



## Introducción

Los elementos potencialmente tóxicos (EPT) pueden llegar al suelo por diversas actividades humanas, entre las que se encuentran la combustión, el uso excesivo de pesticidas, fertilizantes (Zhao *et al.*, 2021), jales de mina y actividades industriales (Ahn *et al.*, 2020). En los residuos de minas, dos de los principales EPT que se encuentran en grandes cantidades son el arsénico (As) y el plomo (Pb), los cuales son considerados de alta toxicidad debido a su persistencia y bioacumulación (Boostani *et al.*, 2021; Zhao *et al.*, 2021). Entre los efectos toxicológicos que puede causar el Pb se encuentra el cáncer, si este se vuelve acumulativo en los humanos a través de las cadenas tróficas, iniciando por el aumento de concentración en el suelo. La exposición al As puede ocasionar lesiones dermatológicas, cardiovasculares, enfermedades vasculares periféricas, trastornos neurológicos, enfermedades respiratorias, deformaciones de las extremidades, problemas oculares y diversas formas de cáncer y muerte (Roy *et al.*, 2015).

Entre los sistemas actuales de biorremediación de suelo que se estudian se encuentran la extracción y estabilización de los EPT mediante el uso de microorganismos o plantas. Los microorganismos usados en biominería son extremófilos, debido a que tienen la capacidad de resistir condiciones extremadamente ácidas (pH 1-3) así como la presencia de concentraciones elevadas de metales (mayores a 100 mgL<sup>-1</sup>). Las bacterias interactúan con los metales mediante diferentes procesos, entre los que encontramos absorción, bioacumulación, bioprecipitación, bio reducción y biooxidación (Jerez *et al.*, 2017).

En las bacterias promotoras de crecimiento vegetal (BPCV), se ha encontrado que presentan la capacidad de producir sideróforos para captar hierro (Fe) y otros EPT, así como la producción de ácidos orgánicos para solubilizar fosfatos y promover la captación de fósforo. Las BPCV promueven el crecimiento vegetal mediante los mecanismos de fijación de nitrógeno, solubilización de fosfatos, producción de fitohormonas como el ácido indol acético y producción de la enzima ACC desaminasa (Rajkumar *et al.*, 2012).

En los últimos años se ha tratado de entender en la biorremediación de jales de minas cómo es la interacción bacteria-mineral y la respuesta de estos para poder sobrevivir a estas condiciones extremas (Jerez *et al.*, 2017). El estudio de los EPT en el suelo se ha enfocado fundamentalmente en las concentraciones de estos; sin embargo, para entender los procesos de su estabilización, es necesario estudiar la especiación de estos en los suelos, es decir, su distribución y su redistribución causada por los procesos de interacción con las bacterias, con las enmiendas y con la fitorremediación (Mngadi *et al.*, 2020).

Por lo descrito anteriormente, este estudio está enfocado a conocer cómo es la redistribución de los EPT en el suelo cuando se aplican bacterias promotoras de crecimiento vegetal.

## Materiales y métodos

### Muestreo

El área de muestreo está ubicada en el municipio de Zimapán, Hidalgo, México, denominada "Jales de Santa María", en calle Montserrat, colonia Fas, con coordenadas 20° 44' 08.2" N y 99° 23' 56.4" W. En este contexto se recolectaron 10 submuestras en los jales mineros mediante la técnica de zig-zag (Soil Survey Staff, 2014) a una profundidad aproximada de 20 cm. Se utilizó pala de plástico para su extracción y bolsas de plástico de 5 kg para su almacenamiento temporal.

Una vez en laboratorio, se realizó una muestra compuesta de jal y se dejó secar a temperatura ambiente durante 24 h. Posteriormente, la muestra se homogenizó y mediante la técnica del cuarteo se subdividió hasta obtener muestras de 1 kg, aproximadamente; las muestras se tamizaron y se almacenaron en bolsas resellables.

## Caracterización fisicoquímica de los jales de minas

La caracterización fisicoquímica de los jales de mina antes y después del tratamiento se realizó de acuerdo con la Norma Oficial Mexicana NOM-021-RECNAT-2000, determinando el porcentaje de saturación, pH, conductividad eléctrica, acidez extractable, capacidad de intercambio catiónico y densidad aparente.

## Cepas bacterianas

Las cepas bacterianas usadas fueron *Serratia* K120, *Serratia* MC119, *Enterobacter* K125, *Enterobacter* MC156 y *Klebsiella* MC173, aisladas de la rizosfera de jales de mina de Zimapán, Hidