1.0	1.1	0.9	0.8	0.5	0	0	0
Os 40	<i>Mucor sp.</i>	3.5	3.2	3.1	2.6	2.5	2.3	2.5	1.2	1.2	1.2	0	0	0	0	0	0
Os 41	<i>Pythium sp.</i>	6.2	5.8	5.7	5.9	5.7	5.5	5.5	5.0	3.2	3.0	1.1	0.9	0.4	0	0	0
Os 42	<i>Penicillium sp.</i>	2.9	2.9	2.1	2.2	1.9	1.1	1.0	1.1	0	0	0	0	0	0	0	0
Os 43	<i>Paecilomyces sp.</i>	7.0	7.0	5.8	5.9	4.2	3.4	2.5	2.0	0.4	0	0	0	0	0	0	0
Os 44	<i>Mucor sp.</i>	2.7	2.4	2.1	2.0	1.4	1.5	1.3	1.1	0.8	0	0	0	0	0	0	0
Os 45	<i>Paecilomyces sp.</i>	3.8	3.8	3.7	3.4	2.5	2.2	2.3	1.4	1.3	1.4	0.7	0	0	0	0	0
Os 46	<i>Fusarium sp.</i>	4.6	4.4	4.1	4.0	4.0	3.9	3.8	3.3	2.5	2.1	1.9	2.0	1.7	1.1	0.6	0
Ab 1	<i>Scedosporium sp.</i>	8.3	6.6	4.7	4.2	4.1	3.6	2.2	2.1	1.7	1.5	0.8	0.8	0	0	0	0
Ab 2	<i>Alternaria sp.</i>	8.3	6.9	6.4	3.8	3.0	3.0	3.0	3.1	1.0	1.0	1.0	0.9	0.4	0	0	0
Ab 3	<i>Didymella sp.</i>	8.3	5.5	5.5	4.6	3.7	3.3	2.6	2.4	1.9	1.9	1.2	0.8	0.6	0	0	0
Ab 4	<i>Cladosporium sp.</i>	3.9	3.9	3.6	2.9	2.8	2.8	2.5	2.5	2.3	2.0	1.0	1.0	0.9	0	0	0
Ab 5	<i>Mucor sp.</i>	8.2	7.9	7.8	7.3	6.4	5.9	5.2	5.7	5.3	3.8	3.2	2.8	2.3	2.0	1.3	0.9
Ab 6	<i>Acremonium sp.</i>	8.3	8.0	7.7	6.9	5.4	5.3	4.3	4.0	3.9	4.0	2.5	2.3	1.0	1.1	0.3	0
Ab 7	<i>Fusarium sp.</i>	8.3	5.0	4.0	3.0	2.8	1.4	1.6	1.4	1.3	1.0	1.0	0.8	0.8	0.4	0	0
Ab 8	<i>Penicillium sp.</i>	2.6	2.4	2.2	2.2	2.1	1.5	1.5	1.3	1.2	0.3	0	0	0	0	0	0
Ab 9	<i>Mucor sp.</i>	8.3	4.3	3.7	3.7	3.4	3.2	2.3	1.6	1.4	1.5	1.0	0	0	0	0	0
Ab 10	<i>Mucor sp.</i>	8.3	8.1	8.0	7.4	7.1	6.0	2.1	1.5	1.0	1.2	1.0	0.9	0.8	0	0	0
Ab 11	<i>Mucor sp.</i>	8.3	4.5	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

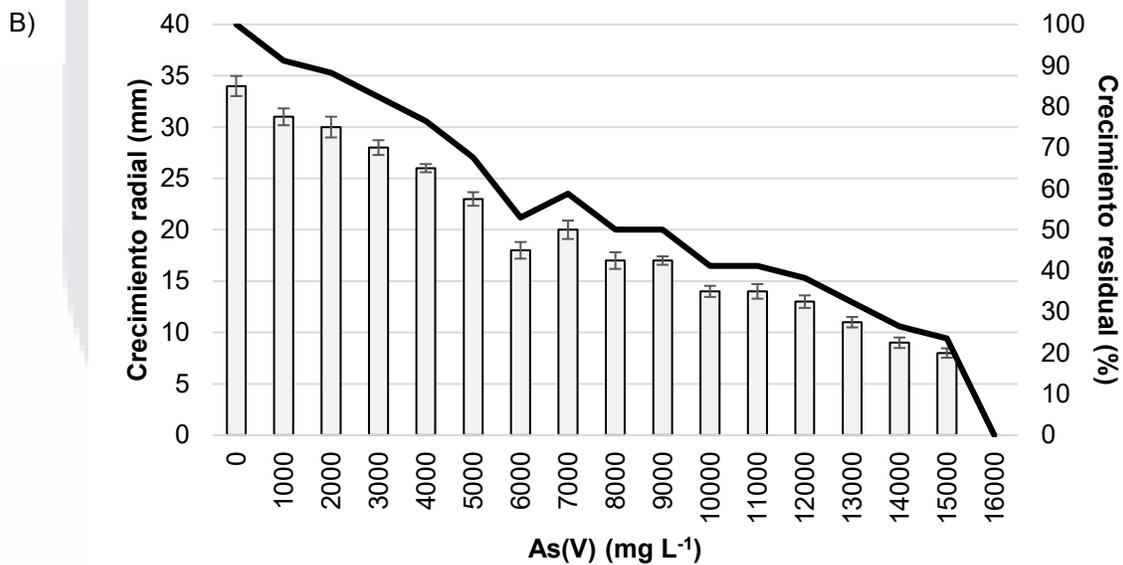
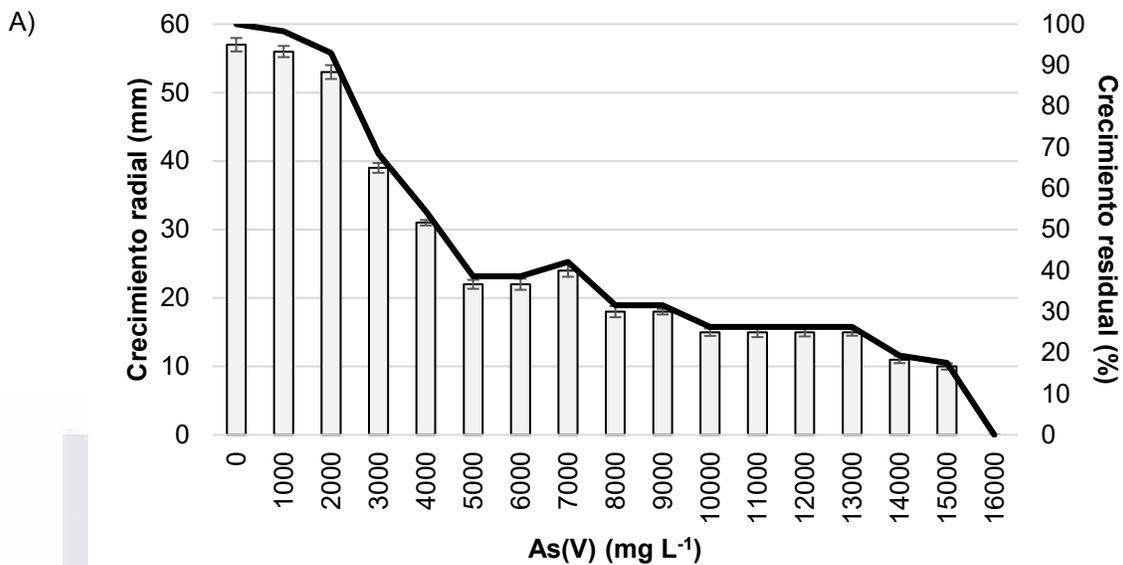
Los diámetros, representa la media del duplicado de cada hongo con una D.E. = 0.01 cm

De manera particular, y por mencionar algunos ejemplos; el hongo Os16 identificado con un género de *Aspergillus sp*; tuvo la capacidad de resistir hasta 13,000 mg/L de As(V), el hongo Os1 (*Penicillium sp.*) resistió 10,00 mg/L de As(V); por otro lado los hongos Os43 (*Paecilomyces sp.*) y Os10 (*Phytophthora sp.*) presentaron una resistencia de 8,000 y 4,000 mg/L, respectivamente, mientras que el hongo Os13 (*Paecilomyces sp.*) solamente creció en el control.

En cuanto a los hongos Os4, Os26 y Ab5 (*Rhizopus sp*, *Fusarium sp* y *Mucor sp*, respectivamente), presentaron resistencia hasta 15,000 mg/L, y el hongo Os46 identificado como *Fusarium sp*, resistió hasta 14,000 mg/L de As(V) presente en el medio (Figura 41). Por lo que estos cuatro hongos se tomaron como los más resistentes a la presencia del tóxico en el medio de cultivo.

Una peculiaridad que se observó en los tres hongos que resistieron a 15,000 mg/L, fue que conforme se aumentaba la concentración de arsénico, el diámetro de estos iba disminuyendo, pero, al emplear 7,000 mg/L de As(V), estos hongos presentaron un ligero aumento en el diámetro de crecimiento (Figura 41A, 41B y 41D), por lo que esta concentración se tomó para el resto de los estudios de interacción hongo-arsénico. El hongo Os46, a pesar que resistió también una alta presencia de As(V), no presentó esa capacidad de aumentar su diámetro a concentraciones intermedias (Figura 41C).

Se reportó el crecimiento radial en milímetros para visualizar el efecto del arsénico sobre los hongos, como se mencionó anteriormente, se observa que al aumentar la concentración de As(V) en el medio, el diámetro fue disminuyendo; en el eje Y secundario, se presenta el crecimiento residual en porcentaje, que, tal y como se esperaba fue disminuyendo hasta llegar a 0% la presencia de micelio (Figura 41).



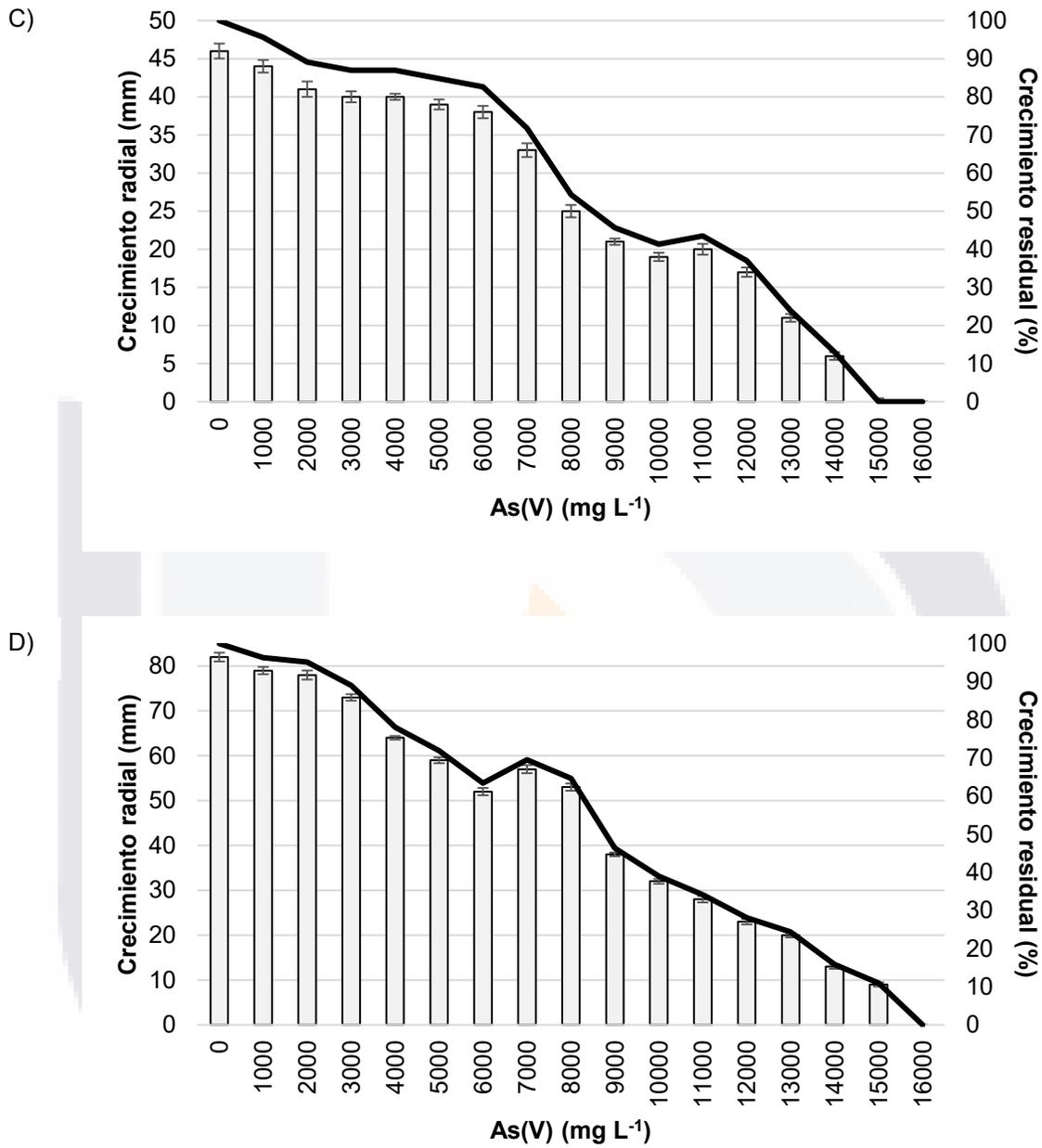


Figura 41. Efecto del As(V) sobre los hongos con mayor resistencia a As(V).
 A) Os4 (*Rhizopus sp*), B) Os26 (*Fusarium sp*), C) Os46 (*Fusarium sp*) y D) Ab5 (*Mucor sp*).
 ■ Medida del crecimiento radial (mm), — Porcentaje del crecimiento residual (%)

7.8. Identificación molecular de los hongos más resistentes a la presencia de As(V)

Para la identificación molecular de los hongos resistentes a arsénico, se realizó la extracción de ADN de cada uno de los hongos, el cual después fue enviado para su análisis de secuenciación al Laboratorio Nacional de Biotecnología Agrícola, Médica y Ambiental (LANBAMA), del IPICYT, en la ciudad de San Luis Potosí.

El material genético reunió las condiciones especificadas por el LANBAMA para su análisis, que constan de: concentración mínima de 50 ng/ μ l, volumen mínimo requerido de 20 μ l por muestra y pureza mínima a λ 260/280 de 1.50 (Tabla 8).

Tabla 8. Resultados de la concentración y pureza del ADN extraído de los hongos que presentaron mayor resistencia a As(V).

Hongo	λ 230	λ 260	λ 280	Pureza	Pureza	μ g/mL	Volumen final (μ l)
				Λ 260/230	Λ 260/280		
Os4	0.061	0.093	0.059	1.52	1.57	465	100
Os26	0.034	0.054	0.035	1.58	1.54	270	100
Os46	0.059	0.096	0.064	1.63	1.50	475	100
Ab5	0.059	0.089	0.052	1.50	1.71	445	100

Con el fin de corroborar el género e identificar la especie de los 4 hongos, las secuencias obtenidas se ensamblaron con el software Seqman y se compararon con las secuencias albergadas en el National Center for Biotechnology Information (NCBI), utilizando una herramienta bioinformática de alineamiento de secuencias de tipo local BLAST.

En la Tabla 9, se muestran los resultados de la identificación molecular respecto a la morfológica, donde se observa que el género identificado con las características macro y microscópicamente coinciden con el género identificado a través de la secuenciación molecular, también se identificó la especie de cada uno de los hongos, dando que Os4 es *Rhizopus microsporus*, Os26 es *Fusarium equiseti*, Os46

es *Fusarium oxysporum* y Ab5 es *Mucor moelleri*. Además, se muestra el porcentaje de identidad de los fragmentos secuenciados de cada hongo.

Tabla 9. Porcentajes de identidad de los fragmentos secuenciados e identificación del género y especie de los hongos con mayor resistencia a As(V).

ID	Identificación		Identidad (%)	Acceso
	Morfológica	Molecular		
Os4	<i>Rhizopus sp</i>	<i>Rhizopus microsporus</i>	ITS-1 = 93%	MH474401.1
			ITS-4 = 99%	MH473977.1
Os26	<i>Fusarium sp</i>	<i>Fusarium equiseti</i>	ITS-1 = 100%	MT560337.1
			ITS-4 = 99%	MT453272.1
Os46	<i>Fusarium sp</i>	<i>Fusarium oxysporum</i>	ITS-1 = 97%	KU321542.1
			ITS-4 = 99%	FJ54076.1
Ab5	<i>Mucor sp</i>	<i>Mucor moelleri</i>	ITS-1 = 90%	KU320630.1
			ITS-4 = 91%	KU320630.1

Con el resultado anterior, se puede concluir que la identificación morfológica, analizando las características macro y microscópicas se puede obtener el género de los hongos aislados, sin embargo, la identificación con técnicas moleculares es importante para confirmar el género y obtener la especie, la identificación de los hongos es crucial para poder analizar a fondo el comportamiento de cada especie desde lo bibliográfico hasta lo técnico, y con ello obtener información y conclusiones de relevancia.

A continuación, se muestran las secuencias de cada región ITS-1 e ITS-4 de cada hongo, las cuales se utilizaron para la identificación del género y especie.

Os4 *Rhizopus microsporus*

Secuencia nucleotídica del fragmento
ITS-1

GCCCTTTACTGGGATTCTTCTCAGTAT
TGTGGCTTCTATACTGTGAACCTCTGG
CGATGAAGGTCGTAAGTACCTTCGGG
AGAGACTCAGGACATATAGGCTATAAT
GGGTAGGCCTGTTCTGGGGTTTGATCG
ATGCCAATCAGGATTACCTTTCTCCTT
TGTTAAGGAAGGTGCCTGGCACCCCTT
ACCATATACCATGAATTCAGAATTGAAA
GGATAATAAAATAACAACCTTTTAAACAAT
GGATCTCTTGTTCTCGCATCGATGAA
GAACGTCGCATGATTCGATAACTAGTG
TGAATTGCATATTCGGGAATCATCGAG
GCTCTGAACGCAGCTTGCACTCTATGG
ATCTTCTGTAGAGAACGCTTGCTTCAG
TATCATATCCAATCTACACATATGATTT
ATGTTATGGGGTGACGGGCACCTTCG
GTCCCATTGAATTATTGTACCGATTGAC
TGAAATACAGCC

Secuencia nucleotídica del fragmento
ITS-4

CTTGACTTCGATCATAGATTAAGAGCA
TTAATATCTGCTTGGTTGGCAGAACCC
CCAGATTAATGTTTTTGGTTGGACCA
AAAAAGCACGATGGCTAGGTAGTTCGT
AATTTAATGAAAATTACAAAGAGGCTGT
ATTTTAGACAATCGGTATAATAATTA
TTTTACCGAAATTGTCCATCACCACATA
AAATAAATTTTATGTGTGGGTTGGTTAT
GATACTGAAGCAAGCGTACTCTATAGA
AGATCCATAGAGTGCAAGCTGCGTTCA
AAGACTCGATGATTCACGAATATGCAA
TTCACACTAGTTATCGCACTTTGCTACG
TTCTTCATCGATGCGAGAACCAAGAGA
TCCATTGTTAAAAGTTGTTATTTTATTAT
ACTTTCAATTCTGAATTCATGGTATATG
GTAAAGGGTACCAGGCACCTTCCTTCC
CAAAGGAAGAAAGGTAATCCTGATTGG
CATCGATCAAACCCCGAGAACAGGCCTA
CCATTATAGCCTATATGTCCTGAGTCT
CTCCCGAAGGTCAGTTACGACCTTCAT
CGCCAGAGGTTTCACAGTATAGAAGCA
ACAATACTGAGAAGTGAATCCCAGTA
AAGTGCCAATACATTAGTTAATGATCCT
TCCCGCAGG

Os26 *Fusarium equiseti*

Secuencia nucleotídica del fragmento
ITS-1

Secuencia nucleotídica del fragmento
ITS-4

CAGCGGGTATTCCTACCTGATCCGAGG
TCAACATTCAGAAGTTGGGGTTTTACG
GCGTGCCCGCGACGATTACCAAGTAAC
GAGGTGTATGATTACTACGCTATGGAA
GCTCGACGTGACCGCCAATCGATTTGG
GGAACGCGGGTTACCGCGAGTCCCAA
CACCAAGCTGAGCTTGAGGGTTGAAAT
GACGCTCGAACAGGCATGCCCGCCAG
AAACTGGCGGGCGCAATGTGCGTTCA
AAGATTCGATGATTCACTGAATTCTGCA
ATTCACATTACTTATCGCATTTTGCTGC
GTTCTTCATCGATGCCAGAACCAAGAG
ATCCGTTGTTGAAAGTTTTGATTTATTT
GTTTGTTTTACTCAGAAGTTCCACTAAA
AACAGAGTTTAGGGTCCTCGGGCGGG
CCGTCCCTTTTTACAGGGCGCGGGCT
GATCCGCCGAGGCAACGTATAGGTATG
TTCACAGGGGTTTGGGAGTTGTAAACT
CGGTAATGATCCCTCCGCTGGTTCACC

CGGGCGCAATGTGCGTTCAAAGATTTCG
ATGATTCACTGAATTCTGCAATTCACAT
TACTTATCGCATTTTGCTGCGTTCTTCA
TCGATGCCAGAACCAAGAGATCCGTTG
TTGAAAGTTTTGATTTATTTGTTTGT
ACTCAGAAGTTCCACTAAAACAGAGT
TTAGGGTCCTCGGGCGGGCCGTCCT
TTTTACAGGGCGCGGGCTGATCCGCC
GAGGCAACGTATAGGTATGTTACAGG
GGTTTGGGAGTTGTAAACTCGGTAATG
ATCCCTCCGCTGGTTCACCACCTGATC
CGAGGTCAACATTCAGAAGTTGGGGTT
TTACGGCGTGGCCGCGACGATTACCA
GTAACGAGGTGTATGATTACTACGCTA
TGGAAGCTCGACGTGACCGCCAATCG
ATTTGGGGAACGCGGGTTACCGCGAG
TCCCAACACCAAGCTGAGCTTGAGGGT
TGAAATGACGCTCGAACAGGCATGCC
GCCAGAATACTGGCGGG

A



Os46 *Fusarium oxysporum*

Secuencia nucleotídica del fragmento
ITS-1

Secuencia nucleotídica del fragmento
ITS-4

TCACTCCCAACCCCTGTGACATACCAC
TTGTTGCCTCGGCGGATCAGCCCGCTC
CCGGTAAAACGGGACGGCCCGCCAGA
GGACCCCTAAACTCTGTTTCTATATGTA
ACTTCTGAGTAAAACCATAAATAAATCA
AAACTTTCAACAACGGATCTCTTGGTTC
TGGCATCGATGAAGAACGCAGCAAAAT
GCGATAAGTAATGTGAATTGCAGAATT
CAGTGAATCATCGAATCTTTGAACGCA
CATTGCGCCCGCCAGTATTCTGACGGG
CATGCGTGTTCGAGCGTCATTTCAACC
CTCAAGCACAGCTTGTTGTTGAGACTC
GCGTTAATTCGCGTTCCTAAATTGATT
GGCGGTCACGTCGAGCTTCCATAGCG
TAGTATGAAAACCCCTCGTTACTGTAAAT
CGACGCGGCCGCGCCGTTAAACCCCA
ACTTCTGAATGTTGACCTCGGATCAGG
TAGGAATACCCGCTGAACTTACCCCTA
TCAGA

GGGGGAATCAACCTGATCGAGGTCA
CATTCAGAAGTTGGGGTTTAACGGCGT
GGCCGCGACGATTACCAGTAACGAGG
GTTTTACTACTACGCTATGGAAGCTCG
ACGTGACCGCCAATCAATTTGGGGAAC
GCGAATTAACGCGAGTCCCAACACCAA
GCTGTGCTTGAGGGTTGAAATGACGCT
CGAACAGGCATGCCCGCCAGAATACT
GGCGGGCGCAATGTGCGTTCAAAGATT
CGATGATTCACTGAATTCTGCAATTCAC
ATTACTTATCGCATTTTTGCTGCGTTCTT
CATCGATGCCAGAACCAAGAGATCCGT
TGTTGAAAGTTTTGATTTATTTATGGTTT
TACTCAGAAGTTACATATAGAAACAGA
GTTTAGGGGTCCTCTGGCGGGCCGTC
CCGTTTTACCGGGAGCGGGCTGATCC
GCCGAGGCAACAAGTGGTATGTTTACA
GGGGTTTGGGAGTTGTAAACTCGGTAA
TGATCCCTCCGCAGGTCCCCCTACGAA
A



Ab5 Mucor moelleri

Secuencia nucleotídica del fragmento
ITS-1

TAGGGTACTGCgGGAGGATCATTACAT
ATTTTAAAAAAGTTTTTCTTTTTGAAAA
AACTTTTTTAAAAAATTCATTCACAGT
GTGGGAAATGTCTACATACGCTTGTGC
CTGGTTCAGTCATTGTGCTGCCACAGG
AGTTTACTTTGGATTCTTTCAGTCCAT
TGATAGCTTTCCGTTGAGGAAACCTTC
TGTAATGGGGATAAGATTTTTCTTTAT
TATACTTTTTTTTTTAACTGA

Secuencia nucleotídica del fragmento
ITS-4

TGGGTTTCATCTGATTTTCAGGCCAAGTT
TTTTAAAAATTATATTGGCAATAAACCTT
AGTAGAAATGAAAATTCTATTAAGCCT
GACTTGATTTTTTTCCGGGGGGAAAAA
AAGGAAGTCGAGCCTAATATTTAGGTT
GAGAGTGATTTTTTTTTTTTTTTAGGG
AAAAAAAAAGAACCCCAAACCCAGAA
CTTTTTCTCGCGTTTTTTAAAAAACCC
CCCCCAAGGGGGGAGATATTTAATA
GGGGCTGTGACACACACGCCCATGG
GAAACACCATAGGGCGCAAGGCGCGC
ACAGAGATGTGGAGACACTCTATGCGC
AGAACATTTACATATCGAGATGTGGT
GCGCTCCTCCTCGACACAAACGAGAGA
GACCCTGTGGAGAAAGGTGTTTTTAAA
ATTTTTTATTAAAAAACCCTT
TAGATTTGGGTATATCGACACAGAAA
AAAAAAAAAATATAAAAAAATTT
TCCCCCTTACACAAAGGGTCCCCTCC
GCGGAGATATATCTGGGCTGTGCARAA
AATCCARAGAACTCTCGTGGGGCCGCA
CTGAGTGTGCAACACACACGAGTGTGT
GGACACATTTCACTGTGAGTGTGAT
TTTTATAAAAAAGTTTTCACAAAGAGAA
AACACTTTTTAAAGATGTGGATGATTTT
GCACAGGCACCCACAMAACCGTGAC
ACCACTTACACTATATCTATAGAGAT
CTCTACATACTCACTGTGATATGRAATC
GCTGTGCTCTTATATCTCTCGAGATC
ACGSTGTGTATATAACTCTATAAGAGAT
CTGTGCTCACATACATCGGAGCGGTAT
GAGTGCGTGTCTCGGATCGAGACTCT
CGTGACACTACGAGCAATATCATRGTC
CTGAGCACACTATATGTGCAGTTGGMG
CGGTRAGCAGTGCTACGAGACTGAGA
CATGATARTTAACTSAAGAGAAGGTAA
GCATCATGCCTGCGTCTCGATTTRATA
GCCCTGACGTTAGTAAGCTTGATATG
GCTATCCAGTAC

7.9. Efecto del As(V) sobre el crecimiento de los hongos

Como se mencionó anteriormente, se aislaron hongos de los suelos del municipio de Concepción del Oro, Zacatecas, los cuales resultaron ser altamente resistentes a la presencia de arsénico en el medio de cultivo en estudios *in vitro*.

Por lo tanto, se evaluaron diferentes aspectos respecto al efecto que tiene el As(V) sobre el crecimiento y desarrollo de los hongos, de tal manera, que se enfrentó el micelio de 7 días de desarrollo con el arsénico en medio líquido.

7.9.1. Características morfológicas de los hongos expuestos a As(V).

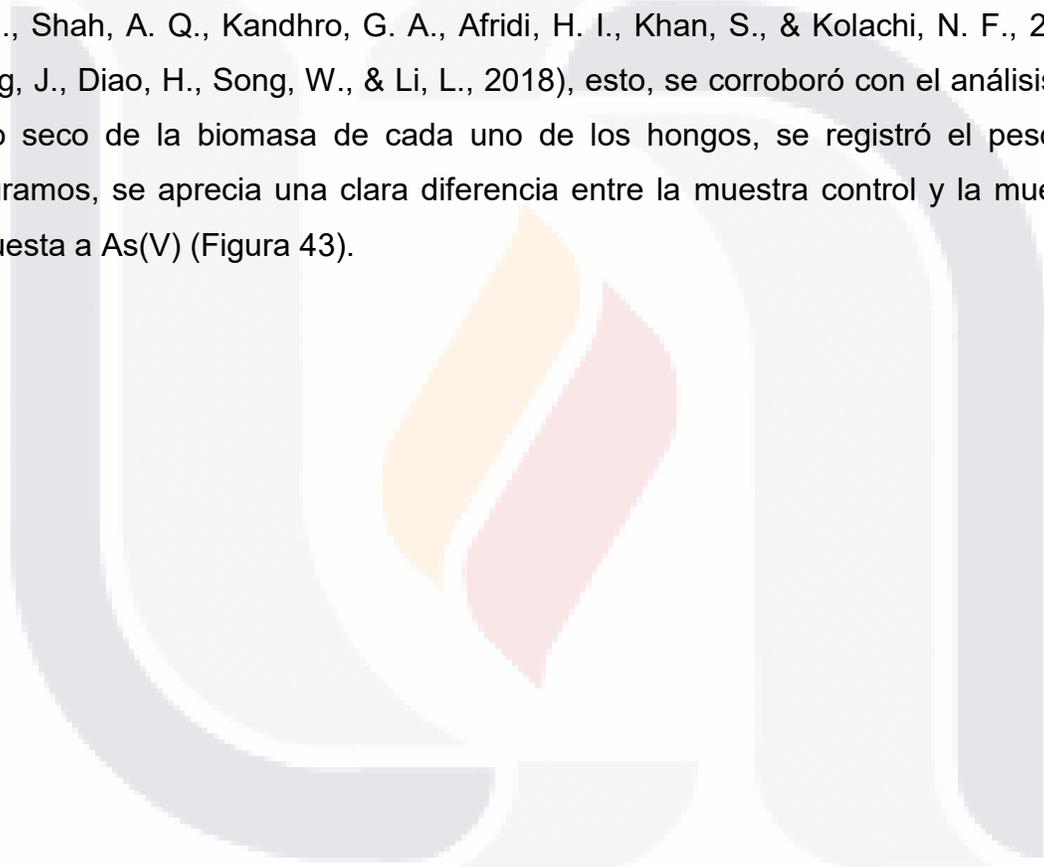
Las microfotografías obtenidas por microscopía electrónica de barrido (SEM) en ausencia y presencia de As(V), se muestran en la Figura 42, la muestra control del hongo Os4 de *Rhizopus microsporus*, presenta hifas con superficie lisa y normales, mientras que en la muestra expuesta a 7000 mg/L de As(V) se observa que la superficie fúngica es rugosa (2000x), con mayor aumento (5000x) se distinguen perforaciones sobre la pared celular de la biomasa (Figura 42A).

En la Figura 42B, muestra que el hongo Os26 de *Fusarium equiseti* control presenta hifas de superficie lisa y regular, incluso se observan protuberancias lo que corresponde al desarrollo normal del micelio; y las hifas de este hongo expuesto a As(V) presentó rugosidades y malformaciones que afectaron el desarrollo de nuevas estructuras fúngicas.

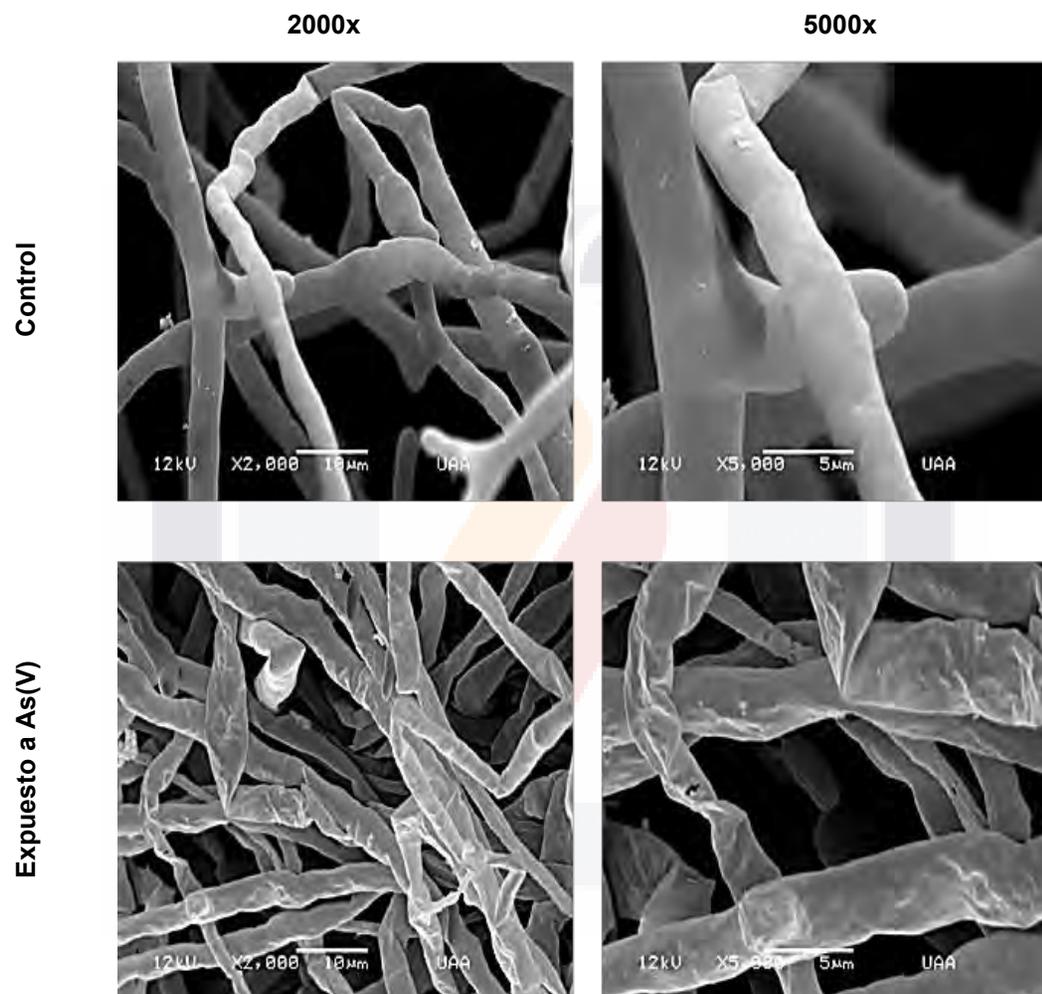
En cuanto a la muestra en ausencia de As(V) de Os46 de *Fusarium oxysporum*, se observa la pared celular un poco rugosa, pero con morfología normal; la muestra que estuvo en presencia del contaminante presentó mayor rugosidad y perforaciones en la superficie de las hifas (Figura 42C).

En el hongo Ab5 de *Mucor moelleri* (Figura 42D), se observan hifas y algunas estructuras fúngicas con bordes lisos y regulares (control), y al estar expuesto a As(V), se ve que las hifas tienen una superficie áspera y con malformaciones, mientras que la otra estructura que se observa tiene rasgaduras sobre la pared celular.

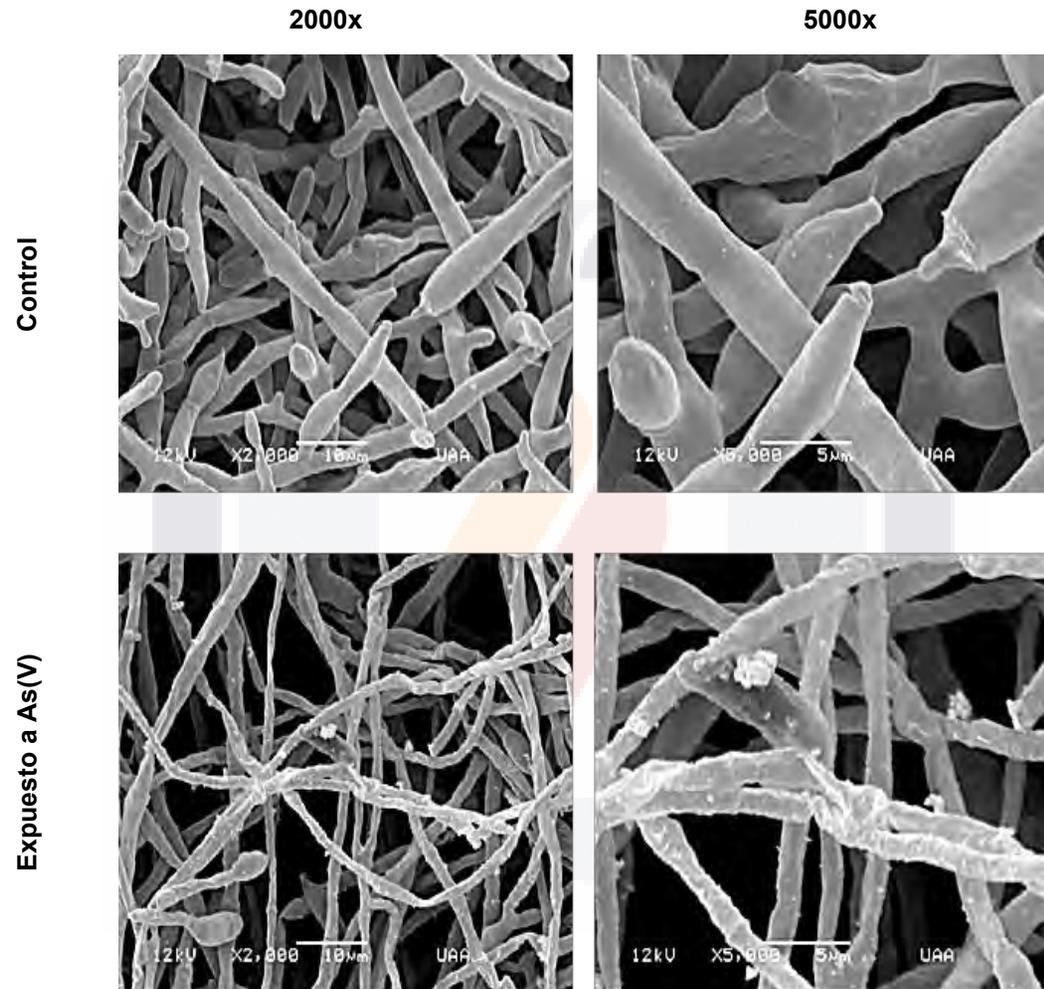
En general estas deformaciones, rasgaduras y perforaciones se deben al efecto tóxico del As(V), que a su vez, afectó la reproducción del hongo (Baig, J. A., Kazi, T. G., Shah, A. Q., Kandhro, G. A., Afridi, H. I., Khan, S., & Kolachi, N. F., 2010; Liang, J., Diao, H., Song, W., & Li, L., 2018), esto, se corroboró con el análisis del peso seco de la biomasa de cada uno de los hongos, se registró el peso en miligramos, se aprecia una clara diferencia entre la muestra control y la muestra expuesta a As(V) (Figura 43).



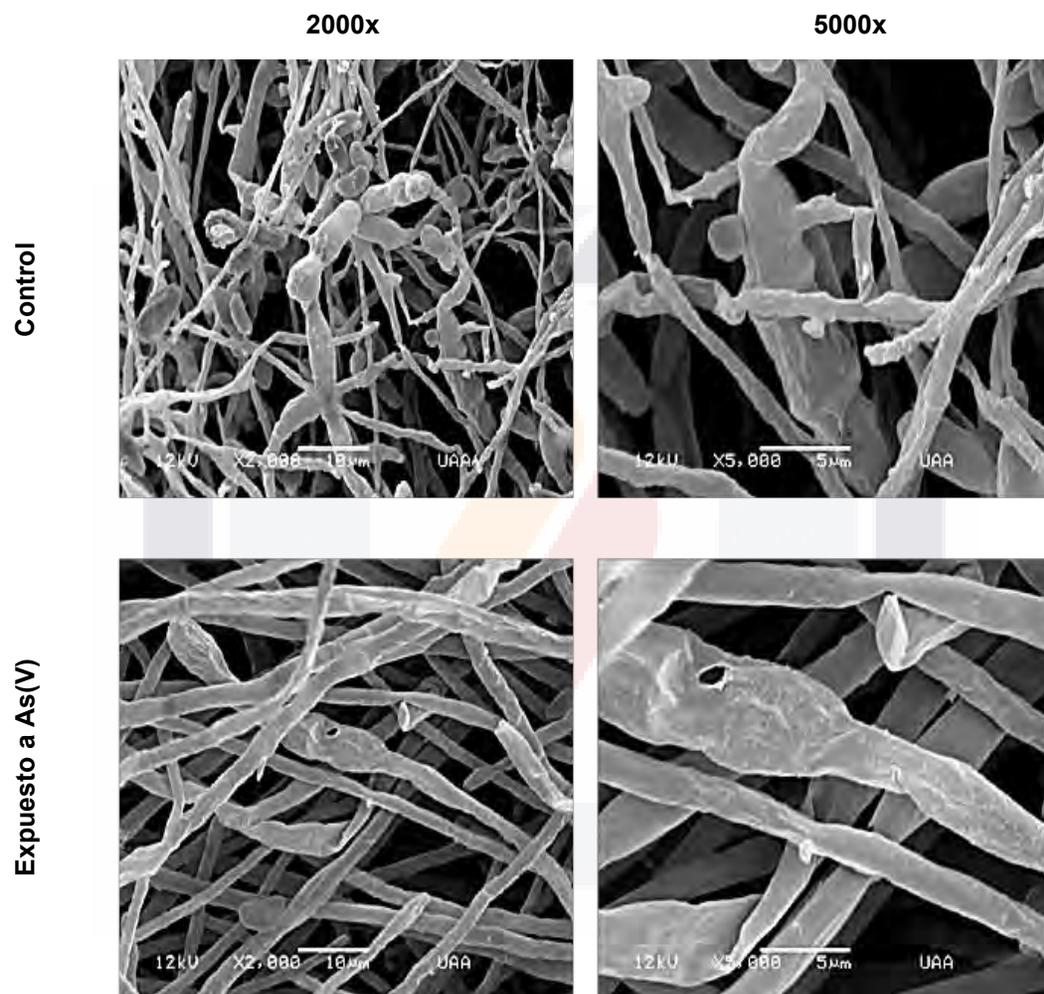
A)



B)



C)



D)

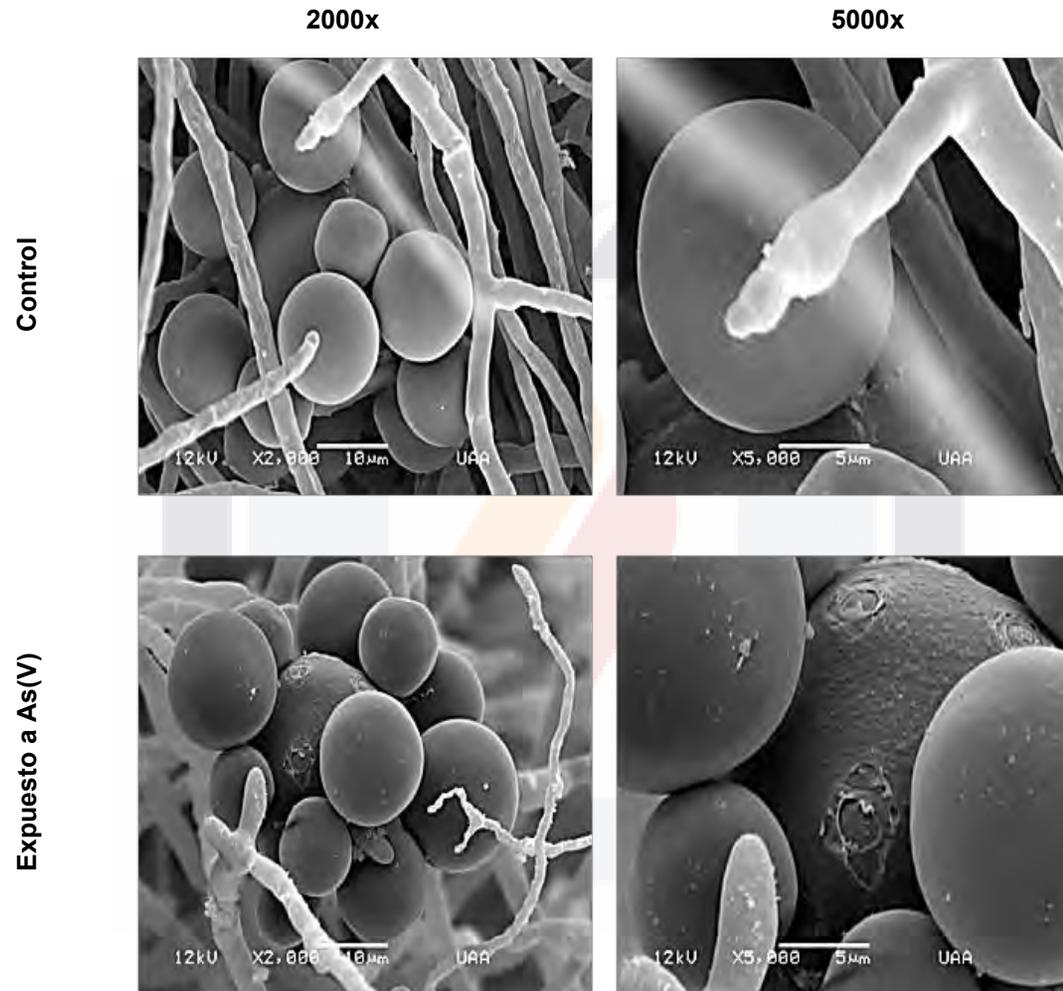


Figura 42. Microscopía Electrónica de Barrido (SEM) de los hongos con mayor resistencia a As(V).
 A) Os4 de *Rhizopus microsporus*, B) Os26 de *Fusarium equiseti*, C) Os46 de *Fusarium oxysporum* y D) Ab5 de *Mucor moelleri*. Microfotografías a diferente escala de las muestras control y muestras expuestas a 7000 mg/L de As(V).

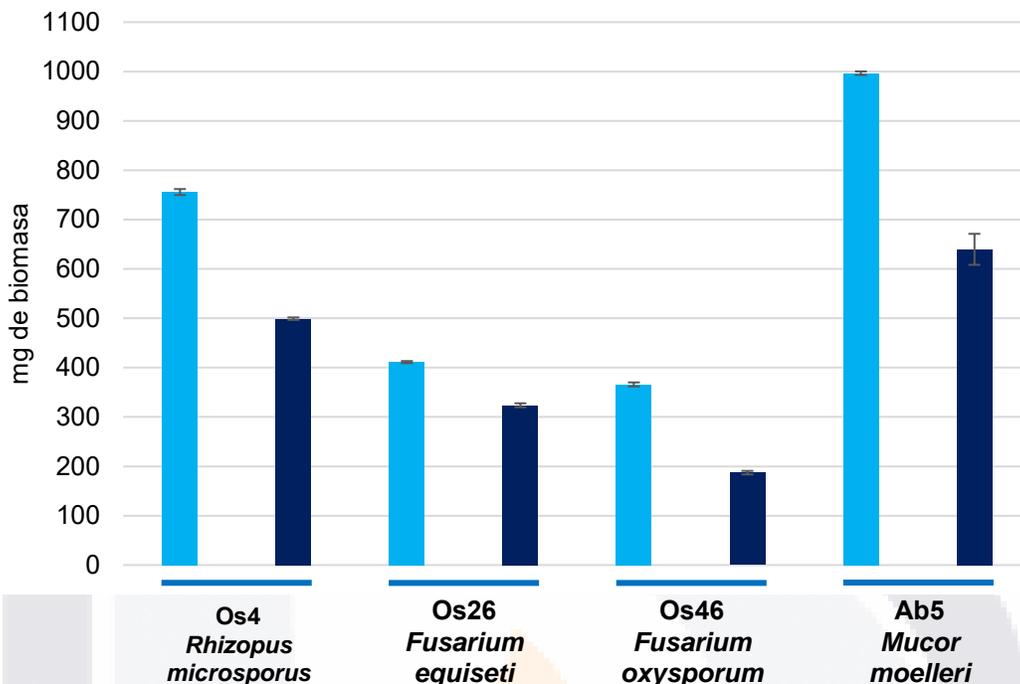
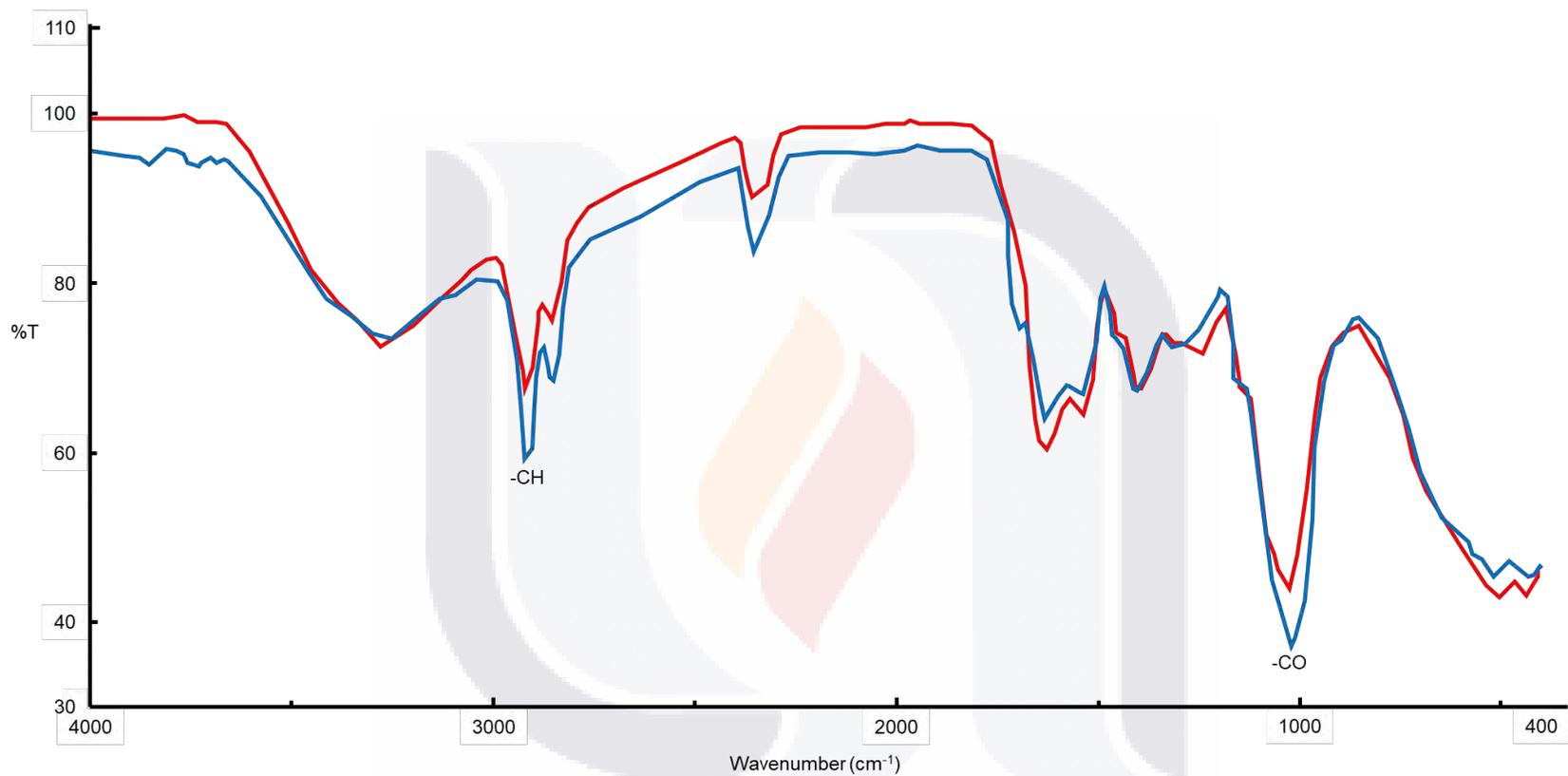


Figura 43. Peso seco en miligramos de la biomasa de los hongos.
 ■ Hongo control, ■ Hongo expuesto a la sal de As(V). n = 3, D.E.= 7.0 mg.

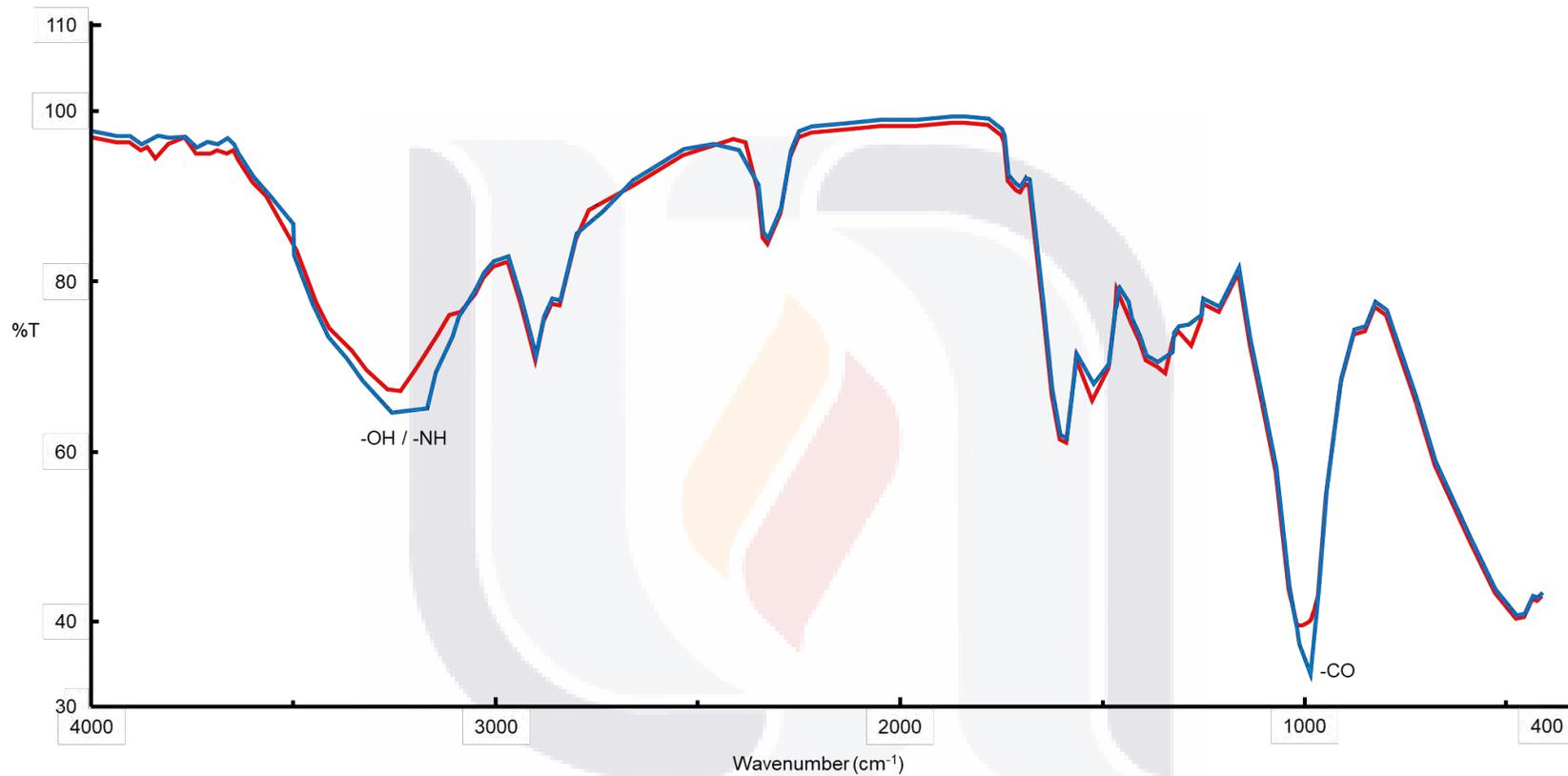
7.9.2. Espectroscopia Infrarroja (FTIR)

En la Figura 44, se muestran los espectros de FTIR de cada uno de los hongos en comparación con su respectivo control. Se muestra que el hongo Os4 de *Rhizopus microsporus*, tiene un aumento en dos picos que corresponden al área de los grupos funcionales metilo (-CH) y carbonilo (-CO); en cuanto a Os26 de *Fusarium equiseti* y Ab5 de *Mucor moelleri* hubo un aumento en la vibración de los picos en el área de hidroxilo/amino (-OH/-NH) y carbonilo (-CO); y el hongo Os46 de *Fusarium oxysporum*, mostró un ligero aumento en el pico correspondiente al metilo (-CH). Según el análisis del espectro FTIR, los grupos funcionales para la unión de As(V) en la superficie fúngica fueron -CH, -CO, -OH y -NH, lo que corresponde a otros estudios ya reportados (Grimm, A., Zanzi, R., Björnbom, E., & Cukierman, A. L., 2008; El-Sayed, M. T., 2015; Liang, J., Diao, H., Song, W., & Li, L., 2018).

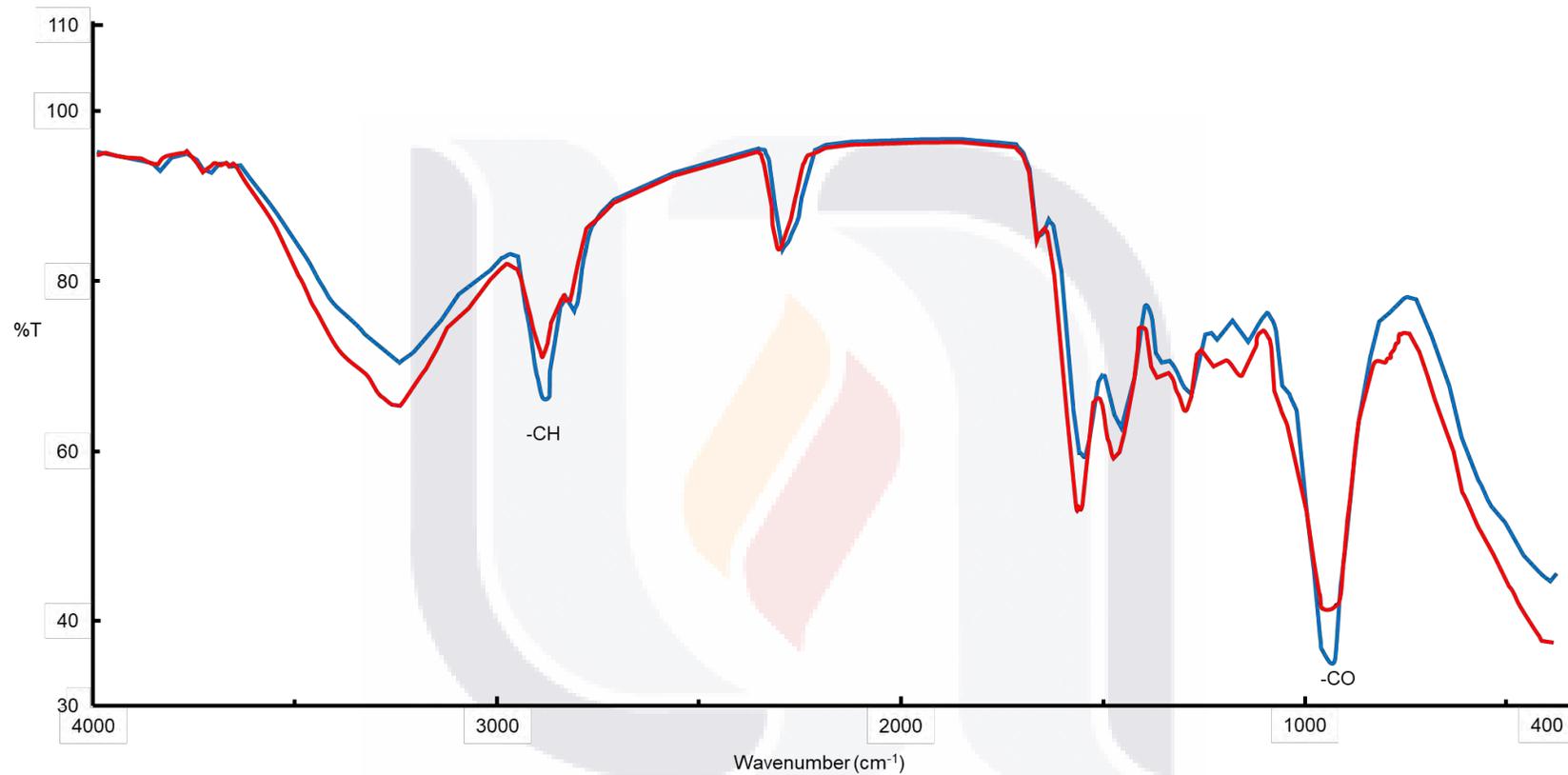
A)



B)



C)



D)

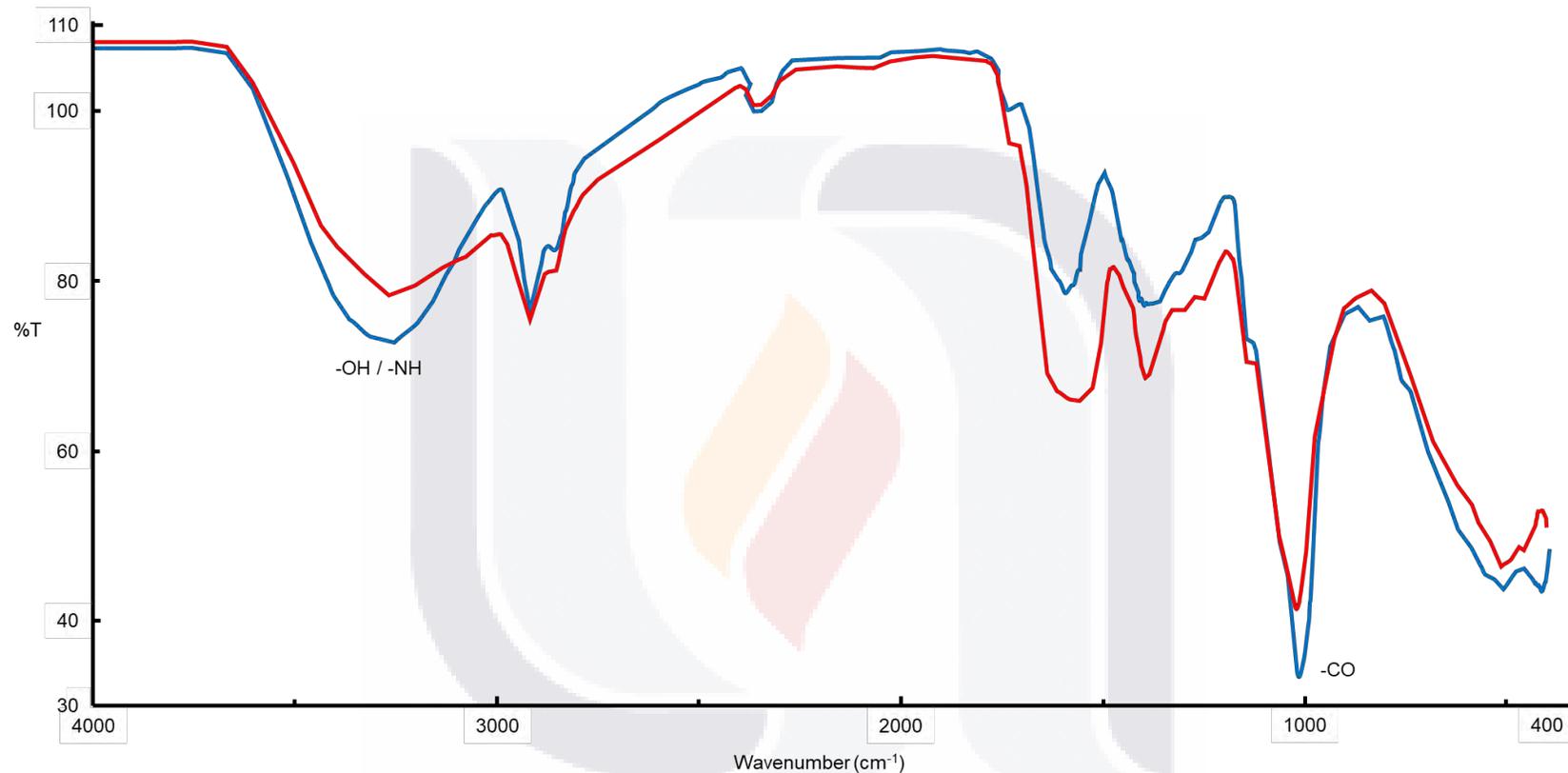


Figura 44. Espectros de FTIR de los hongos con mayor resistencia a As(V).

A) Os4 de *Rhizopus microsporus*, B) Os26 de *Fusarium equiseti*, C) Os46 de *Fusarium oxysporum* y D) Ab5 de *Mucor moelleri*. --- Control, --- Expuestas a 7000 mg/L de As(V).

7.9.3. Estudio de la interacción del hongo con As(V)

Se evaluó la influencia que tiene la interacción del hongo con el arsénico en cuanto a la remoción de dicho contaminante por los hongos, a partir de biomasa obtenida en PDB, y poniéndola en contacto con una concentración de 7,000 (± 50) mg/L de As(V). La Figura 45 muestra el comportamiento de la cinética de exposición durante 7 días, se observa que en las primeras 24 horas los hongos removieron gran cantidad de As(V) del medio de cultivo, a partir de las 40 horas y hasta el final del experimento no se muestran cambios significativos en la concentración del arsénico presente.

Particularmente, el hongo Os4 *Rhizopus microsporus* se muestra ser el más eficiente en cuanto a la remoción del contaminante, siendo que en el medio de cultivo se redujo la concentración un 86% de As(V), seguido de Os46 de *Fusarium oxysporum*, Ab5 de *Mucor moelleri* y Os26 de *Fusarium equiseti* con 77, 76 y 63 %, respectivamente.

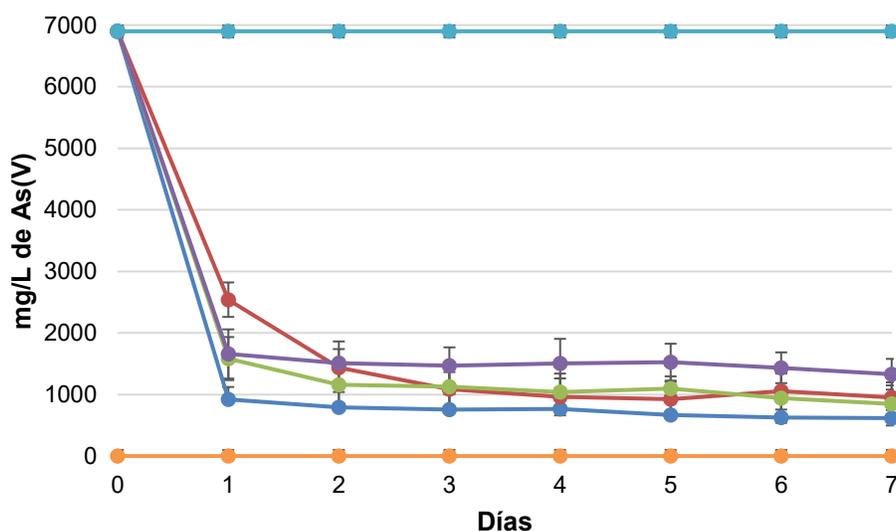


Figura 45. Cinética de interacción hongo-As(V).

● Os4 de *Rhizopus microsporus*, ● Os26 de *Fusarium equiseti*, ● Os46 de *Fusarium oxysporum*, ● Ab5 de *Mucor moelleri*, ● Control A: medio de cultivo + 7,000 (± 50) mg/L de As(V), ● Control B: medio de cultivo. n = 3, D. E. = \bar{x} 211 mg/L.

Con los resultados anteriores, se puede elucidar uno de los mecanismo que poseen los hongos, y así poder explicar la remoción de As(V) del medio líquido, este mecanismo es la biosorción, debido a que es uno de los mecanismos más comunes en hongos cuando estos están en contacto prolongado con contaminantes químicos, ya que se involucran ligandos pertenecientes a la superficie celular como son los grupos funcionales de los que se hablaron en la sección 8.9.2., esto se explica analizando la Figura 46 con los porcentajes de arsénico determinados de la biomasa, alcanzaron hasta 34% por Os4 de *Rhizopus microsporus*, seguido de Os46 de *Fusarium oxysporum*, Ab5 de *Mucor moelleri*, y Os26 de *Fusarium equiseti* con 25, 23 y 15% de arsénico en la biomasa. Estos resultados coinciden con los mostrados en la Figura 45, ya que presentan el mismo orden jerárquico respecto a la disminución de la concentración del arsénico en el medio.

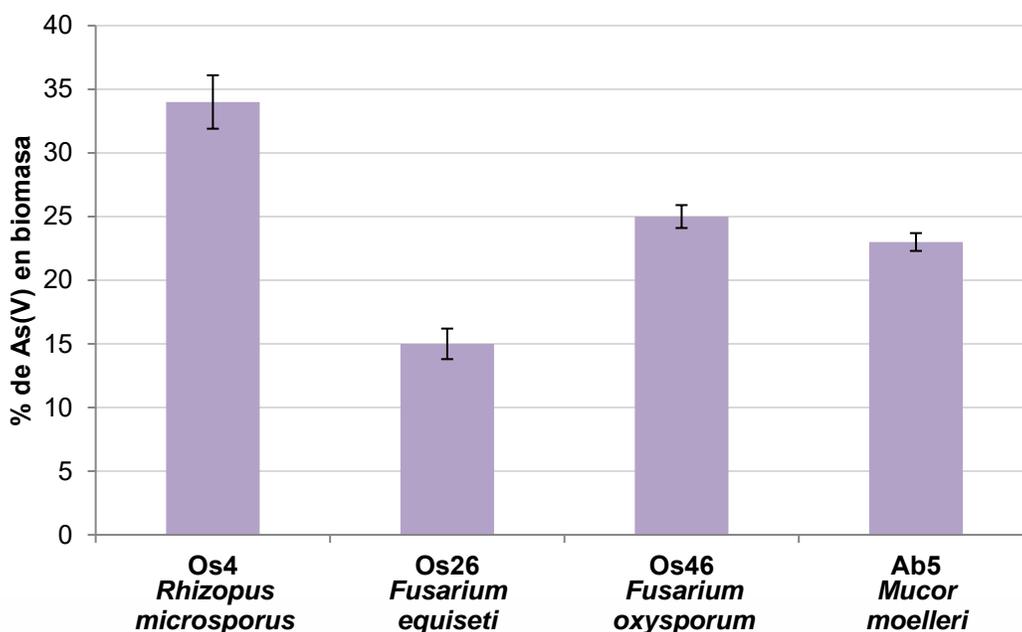


Figura 46. Porcentaje de As(V) determinado en la biomasa fúngica.
n = 3

8. DISCUSIÓN

Este estudio muestra que los suelos siniestrados por actividades mineras de Concepción del Oro, Zacatecas, contienen una alta concentración de contaminantes debido a los desechos de la industria, lo cual repercute de manera importante en el ambiente. Como se observó, los elementos determinados se encuentran en altas concentraciones en los puntos muestreados, siendo que los contaminantes que tienen repercusiones graves para la salud y el ambiente son los que se encuentran en mayor cantidad, como lo son el arsénico, cadmio, plomo y níquel.

En particular, el arsénico es un elemento metaloide tóxico que se distribuye ampliamente en el medio ambiente, algunos estudios han sugerido que la exposición a As puede aumentar el riesgo de ciertas enfermedades, esto es de suma importancia, ya que en el total de las muestras de suelo se determinaron concentraciones de arsénico muy por arriba de 22 mg/Kg que es el LMP según la NOM-147, por lo que la zona de estudio se convierte en un foco rojo en cuanto riesgos a la salud y al ambiente.

Se encontró que el plomo rebasa el LMP en el 64% de las muestras y el cadmio en el 18%, pero, que estos metales se encuentren en menos puntos de muestreo a diferencia del arsénico no lo hace menos importante ya que son considerados elementos altamente tóxicos. Otros metales que fueron determinados, y que se sabe que se consideran de alto riesgo, son el níquel y cromo, sin embargo, en ningún sitio muestreado estos metales sobrepasan el LMP, tomando en cuenta otros valores de referencia de estancias internacionales como lo es la US EPA (1977) y OME (1992) se observa que todos los puntos muestreados se consideran moderadamente contaminados con efectos medios de contaminación por níquel.

Por otro lado, también se determinó la presencia de aluminio, manganeso y fierro, no existen registros de valores de referencia de estos metales, ya que son

considerados como esenciales e incluso fungen como nutrientes para algunos microorganismos y plantas.

Las características fisicoquímicas permiten describir a los suelos como un sistema aerobio con condiciones oxidantes, bajo en humedad y en su mayoría alcalinos lo que nos indica que los metales presentes en los suelos pudieran estar inmovilizados, la movilidad de los metales no solo depende de las propiedades fisicoquímicas de los suelos, sino también de las concentraciones en las que se encuentren. Las muestras de suelo presentan un porcentaje de carbonatos de alto a muy alto, sin embargo, las características físicas de las muestras de suelo no se asemejan a suelos con altas concentraciones de carbonatos, por lo que se tiene la hipótesis de que la industria minera de Concepción del Oro utilizó soluciones carbonatadas como enmienda para neutralizar el pH de suelos ácidos.

Los estudios de movilidad de metales en los suelos, mostraron en la prueba de potencial de lixiviación que a pesar de asemejar las condiciones de agua meteórica a las que normalmente los suelos pudieran estar expuestos, y haciendo una variación en el pH de la solución extractante, no hubo movilidad debido al alto grado de estabilización que tienen los metales. El ensayo de fraccionamiento de metales con la técnica de Tessier fue congruente con los resultados de potencial de lixiviación, encontrándose en su mayoría en fracciones con poca o nula movilidad. Estos resultados sugieren que tras el paso del tiempo y conforme va incrementando el número de habitantes, los suelos han sufrido modificaciones por acciones físicas o químicas lo que ocasionó la transformación de las especies metálicas a formas más estables.

Se aislaron 57 hongos microscópicos de las muestras de suelo, el primer paso fue la selección de los hongos a criterio, y posteriormente se purificaron con técnicas ya descritas como dilución en placa, que es una metodología sencilla y eficaz para el aislamiento de microorganismos. Los aislados se identificaron, siendo el punto morfológico macro y microscópico para la identificación de género; hablar de la

identificación de la especie con esta metodología es arriesgarse a un alto porcentaje de error, debido a que muchos hongos del mismo género presentan características similares, y se pudieran confundir entre especies. Sin embargo, la identificación del género amplía el panorama para saber las condiciones de cultivo, conservación y obtención stocks de cada uno de los hongos.

Como se mencionó, las muestras de suelo contienen una importante cantidad de arsénico, y se cree que los hongos que se aislaron de estos suelos han desarrollado mecanismos de supervivencia y adaptación para resistir la presencia del contaminante, es por eso que se realizó un estudio *in vitro* para determinar la capacidad de resistencia de los hongos a la presencia de arsénico. Se utilizó una sal de $\text{Na}_2\text{HAsO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, para enfrentar a los hongos a la presencia de arsénico, y se obtuvo que cuatro de los hongos aislados presentaron mayor resistencia a la presencia de As(V), tres de ellos (Os4 de *Rhizopus microsporus*, Os26 de *Fusarium equiseti* y AB5 de *Mucor moelleri*) hasta 15,000 mg/L, y uno (Os46 de *Fusarium oxysporum*) hasta 14,000 mg/L. Curiosamente, los tres hongos con mayor resistencia presentaron un ligero estímulo en su crecimiento cuando fueron expuestos a 7000 mg/L de As(V), sin embargo no hay una explicación lógica, hipotética o reportada que explique este comportamiento.

A diferencia de otros estudios, como el de Liang, J., Diao, H., Song, W., & Li, L., (2018), reportan que el hongo de *Aspergillus oryzae* TLWK-09 alcanzó una resistencia máxima de 5,000 mg/L de As(V), los hongos de este estudio resistieron hasta tres veces más la presencia del tóxico.

Al hacer una relación del punto muestreado en cuanto a la concentración de arsénico determinado y los hongos aislados, se obtuvo que Os4 de *Rhizopus microsporus* se aisló del sitio CB3 que presenta una concentración de 9989.55 mg/Kg de arsénico; Os26 de *Fusarium equiseti* se aisló del punto CF2, Os46 de *Fusarium oxysporum* de ZM y AB5 de *Mucor moelleri* de CBR1, con una concentración de arsénico de 290.10, 11233.80 y 638.09 mg/Kg de arsénico,

respectivamente. Por lo que nos deja en claro que además de la concentración, el tiempo de exposición a la presencia de contaminantes conlleva al desarrollo de mecanismos por parte de los hongos para la adaptación de sistemas extremos.

Los cuatro hongos que resultaron poseer la capacidad de resistir altas concentraciones a As(V), fueron sometidos a la extracción de ADN para la corroboración de género que se determinó en la identificación morfológica, y asignarles la correspondiente especie con la ayuda del análisis BLASTn, usando la base de datos de NCBI. Fue así como se determinó el género y especie de los hongos: Os4 de *Rhizopus microsporus*, Os26 de *Fusarium equiseti*, Os46 de *Fusarium oxysporum* y AB5 de *Mucor moelleri*.

Además de conocer la capacidad de resistir el As(V) de los hongos, se realizaron otros experimentos que ayudaron a proponer un mecanismo que pudiera estar implicado en la resistencia a altas concentraciones del tóxico. Las microfotografías obtenidas por microscopia electrónica de barrido (SEM) demostraron que la morfología de las estructuras fúngicas cambio considerablemente después de la exposición a arsénico, presentando superficies rugosas, perforaciones y malformaciones a diferencia de la muestra control, estos cambios en la morfología coincidieron con lo reportado en la literatura. Los resultados de espectroscopia infrarroja (FTIR) indicaron que grupos funcionales de carbonilo, hidroxilo, amino y metilo existen normalmente en la superficie de los micelios, sin embargo, estos aumentan cuando fueron expuestos a As(V), esto coincide con lo publicado por otros autores, reportaron que estos grupos funcionales en la superficie del hongo fungen como sitios de unión para el As(V) (Baig, J. A., Kazi, T. G., Shah, A. Q., Kandhro, G. A., Afridi, H. I., Khan, S., & Kolachi, N. F., 2010; Grimm, A., Zanzi, R., Björnbohm, E., & Cukierman, A. L., 2008; El-Sayed, M. T., 2015).

Dado estos resultados, el mecanismo que se propone que se está llevando a cabo es el de biosorción, ya que como se mencionó, se involucran ligandos

pertenecientes a la superficie celular como son los grupos funcionales en los que se estará uniendo el As(V).

Esto último se puede corroborar con el estudio de interacción hongo – As(V), se muestra una disminución significativa de la concentración del arsénico en el medio a partir de las primeras 24 horas de interacción, a partir de las 48 horas y hasta finalizar el experimento no se observaron diferencias significativas en cuanto a la remoción, siendo que para el séptimo día se registró una disminución de la concentración de arsénico en el medio por el hongo OS4 de *Rhizopus microsporus* de 86%, seguido del hongo Os46 de *Fusarium oxysporum*, Ab5 de *Mucor moelleri* y Os26 de *Fusarium equiseti* con el 77, 76 y 63%, respectivamente.

Para reforzar la propuesta del mecanismo de biosorción, se determinó la cantidad de arsénico en la biomasa, dando como resultado que la cantidad de As(V) en el micelio coincide con el estudio de exposición, la concentración de arsénico determinada en la biomasa de Os4 de *Rhizopus microsporus* fue 2346 mg/Kg (34% de la concentración inicial), Os26 de *Fusarium equiseti* fue de 1035 mg/kg, Os46 de *Fusarium oxysporum* fue de 1725 mg/Kg, y Ab1 de *Mucor moelleri* fue de 1587 mg/Kg (15, 25 y 23% de la concentración inicial, respectivamente).

Al realizar los cálculos, se puede percatar de que hubo una “pérdida” de As(V), sin embargo, se tiene la hipótesis de que están actuando otros mecanismos de membrana o enzimáticos que estén metabolizando al arsénico, biotransformándolo en metabolitos secundarios y ayudando a su remoción.

9. CONCLUSIÓN

Los suelos del municipio de Concepción del Oro, Zacatecas representan un alto riesgo ecológico debido a las altas concentraciones de arsénico y otros metales que estos contienen, por otro lado, también representan un riesgo muy alto para la salud, ya que es un municipio que ha ido creciendo en infraestructura y las zonas muestreadas se utilizan como actividad de recreación y deportiva, por lo que la exposición a estos suelos pudiese repercutir en la salud de los habitantes.

En su mayoría, las muestras presentaron un carácter alcalino, bajo en sales, bajo en materia orgánica y altas en contenido de carbonatos, lo que es un indicativo que los elementos presentes en cada una de las muestras están inmóviles. Esto se corroboró con los estudios de movilidad, tanto el potencial de lixiviación y el fraccionamiento de metales mostraron nula movilidad pese a los cambios de pH de las soluciones extractantes y las condiciones a las que se expuso la muestra.

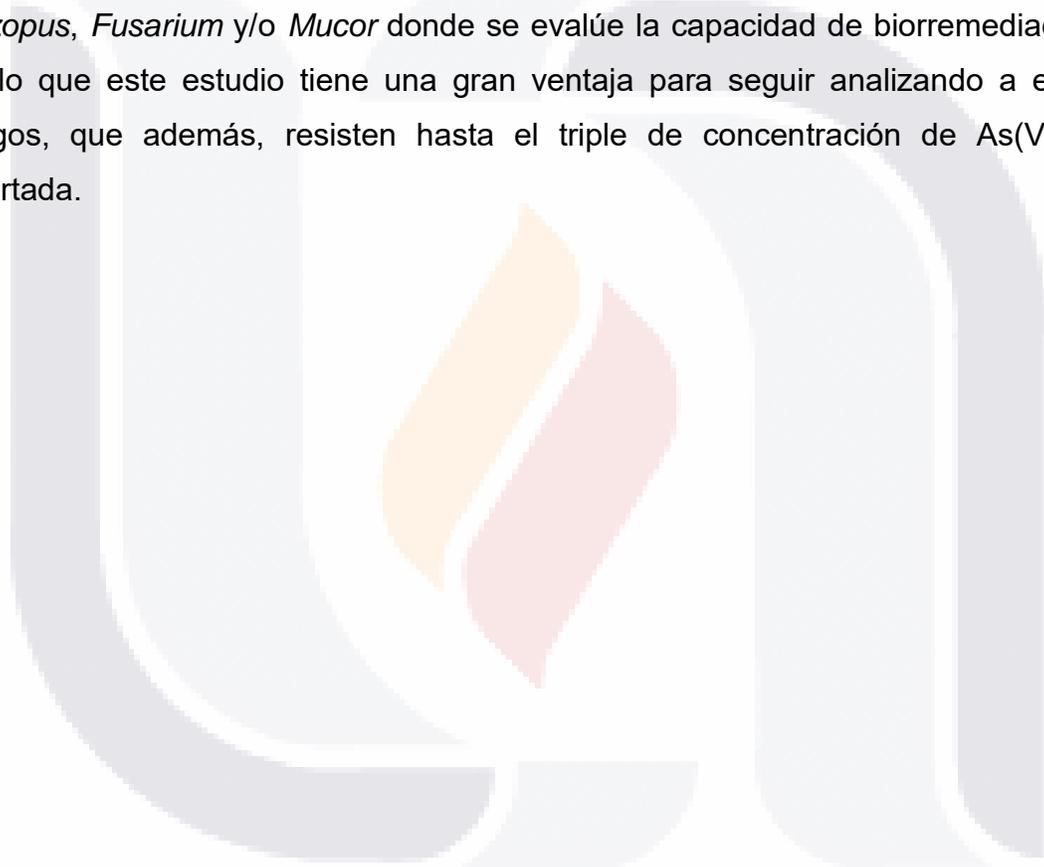
El área muestreada se prestó para realizar la búsqueda de hongos capaces de resistir condiciones extremas como altas concentraciones de arsénico, con la finalidad de encontrar hongos que posean un alto potencial para aplicar en la biorremediación.

Se aislaron 57 hongos microscópicos, de los cuales cuatro presentaron mayor resistencia a la presencia de As(V) en el medio, se sometieron a técnicas moleculares, y se identificaron como: Os4 de *Rhizopus microsporus*, Os26 de *Fusarium equiseti*, Os46 de *Fusarium oxysporum* y AB5 de *Mucor moelleri*.

Los estudios de interacción hongo – As(V), dan la seguridad de proponer que el mecanismo que se está llevando a cabo es la biosorción, ya que el micelio fúngico presenta un considerable porcentaje de arsénico, y los resultados de FTIR mostraron que en condiciones normales existen grupos funcionales en su pared celular, y al estar expuestos a As(V) estos aumentan, sirviendo como sitios de unión

para el metaloide. No se descarta la participación de otros mecanismos en la remoción del arsénico, ya que hay una disminución del tóxico respecto a la concentración inicial, y que no se localizó en medio ni en biomasa.

Actualmente, existen reportes donde evalúan la capacidad de biorremediación que tienen algunos hongos del género *Aspergillus* en presencia de arsénico, y se ha demostrado que los hongos que utilizan en esos estudios, tienen la capacidad de resistir hasta 5000 mg/L de As(V), sin embargo no hay estudios con especies de *Rhizopus*, *Fusarium* y/o *Mucor* donde se evalúe la capacidad de biorremediación, por lo que este estudio tiene una gran ventaja para seguir analizando a estos hongos, que además, resisten hasta el triple de concentración de As(V) ya reportada.



10. REFERENCIAS

- Aguilar, S. A. (1988). Métodos de análisis de suelos. *Sociedad Mexicana de la Ciencia del Suelo*, 41-52.
- Alcalá-Jáuregui, J. A., Rodríguez Ortiz, J. C., Hernández Montoya, A., Villarreal-Guerrero, F., Cabrera Rodríguez, A., Beltran Morales, F. A., & Díaz Flores, P. E. (2014). Heavy metal contamination in sediments of a riparian area in San Luis Potosi, Mexico. *Revista de la Facultad de Ciencias Agrarias. Universidad Nacional de Cuyo*, 46(2), 203-221.
- Alexopoulos, C. J., Mims, C. W., & Blackwell, M. (1996). *Introductory mycology*. New York: John Wiley and Sons.
- Aljanabi, S. M., & Martinez, I. (1997). Universal and rapid salt-extraction of high quality genomic DNA for PCR-based techniques. *Nucleic acids research*, 25(22), 4692-4693.
- Alloway, B. J. (2013). Sources of heavy metals and metalloids in soils. *Heavy metals in soils: trace metals and metalloids in soils and their bioavailability*, 11-50.
- APHA-AWWA-WPCF. (1998). *Standard Methods for the examination of water and wastewater*. Washington, DC.: American Public Health Association.
- Arenas, R. (2014). *Micología médica ilustrada*. México : Mcgraw-Hill interamericana editores.
- Ariza Baron, J. C., Castellanos Sanchez, J. S., & Ramirez Morales, C. F. (2019). *Biorremediación de residuos peligrosos generados en los laboratorios de docencia de la Universidad colegio mayor de Cundinamarca*. Bogotá: Universidad Colegio Mayor de Cundinamarca.
- ATSDR. (2007). *Agency for Toxic Substances and Disease Registry*. Obtenido de Toxicological Profile for Arsenic: <https://www.atsdr.cdc.gov/toxprofiles/tp2.pdf>
- Baig, J. A., Kazi, T. G., Shah, A. Q., Kandhro, G. A., Afridi, H. I., Khan, S., & Kolachi, N. F. (2010). Biosorption studies on powder of stem of *Acacia nilotica*: removal of arsenic from surface water. *Journal of hazardous materials*, 178(1-3), 941-948.

- Banik, S., Das, K., Islam, M., & Salimullah, M. (2014). Recent advancements and challenges in microbial bioremediation of heavy metals contamination. *JSM Biotechnol Biomed Eng*, 2(1), 1035.
- Basta, N. T., Ryan, J. A., & Chaney, R. L. . (2005). Trace element chemistry in residual-treated soil: Key concepts and metal bioavailability. *Journal of environmental quality*, 34(1), 49-63.
- Bazán Tapia, R. (2017). *Manual de procedimientos de los análisis de suelos y agua con fines de riego*. Lima, Perú: Gráfica Bracamonte.
- Borzi, G., Tanjal, C., Santucci, L., & Carol, E. (2019). Geochemical mechanisms controlling the isotopic and chemical composition of groundwater and surface water in a sector of the Pampean plain (Argentina). *Science of the Total Environment*, 683, 455-469.
- Cano-Ruera, S. (2006). *Métodos de análisis microbiológico*. Normas ISO. Obtenido de https://www.academia.edu/3626555/An%C3%A1lisis_microbiol%C3%B3gicos
- Cao, X., Chen, Y., Wang, X., & Deng, X. (2001). Effects of redox potential and pH value on the release of rare earth elements from soil. *Chemosphere*, 44(4), 655-661.
- Cárdenas, F., Díaz, M., Guajardo, C., & Oliva, M. (2011). *Lixiviación de minerales mediante pilas y bateas*. Santiago de Chile: Departamento de Ingeniería de Minas, Universidad de Chile.
- Carlin, D. J., Naujokas, M. F., Bradham, K. D., Cowden, J., Heacock, M., Henry, H. F., & Waalkes, M. P. (2016). Arsenic and environmental health: state of the science and future research opportunities. *Environmental Health Perspectives*, 124(7), 890-899.
- Casas, G. (1994). *Micología general*. Caracas: Ediciones de la Biblioteca.
- Castellanos J. Z. (2021). *Manejo y Corrección de la Acidez de los Suelos*. Obtenido de INTAGRI S.C.: <https://www.intagri.com/articulos/suelos/manejo-y-correccion-de-acidez-de-suelo>

- Chen, J. P., Wang, L. K., Wang, M. H. S., Hung, Y. T., & Shammass, N. K. (2016). *Remediation of heavy metals in the environment*. Boca Raton: CRC press.
- Cifuentes, E. L. A., & Espinosa, P. A. (2008). *Aislamiento e identificación de hongos filamentosos de muestras de suelo de los páramos de Guasca y Cruz Verde*. Bogotá, Colombia: Universidad Javeriana.
- Cuizano, N. A., & Navarro, A. E. (2008). Biosorción de metales pesados por algas marinas: posible solución a la contaminación a bajas concentraciones. *Anales de Química de la RSEQ*, (2), 120-125.
- Di Prima, S., Rodrigo-Comino, J., Novara, A., Iovino, M., Pirastru, M., Keesstra, S., & Cerdà, A. (2018). Soil physical quality of citrus orchards under tillage, herbicide, and organic managements. *Pedosphere*, 28(3), 463-477.
- Domènech, X. (1995). *Química de la hidrosfera: origen y destino de los contaminantes*. Madrid: Miraguano.
- Dorronsoro C., Garcia I., y Aguilar J. (2000). *Contaminación del Suelo, Edafología, Departamento de Edafología y Química Agrícola Universidad de Granada*. España: Unidad docente e investigadora de la Facultad de Ciencias.
- Drewry, J. J., Carrick, S., Penny, V., Houlbrooke, D. J., Laurenson, S., & Mesman, N. L. (2021). Effects of irrigation on soil physical properties in predominantly pastoral farming systems: a review. *New Zealand Journal of Agricultural Research*, 64(4), 483-507.
- El-Sayed, M. T. (2015). An investigation on tolerance and biosorption potential of *Aspergillus awamori* ZU JQ 965830.1 TO Cd (II). *Annals of microbiology*, 65, 69-83.
- FAO. (2012). *La biota del suelo y la biodiversidad. Los fundamentos del desarrollo sostenible*. Obtenido de Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación: <http://www.fao.org/3/i0112s/i0112s07.pdf>
- Fernández Linares, L. C., Avelizapa, R., Gabriela, N., Carrillo, R., Guadalupe, T., Islas, R., & Elena, M. (2006). *Manual de técnicas de análisis de suelos aplicadas a la remediación de sitios contaminados*. México: Secretaría de Medio Ambiente y Recursos Naturales, Instituto Nacional de Ecología.

- García- Gutiérrez C., & Félix-Herrán J. A. (2014). *Técnicas de caracterización de suelos y abonos orgánicos*. Culiacán, Sinaloa: : Fundación Produce Sinaloa, A.C.
- García, L., & Uruburu, F. . (2014). Colección Española de Cultivos Tipo (CECT). a conservación de cepas microbianas. *Act. SEP*, 1(30), 12-16.
- Gasparatos, D., Mavromati, G., Kotsovilis, P., & Massas, I. (2015). Fractionation of heavy metals and evaluation of the environmental risk for the alkaline soils of the Thriassio plain: a residential, agricultural, and industrial area in Greece. *Environmental Earth Sciences*, 74, 1099-1108.
- Gerritse, R. G., & Van Driel, W. (1984). The relationship between adsorption of trace metals, organic matter, and pH in temperate soils . *American Society of Agronomy, Crop Science Society of America, and Soil Science Society of America*, Vol. 13, No. 2, pp. 197-204.
- Gillispie, E. C., Sowers, T. D., Duckworth, O. W., & Polizzotto, M. L. (2015). Soil pollution due to irrigation with arsenic-contaminated groundwater: Current state of science. *Current Pollution Reports*, 1, 1-12.
- Glick, B. R. (2003). Phytoremediation: synergistic use of plants and bacteria to clean up the environment. *Biotechnology advances*, 21(5), 383-393.
- Grimm, A., Zanzi, R., Björnbo, E., & Cukierman, A. L. (2008). Comparison of different types of biomasses for copper biosorption. *Bioresource Technology*, 99(7), 2559–2565.
- Gualoto M. A. (2022). *Micorremediación. La biodiversidad al servicio del ambiente*. Editorial Acedémica Española.
- Guang-Ming, L. I. U., Jing-Song, Y. A. N. G., & Rong-Jiang, Y. A. O. (2006). Electrical conductivity in soil extracts: chemical factors and their intensity. *Pedosphere*, 16(1), 100-107.
- Hardman, J. G., Limbird, L. E., Molinoff, P. B., Ruddon, R. W. & Goodman Gilman, A. (2012). *Goodman & Gilman: Las Bases Farmacológicas de la Terapéutica*. México: McGraw-Hill Interamericana.

- Hu, H., Jin, Q., & Kavan, P. . (2014). A study of heavy metal pollution in China: Current status, pollution-control policies and countermeasures. *Sustainability*, 6(9), 5820-5838.
- Huertos, E. G., & Baena, A. R. (2008). Contaminación de suelos por metales pesados. *MACLA, revista de la Sociedad Española de Mineralogía*, 10, 48-60.
- Hurst, C. J., Crawford, R. L., Garland, J. L., & Lipson, D. A. (2007). *Manual of environmental microbiology*. American Society for Microbiology Press.
- INEGI. (2010). Obtenido de Instituto Nacional de Estadística y Geografía: https://www.inegi.org.mx/contenidos/app/mexicocifras/datos_geograficos/32/32007.pdf
- INEGI. (2016). *Conociendo Zacatecas*. Instituto Nacional de Estadística y Geografía.
- INEGI. (2017). *Estado de Zacatecas de la República Mexicana*. Obtenido de Instituto Nacional de Estadística y Geografía: <https://mr.travelbymexico.com/759-estado-de-zacatecas/>
- INTAGRI. (2021). *Propiedades Físicas del Suelo y el Crecimiento de las Plantas*. Obtenido de INTAGRI: <https://www.intagri.com/articulos/suelos/propiedades-fisicas-del-suelo-y-el-crecimiento-de-las-plantas>
- IZA. (2009). *Zinc in Fertilizers: Essential for Crops, Essential for Life*. Brussels, Belgium: International Zinc Association.
- Jong, S. C., & Birmingham, J. M. (2001). Cultivation and preservation of fungi in culture. In *Systematics and Evolution*. Springer Berlin Heidelberg, pp. 193-202.
- Juárez-Hernández, E. O. (2023). Caracterización microbiológica y evaluación de la actividad lignocelulolítica de un hongo xilófago no reportado. *Ciencia e innovación agroalimentaria de la Universidad de Guanajuato*, Vol. 4, pp. 61-81.
- Karim, N., Afroj, S., Lloyd, K., Oaten, L. C., Andreeva, D. V., Carr, C. & Novoselov, K. S. . (2020). Sustainable personal protective clothing for healthcare applications: a review. *ACS nano*, 14(10), 12313-12340.

- Knudsen, G. R., & Dandurand, L. M. C. (2014). Ecological complexity and the success of fungal biological control agents. *Advances in Agriculture*, 2014(1), 542703.
- Liang, J., Diao, H., Song, W., & Li, L. (2018). Tolerance and Bioaccumulation of arsenate by *Aspergillus oryzae* TLWK-09 isolated from arsenic-contaminated soils. *Water, Air, & Soil Pollution*, 229, 1-11.
- Liapun, V., & Motola, M. (2023). Current overview and future perspective in fungal biorecovery of metals from secondary sources. *Journal of Environmental Management*, 332, 117345.
- Lindsay, W. L., & Walthall, P. M. (2020). The solubility of aluminum in soils. *The environmental chemistry of aluminum*, pp. 333-361.
- Loeppert, R. H., Hallmark, C. T., & Koshy, M. M. (1984). Routine procedure for rapid determination of soil carbonates. *Soil Science Society of America Journal*, 48(5), 1030-1033.
- Manceau, A., Lanson, B., Schlegel, M. L., Harge, J. C., Musso, M., Eybert-Berard, L., & Lamble, G. M. (2000). Quantitative Zn speciation in smelter-contaminated soils by EXAFS spectroscopy. *American Journal of Science*, 300(4), 289-343.
- Martínez-Guijarro, R., Pacheco, M., Romero, I., & Aguado, D. (2019). Enrichment and contamination level of trace metals in the Mediterranean marine sediments of Spain. *Science of the total environment*, 693, 133566.
- Maunoury-Danger, F., Felten, V., Bojic, C., Fraysse, F., Ponce, M. C., Dedourge-Geffard, O. & Danger, M. (2018). Metal release from contaminated leaf litter and leachate toxicity for the freshwater crustacean *Gammarus fossarum*. *Environmental Science and Pollution Research*, 25(12), 11281-11294.
- Medina-Pizzali, M., Robles, P., Mendoza, M., & Torres, C. (2018). Ingesta de arsénico: el impacto en la alimentación y la salud humana. *Revista Peruana de medicina experimental y salud pública*, 35, 93-102.
- Medrano Monreal, A. Y. (2010). *Cuantificación de arsénico en plantas y suelos de la unidad deportiva de Concepción del Oro, Zacatecas*. Zacatecas: Universidad Autónoma de Zacatecas.

- Mejía, C. A. Z., Rodríguez, A. C., & Torres, A. (2013). Metales pesados asociados con las partículas atmosféricas y sedimentadas de superficies viales: Soacha (Colombia). *Revista científica*, 17(1), 113-124.
- Mendez, O. (2003). *Caracterización y Modelamiento Hidrogeoquímico de la Oxidación de Sulfuros durante la alteración simulada de Jales Mineros procedentes de una mineralización tipo Skarn Pb-Zn-Ag*. San Luis Potosí: CIEP-Facultad de Ingeniería, UASLP.
- Mueller, G. M. . (2011). *Biodiversity of fungi: inventory and monitoring methods*. Elsevier.
- Nava Escudero, C. (2022). Derecho ambiental y derecho animal. Semejanzas y diferencias. *Boletín mexicano de derecho comparado*, 55(165), 199-230.
- Ng, J. C. (2005). Environmental contamination of arsenic and its toxicological impact on humans. *Environmental Chemistry*, 2(3), 146-160.
- NOM-021. (2000). Norma Oficial Mexicana NOM-021-RECNAT-2000. *Que establece las especificaciones de fertilidad, salinidad y clasificación de suelos. Estudios, muestreo y análisis*. Diario Oficial de la Federación.
- NOM-147. (2004). Norma Oficial Mexicana. 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*. México.
- Núñez, W. E., Sotomayor, D. A., Ballardo, C. V., & Herrera, E. (2023). 2023. *Potencial de la biomasa fúngica: producción y mecanismos de biorremediación de metales pesados del compost de residuos sólidos orgánicos municipales.*, 14(1), 79-91.
- OME. (1992). *Sediments Quality of Ontario Ministry of the environment and energy for nutrients and metals*.
- OMS. (1980). Límites de exposición profesional a los metales pesados que se recomiendan por razones de salud: informe de un grupo de estudios de la OMS. En *En Límites de exposición profesional a los metales pesados que se*

recomiendan por razones de salud: informe de un grupo de estudios de la OMS.

- Ordóñez Fernandez, R., Giráldez Cervera, J. V., Vanderlinden, K., Carbonell Bojollo, R., & González Fernández, P. (2007). Temporal and spatial monitoring of the pH and heavy metals in a soil polluted by mine spill. Post cleaning effects. . *Water, air, and soil pollution*, 178, 229-243.
- Ordóñez, R., Kheraiwish, D., Polo, M. J., Giráldez, J. V., & González, P. (2005). Influencia del encalado sobre la movilidad de metales en un suelo contaminado en el valle del río Guadiamar (Sevilla). *Estudios de la Zona no Saturada del Suelo*, 7, 29-32.
- Pacasa-Quisbert, F. (2017). Micología en Bolivia: un tema latente. *Journal of the Selva Andina Research Society*, 8(1), 1-1.
- Paco Pérez, V., Gonzales Torrico, M., Barrientos, E., & Carevic, F. S. (2022). Influencia bacteriana y fúngica en la mineralización de estiércol bovino: evidencia sobre la fertilidad del suelo en el cultivo de quinua (*Chenopodium quinoa* Willd.). *Revista de Investigaciones Altoandinas*, 24(1), 9-16.
- Pacyna, J. M., & Pacyna, E. G. (2001). An assessment of global and regional emissions of trace metals to the atmosphere from anthropogenic sources worldwide. *Environmental reviews*, 9(4), 269-298.
- Pansu, M. (2006). *Handbook of soil analysis*. France: Springer.
- Perales Aguilar, L., Santos Díaz, M. D. S., Gómez Aguirre, Y. A., Ramos Gómez, M. S., & Pérez Molphe Balch, E. . (2020). Análisis in vitro de la acumulación de metales pesados en plantas de la familia Asparagaceae tolerantes a la baja disponibilidad de agua. *Nova scientia*, 12(24), 0-0.
- Pierzynski, G. M., Vance, G. F., & Sims, J. T. . (2005). *Soils and environmental quality*. USA: CRC press.
- Pradhan, S., Kumar, S., Kumar, Y., & Sharma, H. C. (2019). Assessment of groundwater utilization status and prediction of water table depth using different heuristic models in an Indian interbasin. *Soft Computing*, 23, 10261-10285.

- Rabin, O., Hegedus, L., Bourre, J. M., & Smith, Q. R. . (1993). Rapid brain uptake of manganese (II) across the blood-brain barrier. *Journal of neurochemistry*, 61(2), 509-517.
- Rahman, Z., & Singh, V. P. . (2020). Bioremediation of toxic heavy metals (THMs) contaminated sites: concepts, applications and challenges. *Environmental Science and Pollution Research*, 27(22), 27563-27581.
- Ramos-Gómez Magdalena, Avelar-González Francisco, Medel-Reyes Alejandro, Yamamoto Laura, Godinez Luis, Ramírez Marcela, Guerra Ricardo, Rodríguez Francisco. (2012). Movilidad de Metales en Jales Procedentes del Distrito Minero de Guanajuato, México. *Revista internacional de contaminación ambiental*, 28(1), 49-59.
- Reynoso, M. M., Magnoli, C. E., Barros, G. G., & Demo, M. S. (2015). *Manual de microbiología general*. Argentina: UniRío editora.
- Rodriguez-Heredia, D. (2017). Occupational poisoning due to heavy metals. *Medisan*, 21(12), 3372-3385.
- Rojas-Jimenez, K., Fonvielle, J. A., Ma, H., & Grossart, H. P. (2017). Transformation of humic substances by the freshwater Ascomycete *Cladosporium* sp. *Limnology and Oceanography*, 62(5), 1955-1962.
- Romero, D. D., Rivera, H. V., Reyes, B. R., Reyes, J. A., & Campos, A. M. (2013). Aislamiento y purificación del hongo ectomicorrízico *Helvella lacunosa* en diferentes medios de cultivo. *Tropical and subtropical agroecosystems*, 16(1), 51-59.
- Romo-Rodríguez, P., Acevedo-Aguilar, F. J., Lopez-Torres, A., Wrobel, K., Wrobel, K., & Gutiérrez-Corona, J. F. (2015). Cr (VI) reduction by gluconolactone and hydrogen peroxide, the reaction products of fungal glucose oxidase: Cooperative interaction with organic acids in the biotransformation of Cr (VI). *Chemosphere*, 134, 563-570.
- Rosas Rodríguez, H. (2001). *Estudio de la contaminación por metales pesados en la cuenca del Llobregat*. Universitat Politècnica de Catalunya.
- Ruiz, A. (2010). *MoleQla: Revista de Química de la Universidad Pablo de Olavide*.
Obtenido de Los metales pesados:

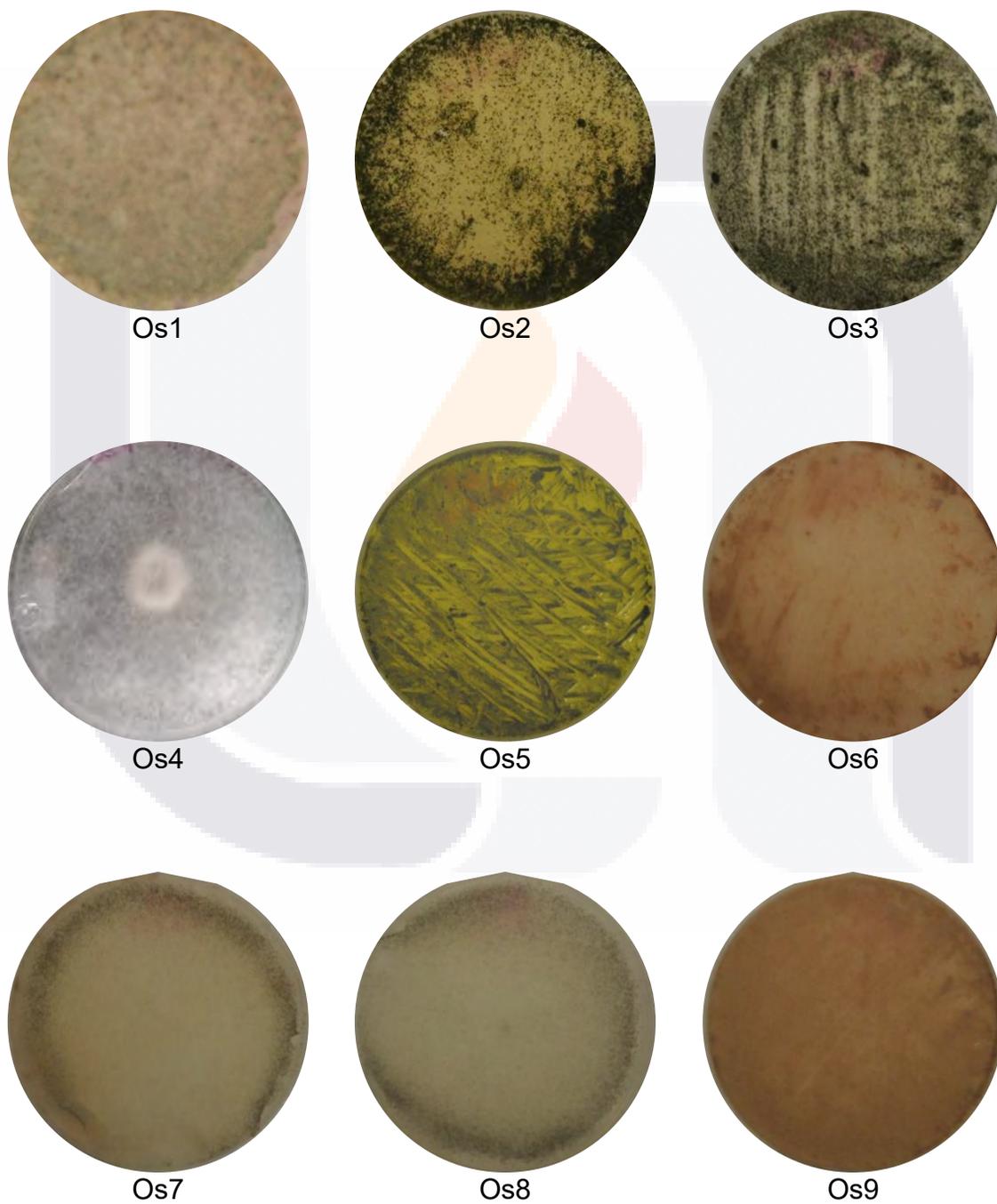
https://www.upo.es/moleqla/export/sites/moleqla/documentos/Numero_Cero.pdf

- Sahuquillo, A., Rigol, A., & Rauret, G. (2003). Overview of the use of leaching/extraction tests for risk assessment of trace metals in contaminated soils and sediments. *TrAC Trends in Analytical Chemistry*, 22(3), 152-159.
- Salomons, W., Förstner, U., & Mader, P. . (2012). *Heavy metals: problems and solutions*. Springer Science & Business Media.
- Sauvé, S., Hendershot, W., & Allen, H. E. (2000). Solid-solution partitioning of metals in contaminated soils: dependence on pH, total metal burden, and organic matter. *Environmental science & technology*, 34(7), 1125-1131.
- Sharma, B., Sarkar, A., Singh, P., & Singh, R. P. (2017). Agricultural utilization of biosolids: A review on potential effects on soil and plant grown. *Waste Management*, 64, 117-132.
- Smith, D., & Onions, A. H. (1994). *The preservation and maintenance of living fungi*. UK: CAB INTERNATIONAL.
- Souri, Z., Karimi, N., & Sandalio, L. M. (2017). Arsenic Hyperaccumulation Strategies: An Overview. *Frontiers in cell and developmental biology*, 5, 67.
- Sposito G. (1989). *The thermodynamics of soil solution*. New York: Press.
- Stamets, P. (2005). *Mycelium running: how mushrooms can help save the world*. Ten speed press.
- Świetlik, R., & Trojanowska, M. (2022). Chemical fractionation in environmental studies of potentially toxic particulate-bound elements in urban air: A critical review. *Toxics*, 10(3), 124.
- Taboada, M. A., & Lavado, R. S. (2009). *Alteraciones de la fertilidad de los suelos. El halomorfismo, la acidez, el hidromorfismo y las inundaciones*. Buenos Aires: FAUBA.
- Tessier, A. P. G. C., Campbell, P. G., & Bisson, M. J. A. C. (1979). Sequential extraction procedure for the speciation of particulate trace metals. *Analytical chemistry*, 51(7), 844-851.

- Tsai, S. L., Singh, S., & Chen, W. (2009). Arsenic metabolism by microbes in nature and the impact on arsenic remediation. *Current Opinion in Biotechnology*, 20(6), 659-667.
- Ulloa, M., & Hnlin, R. T. (1978). *Atlas de micología básica*. México.
- US EPA. (1977). *U.S. Environmental Protection Agency. Guidelines for pollution Classification of Great Lakes Harbor Sediments*.
- US EPA. (1996). *U.S. Environmental Protection Agency*. Obtenido de Method 6010B: Inductively coupled plasma-atomic emission spectrometry. In: Test methods for evaluating solid wastes: Physical/chemical methods, SW-846.: <http://www.epa.gov/epaoswer/hazwaste/test/main.htm>
- Vázquez-Arias, A., Martín-Peinado, F. J., & Parviainen, A. (2023). Effect of parent material and atmospheric deposition on the potential pollution of urban soils close to mining areas. *Journal of Geochemical Exploration*, 244, 107131.
- Voegelin, A., Barmettler, K., & Kretzschmar, R. (2003). Heavy metal release from contaminated soils: comparison of column leaching and batch extraction results. *Journal of Environmental Quality*, 32(3), 865-875.
- Vullo L. D. (2003). Microorganismos y metales pesados: una interacción en beneficio del medio ambiente. *Revista Química Viva*, Vol. 2, ISSN 1666-7948.
- Wang, J., & Wang, S. (2019). Preparation, modification and environmental application of biochar: A review. *Journal of Cleaner Production*, 227, 1002-1022.
- Yang, T., Liu, Y., Wang, L., Jiang, J., Huang, Z., Pang, S. Y. & Ma, J. (2018). Highly effective oxidation of roxarsone by ferrate and simultaneous arsenic removal with in situ formed ferric nanoparticles. *Water research*, 147, 321-330.
- Zango Usman, U., Mukesh, Y., Vandana, S., Sharma, J. K., Sanjay, P., Sidhartha, D., & Sharma Anil, K. . (2020). Microbial bioremediation of heavy metals: Emerging trends and recent advances. *Research Journal of Biotechnology* , 15(1).
- Zekarias, M. T., & Rao, G. N. (2012). Speciation Studies of Some Toxic Metal Complexes of Glycylglycine in Propylene Glycol–Water Mixtures. *South African Journal of Chemistry*, 65, 258-264.

11. ANEXOS

Anexo A. Hongos aislados de las muestras de suelo del municipio de Concepción del Oro, Zacatecas.





Os10



Os11



Os12



Os13



Os14



Os15



Os16



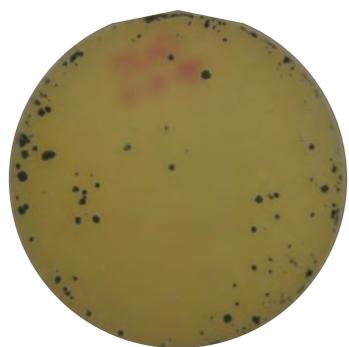
Os17



Os18



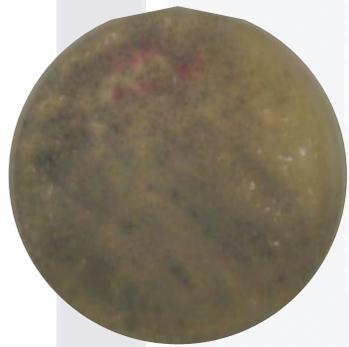
Os19



Os20



Os21



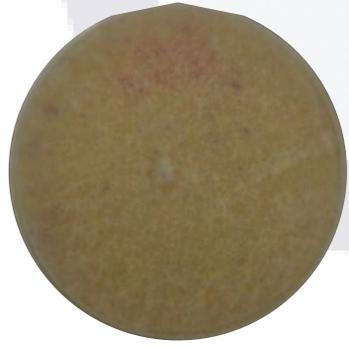
Os22



Os23



Os24



Os25



Os26



Os27



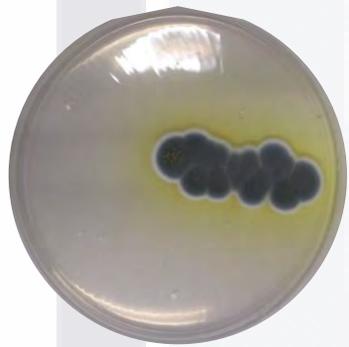
Os28



Os29



Os30



Os31



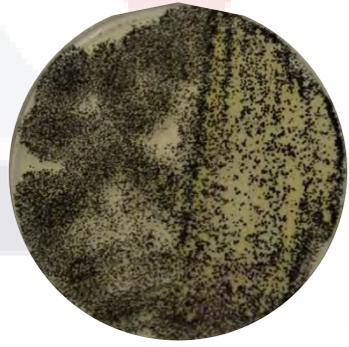
Os32



Os33



Os34



Os35



Os36



Os37



Os38



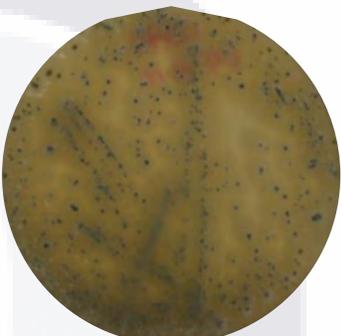
Os39



Os40



Os41



Os42



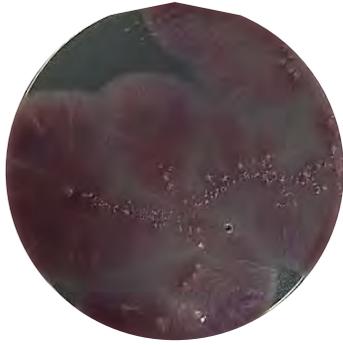
Os43



Os44



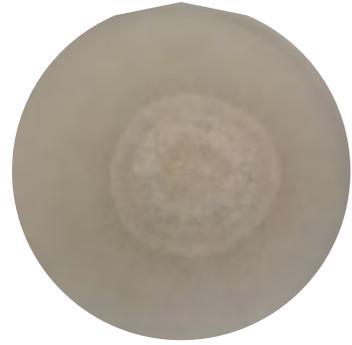
Os45



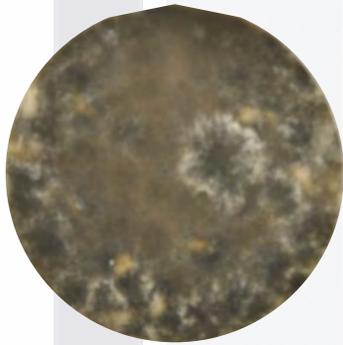
Os46



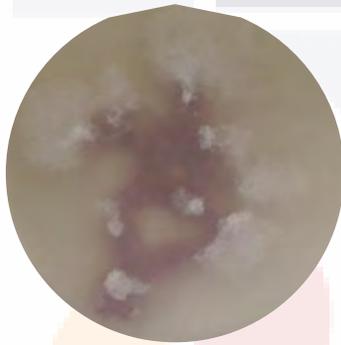
Ab1



Ab2



Ab3



Ab4



Ab5



Ab6

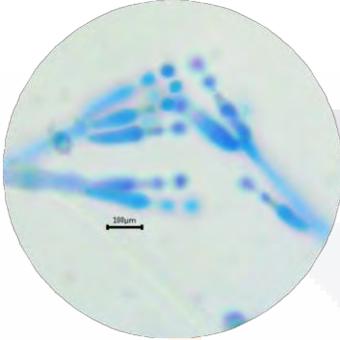
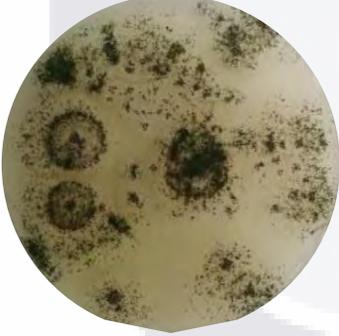


Ab7



Ab8

Anexo B. Descripción e identificación morfológica de los hongos aislados de las muestras de suelo de Concepción del Oro, Zacatecas.

A) Macroscópica	Os1 <i>Penicillium sp</i> B) Microscópica (100x)	<p style="text-align: center;">Descripción</p> <p>A. Colonia verde, con bordes ondulados color blanco, forma irregular, poca elevación y textura polvorienta; viraje de medio de cultivo a color ámbar.</p> <p>B. Presenta hifas sin septos y esporas circulares procedentes de conidióforos ramificados con fiálides alargadas, sobre las cuales, se desarrollan cadenas de esporas (100x).</p>
		
A) Macroscópica	Os2 <i>Aspergillus sp.</i> B) Microscópica (100x)	<p style="text-align: center;">Descripción</p> <p>A. Colonias circulares de bordes definidos, se presentan islas de conidias color café oscuro y con textura polvorienta.</p> <p>B. Hifas aseptadas, hialinas con terminaciones en conidióforos circulares, dentro de estas estructuras se aprecia la presencia de conidias.</p>
		
A) Macroscópica	Os3 <i>Mucor sp.</i> B) Microscópica (100x)	<p style="text-align: center;">Descripción</p> <p>A. Micelio tupido, color blanco, esporas color café en centro y periferia, crecimiento invasivo y textura filamentosa y algodonosa.</p> <p>B. Presenta hifas aseptadas, esporangióforo delgado y definido, esporangio circular con esporas en su interior.</p>
		

Os4 *Rhizopus sp.*

A) Macroscópica



B) Microscópica (100x)



Descripción

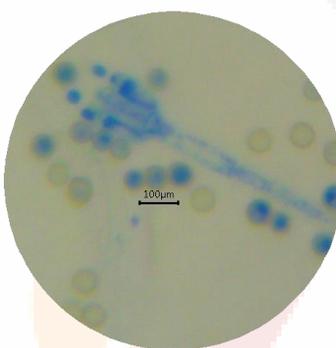
- A. Micelio tupido, color blanco, centro grisáceo y de textura filamentososa y algodonosa.
- B. Hifas aseptadas, esporangio circular de bordes regulares, y esporangiosporas en todo el campo.

Os5 *Penicillium sp.*

A) Macroscópica



B) Microscópica (100x)



Descripción

- A. Colonias verde olivo con bordes color blanco, forma ovalada, textura polvorienta con elevación convexa al centro de la colonia; y viraje de medio a color amarillo.
- B. Presenta hifas septadas y esporas circulares, métula ramificada en varias fálides gruesas y cortas donde brotan los conidios.

Os6 *Paecilomyces sp.*

A) Macroscópica



B) Microscópica (100x)



Descripción

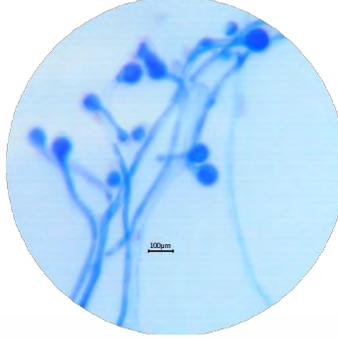
- A. Colonia rosácea y elevación poco pronunciada, crecimiento circular, bordes irregulares color blanco, y textura aterciopelada.
- B. Hifas septadas, esporas elipsoidales originadas en conidióforos ramificados con desarrollo de cadenas de esporas.

Os7 *Rhizopus sp.*

A) Macroscópica



B) Microscópica (100x)



Descripción

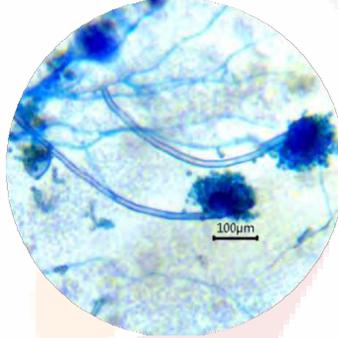
- A. Micelio denso, de color blanquecino, con esporas color oscuro, textura filamentosa y crecimiento invasivo.
- B. Hifas septadas, esporangio circular de bordes regulares, y esporangiosporas.

Os8 *Aspergillus sp.*

A) Macroscópica



B) Microscópica (100x)



Descripción

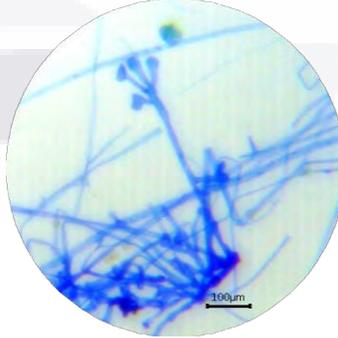
- A. Micelio denso con crecimiento invasivo y textura filamentosa; desarrollo de esporas en el centro y periferia.
- B. Hifas aseptadas hialinas, sobre la vesícula se observa desarrollo radial de fiáldes con abundantes cadenas de conidias.

Os9 *Cunninghamella sp.*

A) Macroscópica



B) Microscópica (100x)



Descripción

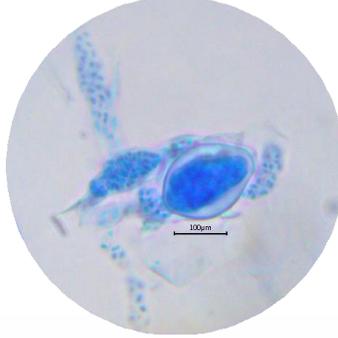
- A. Micelio abundante y denso color grisáceo, crecimiento invasivo, textura algodonosa, y conidias en la periferia.
- B. Hifas septadas con esporangióforos ramificados, esporangios irregulares y globosos.

Os10 *Phytophthora sp.*

A) Macroscópica



B) Microscópica (100x)



Descripción

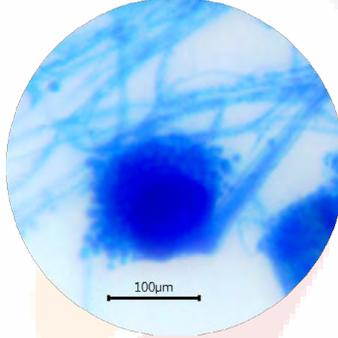
- A. Micelio color grisáceo abundante e invasivo, con esporas de color gris y textura algodonosa
- B. Hifas septadas, abundantes esporangios de diversos tamaños en forma elipsoide, y esporangiosporas alargadas.

Os11 *Aspergillus sp.*

A) Macroscópica



B) Microscópica (100x)



Descripción

- A. Colonia color grisácea con forma irregular y poca elevación, crecimiento invasivo y textura algodonosa.
- B. Hifas aseptadas, conidióforos con abundantes fiáldes y cadenas largas de conidias.

Os12 *Alternaria sp.*

A) Macroscópica



B) Microscópica (100x)



Descripción

- A. Colonia gris oscuro, bordes blancos, textura aterciopelada, crecimiento invasivo y pigmentación oscura en el medio.
- B. Hifas septadas, conidióforos hialinos y conidias alargadas en forma de bolillo

Os13 *Paecilomyces sp.*

A) Macroscópica



B) Microscópica (100x)



Descripción

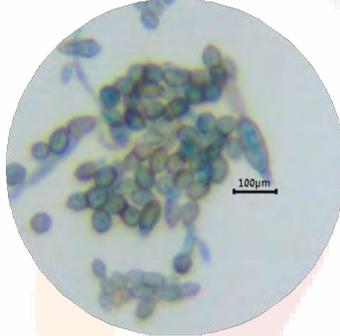
- A. Colonia de forma irregular, color rosáceo, bordes redondos color beige, con poca elevación y textura aterciopelada.
- B. Hifas septadas, esporas elipsoidales que se desarrollan en cadena, presenta conidióforos ramificados en abundantes filídes.

Os14 *Alternaria sp.*

A) Macroscópica



B) Microscópica (100x)



Descripción

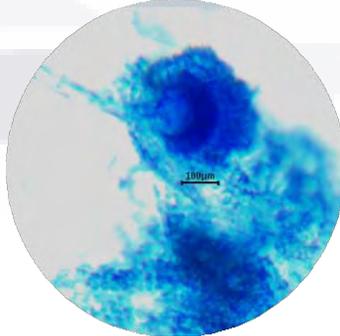
- A. Colonia de forma irregular, color verde, con poca elevación textura dura y polvorienta.
- B. Hifas septadas, esporas elipsoidales de diferentes tamaños.

Os15 *Aspergillus sp.*

A) Macroscópica



B) Microscópica (100x)



Descripción

- A. Colonia blanca, textura algodonosa, se observan halos de crecimiento y elevación pulvinada.
- B. Hifas aseptadas, con desarrollo de conidióforos bastante ramificados con filídes y largas cadenas de conidios.

Os16 *Aspergillus sp.*

A) Macroscópica



B) Microscópica (100x)



Descripción

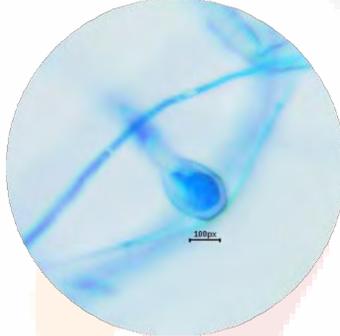
- A. Colonia blanca, textura algodonosa y bordes filamentosos con presencia de conidios en la periferia.
- B. Hifas aseptadas, conidióforo con presencia de fiáldes hialinas, y cadenas cortas de conidios.

Os17 *Scedosporium sp.*

A) Macroscópica



B) Microscópica (100x)



Descripción

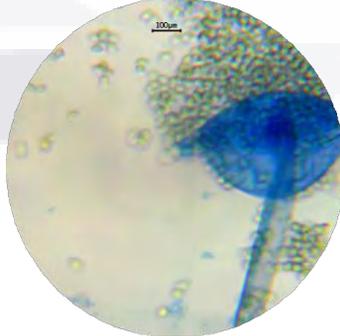
- A. Micelio escaso y algodonoso, color gris de crecimiento invasivo, presencia de conidios en la periferia.
- B. Hifas septadas, con presencia de esporangio y en su interior se observan esporas.

Os18 *Mucor sp.*

A) Macroscópica



B) Microscópica (100x)



Descripción

- A. Micelio abundante color blanco, crecimiento invasivo; esporas en periferia.
- B. Hifas aseptadas, esporangióforo hialino, esporangio redondo y abundantes esporas.

Os19 Paecilomyces sp.

A) Macroscópica



B) Microscópica (100x)

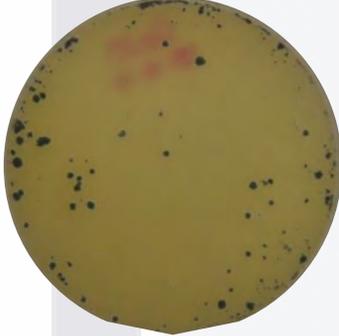


Descripción

- A. Micelio rosado, bordes blancos, consistencia polvorienta, y se observan halos de crecimiento sobre la colonia.
- B. Hifas septadas, conidióforo delgado, presenta poca fiálides y escasos conidios.

Os20 Penicillium sp.

A) Macroscópica



B) Microscópica (100x)



Descripción

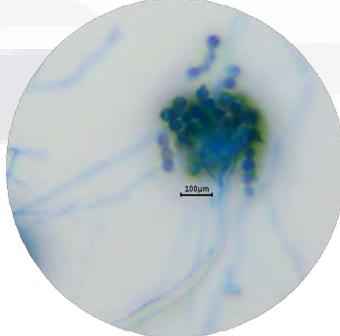
- A. Colonias dispersas de color verde y borde blanco, textura polvorienta y elevación convexa.
- B. Hifas septadas, conidióforos poco desarrollados y cortos, se observan varios racimos de fiálides con abundantes conidios.

Os21 Penicillium sp.

A) Macroscópica



B) Microscópica (100x)



Descripción

- A. Colonia blanca, aspecto algodonoso, elevación convexa y micelio aéreo.
- B. Hifas septadas, conidióforos hialinos, se observa la métula bien definida rodeada de cadenas de conidios.

Os22 *Acremonium sp.*

A) Macroscópica



B) Microscópica (100x)



Descripción

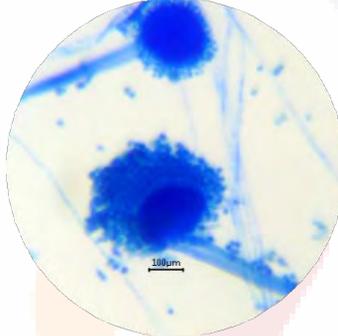
- A. Micelio blanco grisáceo, de textura algodonosa y bordes difuminados, y crecimiento radial e invasivo.
- B. Hifas septadas, conidióforos cortos y gruesos, conidias de forma ovalada.

Os23 *Aspergillus sp.*

A) Macroscópica



B) Microscópica (100x)



Descripción

- A. Micelio blanco, crecimiento invasivo, textura algodonosa, y pigmentación del micelio en la parte central.
- B. Hifas aseptadas, conidióforos gruesos, vesícula definida rodeada de fiáldes con abundantes cadenas de conidios.

Os24 *Fusarium sp.*

A) Macroscópica



B) Microscópica (100x)



Descripción

- A. Micelio blanco rosáceo, crecimiento invasivo, y textura filamentosa.
- B. Hifas septadas, conidióforos gruesos, se observan conidias ovaladas y alargadas.

Os25 *Cladosporium* sp.

A) Macroscópica



B) Microscópica (100x)



Descripción

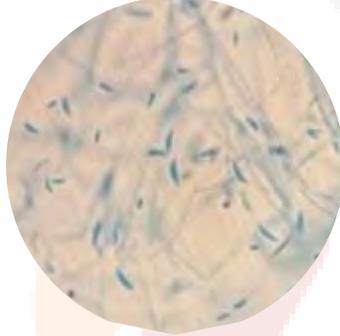
- A. Micelio blanco rosáceo, crecimiento invasivo, y textura filamentosa.
- B. Hifas septadas, conidióforos gruesos, se observan conidias ovaladas y alargadas de diferente tamaño.

Os26 *Fusarium* sp.

A) Macroscópica



B) Microscópica (100x)



Descripción

- A. Micelio rosáceo, crecimiento invasivo, textura algodonosa, y elevación convexa.
- B. Hifas septadas, fiálides ramificadas y conidios en forma de media luna con septos.

Os27 *Fusarium* sp.

A) Macroscópica



B) Microscópica (100x)



Descripción

- A. Micelio rosáceo al centro y blanco en la periferia, crecimiento invasivo, y textura filamentosa.
- B. Hifas septadas, conidióforos gruesos, se observan conidias ovaladas y alargadas de diferente tamaño.

Os28 Scopulariopsis sp.

A) Macroscópica



B) Microscópica (100x)



Descripción

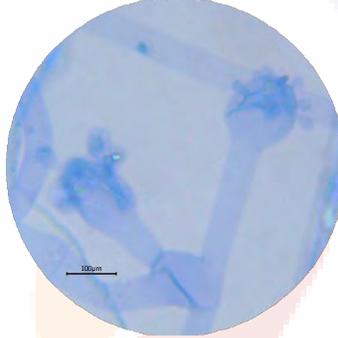
- A. Micelio grisáceo, crecimiento invasivo, y textura filamentosa.
- B. Hifas septadas, conidióforos gruesos, y cadenas de conidias de gran tamaño en forma circular.

Os29 Mucor sp.

A) Macroscópica



B) Microscópica (100x)



Descripción

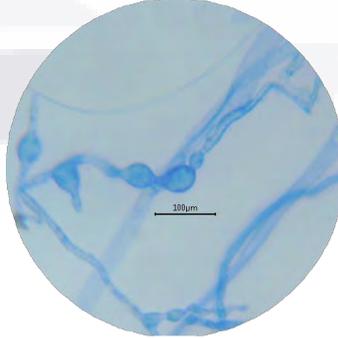
- A. Micelio grisáceo, crecimiento invasivo, y textura filamentosa, en la periferia se observa un halo de esporas aglomeradas.
- B. Hifas aseptadas, esporangióforo grueso, esporangio globular rodeado de esporas.

Os30 Absidia sp.

A) Macroscópica



B) Microscópica (100x)

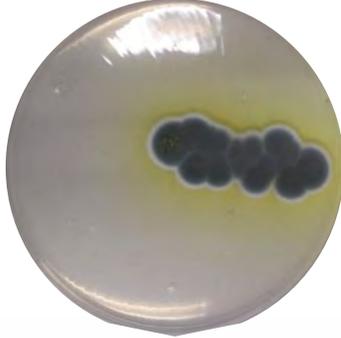


Descripción

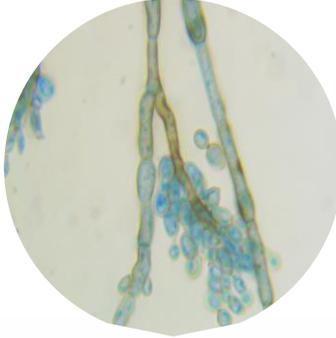
- A. Micelio grisáceo, crecimiento invasivo, y textura filamentosa, en la periferia se observa un halo de esporas aglomeradas color café
- B. Hifas septadas, esporangióforo ovalado, y se observan esporas dentro de él.

Os31 *Penicillium sp.*

A) Macroscópica



B) Microscópica (100x)



Descripción

- A. Colonia verde, borde blanco, textura aterciopelada y polvorienta, pigmentación amarilla en el medio.
- B. Hifas septadas y conidios ovalados en cadena de diferentes tamaños.

Os32 *Cladosporium sp.*

A) Macroscópica



B) Microscópica (100x)



Descripción

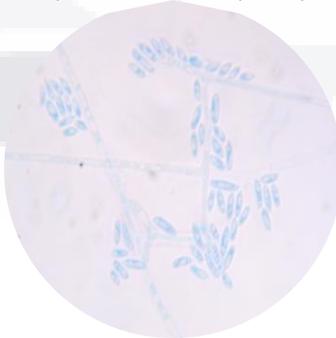
- A. Micelio aéreo, blanco, denso y abundante, con textura algodonosa, crecimiento masivo invasivo
- B. Hifas septadas y conidios ovalados de diferentes tamaños.

Os33 *Fusarium sp.*

A) Macroscópica



B) Microscópica (100x)



Descripción

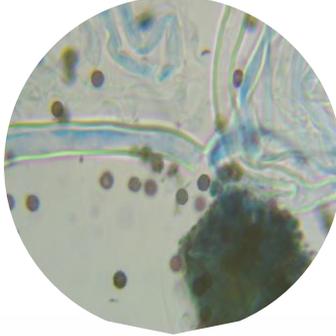
- A. Colonia blanca, con una ligera elevación central, presenta una textura algodonosa y firme.
- B. Hifas septadas y conidios ovalados y alargados.

Os34 *Aspergillus sp.*

A) Macroscópica



B) Microscópica (100x)



Descripción

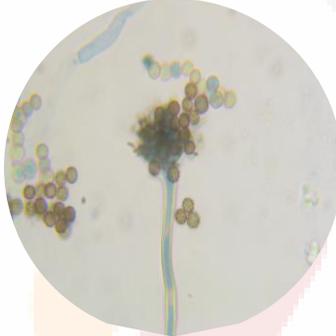
- A. Colonia negra, textura polvorienta y crecimiento invasivo.
- B. Hifas aseptadas, conidióforos gruesos, vesícula rodeada de conidias.

Os35 *Aspergillus sp.*

A) Macroscópica



B) Microscópica (100x)



Descripción

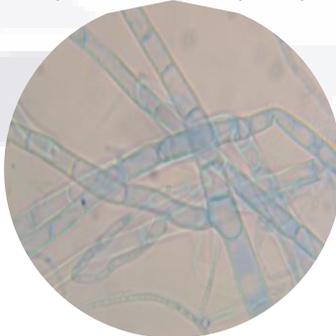
- A. Colonia negra, textura polvorienta y crecimiento invasivo.
- B. Hifas aseptadas, conidióforos delgados, vesícula rodeada de fiáldes con conidias en el extremo.

Os36 *Cunninghamella sp.*

A) Macroscópica



B) Microscópica (100x)



Descripción

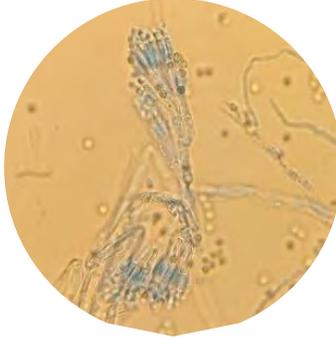
- A. Colonia blanca, textura algodonosa, y crecimiento invasivo.
- B. Hifas gruesas, ramificadas y septos bien definidos.

Os37 *Penicillium sp.*

A) Macroscópica



B) Microscópica (100x)

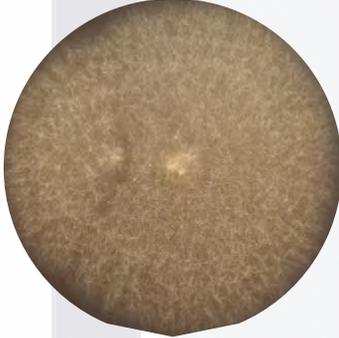


Descripción

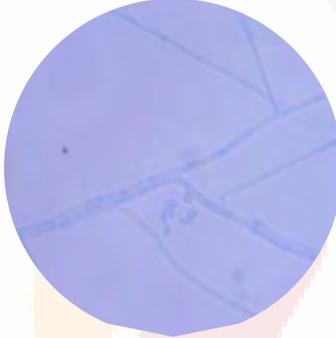
- A. Colonia verde grisácea, borde blanco, textura algodonosa, elevación convexa y viraje del medio a color café.
- B. Hifas septadas, conidióforo ramificado, grupos de fiálides con pequeñas cadenas de conidias.

Os38 *Fusarium sp.*

A) Macroscópica



B) Microscópica (100x)



Descripción

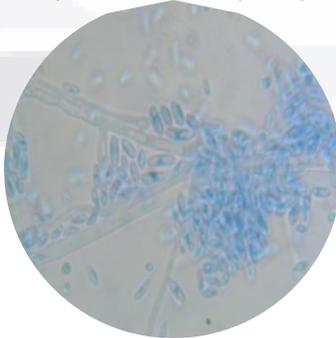
- A. Colonia blanca rosácea, textura algodonosa, sin elevación y crecimiento invasivo.
- B. Hifas septadas y conidias en forma de media luna con septos.

Os39 *Cladosporium sp.*

A) Macroscópica



B) Microscópica (100x)



Descripción

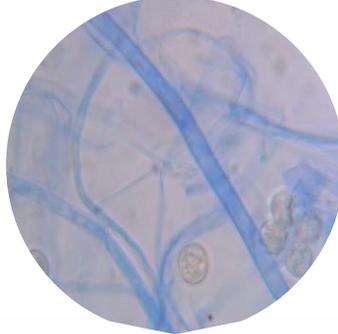
- A. Colonia blanca rosácea, textura algodonosa y crecimiento invasivo.
- B. Hifas septadas, conidióforos gruesos, se observan conidias ovaladas y alargadas de diferente tamaño.

Os40 *Mucor sp.*

A) Macroscópica



B) Microscópica (100x)



Descripción

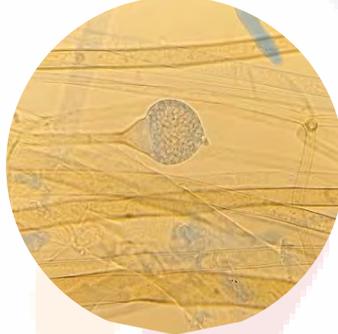
- A. Colonia blanca grisácea, textura algodonosa y crecimiento invasivo.
- B. Hifas aseptadas, esporangióforos gruesos, se observan varios esporangios con esporas en su interior.

Os41 *Pythium sp.*

A) Macroscópica



B) Microscópica (100x)

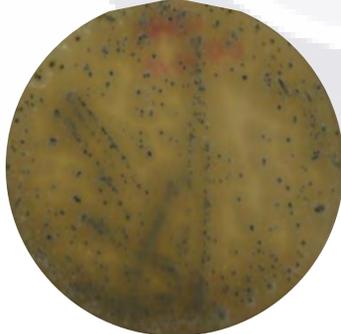


Descripción

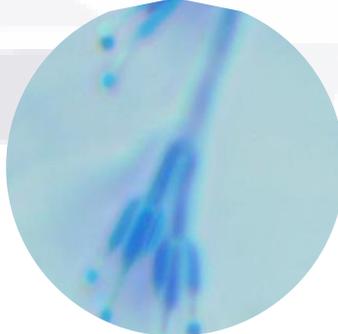
- A. Colonia blanca, textura algodonosa, crecimiento en varios niveles con elevación variada y crecimiento invasivo.
- B. Hifas aseptadas, esporangióforos gruesos, esporangio ligeramente ovalado que contiene esporangiosporas.

Os42 *Penicillium sp.*

A) Macroscópica



B) Microscópica (100x)



Descripción

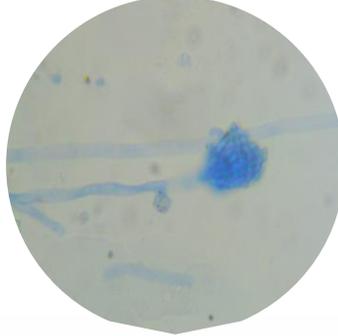
- A. Colonias verdes con borde blanco, textura rígida y polvorienta, con ligera elevación convexa.
- B. Hifas aseptadas, conidióforo delgado, métula con pocas fiálides en terminación de cadenas cortas de conidios.

Os43 *Paecilomyces sp.*

A) Macroscópica



B) Microscópica (100x)



Descripción

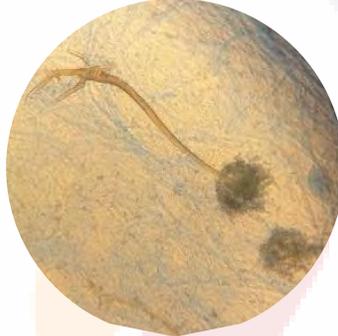
- A. Colonia grisácea con bordes blancos, textura algodonosa, presenta halos y un crecimiento irregular pero invasivo.
- B. Hifas septadas, conidióforo delgado, fiálides con cadenas de conidias.

Os44 *Mucor sp.*

A) Macroscópica



B) Microscópica (100x)



Descripción

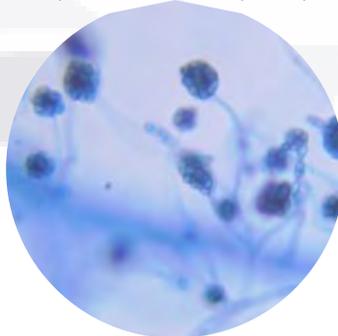
- A. Colonia blanca grisácea, textura algodonosa y crecimiento invasivo.
- B. Hifas aseptadas, esporangióforo hialino, esporangio circular y definido rodeado de aglomerados de esporas.

Os45 *Paecilomyces sp.*

A) Macroscópica



B) Microscópica (100x)



Descripción

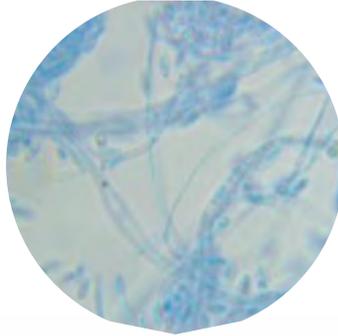
- A. Colonia blanca rosácea, textura algodonosa y áspera, con crecimiento irregular.
- B. Hifas aseptadas, conidióforo delgado, métula rodeadas de conidios.

Os46 *Fusarium sp.*

A) Macroscópica



B) Microscópica (100x)



Descripción

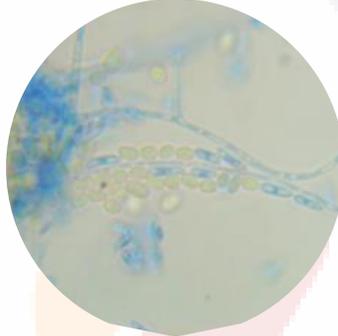
- A. Colonia blanca rosácea, textura algodonosa, crecimiento invasivo
- B. Hifas septadas, conidióforos de diferente grosor, conidios alargados en forma convexa.

Ab1 *Scedosporium sp.*

A) Macroscópica



B) Microscópica (100x)



Descripción

- A. Colonia blanca amarillenta, elevación convexa al centro, presenta un halo alrededor.
- B. Hifas septadas, vesículas con cumulo de fiálides, se observan conidias hialinas de forma ovalada y alargadas.

Ab2 *Alternaria sp.*

A) Macroscópica



B) Microscópica (100x)

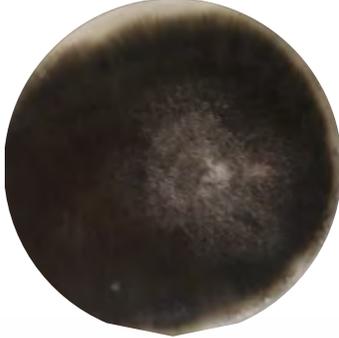


Descripción

- A. Colonia blanca aperlada, halos de crecimiento radial con textura algodonosa.
- B. Hifas septadas, se observan estructuras globulares y de forma circular con conidios en su interior.

Ab3 *Didymella sp.*

A) Macroscópica



B) Microscópica (100x)



Descripción

- A. Colonia negra, centro blanco, crecimiento irregular e invasivo, textura filamentosa.
- B. Hifas septadas de diferente grosor, presenta estructuras de esporas ovaladas y alargadas con septos.

Ab4 *Cladosporium sp.*

A) Macroscópica



B) Microscópica (100x)



Descripción

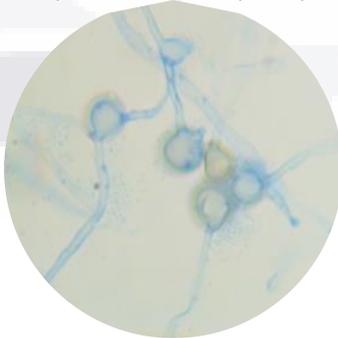
- A. Colonia blanca rosácea, textura algodonosa y crecimiento invasivo.
- B. Hifas septadas, se observan conidias ovaladas y alargadas de diferente tamaño.

Ab5 *Mucor sp.*

A) Macroscópica



B) Microscópica (100x)



Descripción

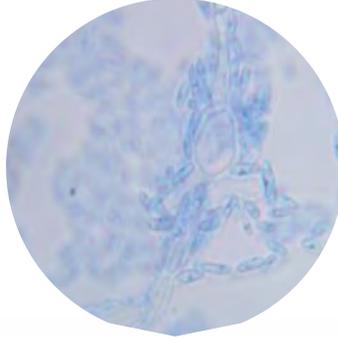
- A. Colonia blanca de textura algodonosa y crecimiento circular con elevación ligeramente pronunciada.
- B. Hifas septadas, esporangióforos hialinos, esporangios de diferente tamaño con esporas en su interior.

Ab6 *Acremonium sp.*

A) Macroscópica



B) Microscópica (100x)



Descripción

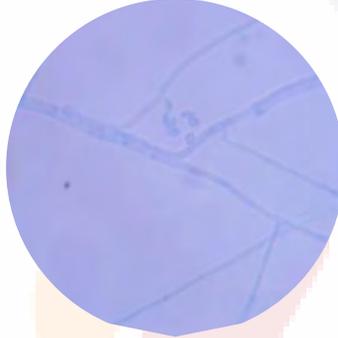
- A. Colonia blanca de textura algodonosa en la periferia y textura rígida el centro, con crecimiento invasivo y elevación pronunciada.
- B. Hifas septadas, y aglomeraciones de conidios ovalados y alargados con septos.

Ab7 *Fusarium sp.*

A) Macroscópica



B) Microscópica (100x)



Descripción

- A. Colonia rosada al centro y textura firme, con crecimiento radial color amarillento y textura algodonosa.
- B. Hifas aseptadas, se observan conidios en forma de media luna.

Ab8 *Penicillium sp.*

A) Macroscópica



B) Microscópica (100x)



Descripción

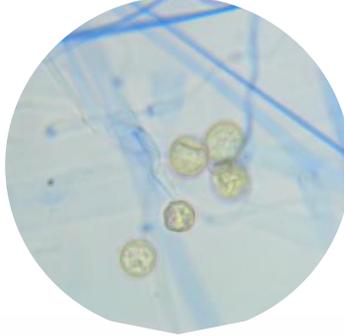
- A. Colonia verde grisáceo, borde blanco, crecimiento irregular, textura rígida y polvorienta y pigmentación amarillenta en medio.
- B. Hifas septadas, conidióforos delgados y filídes con cadenas de conidias.

Ab9 *Mucor sp.*

A) Macroscópica



B) Microscópica (100x)



Descripción

- A. Colonia blanca, textura algodonosa, poca elevación y crecimiento irregular.
- B. Hifas septadas, esporangióforos hialinos, esporangios de diferente tamaño con esporas en su interior.

Ab10 *Mucor sp.*

A) Macroscópica



B) Microscópica (100x)



Descripción

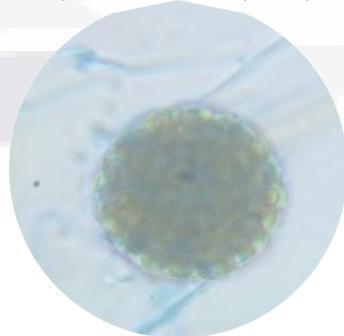
- A. Colonia blanca grisácea, bordes oscuros, textura algodonosa, y crecimiento invasivo.
- B. Hifas septadas, esporangióforos hialinos, esporangios de diferente tamaño con esporas en su interior.

Ab11 *Mucor sp.*

A) Macroscópica



B) Microscópica (100x)



Descripción

- A. Colonia blanca grisácea, bordes oscuros, textura algodonosa, y crecimiento invasivo.
- B. Hifas septadas y delgadas, esporangio circular y definido con esporas en su interior.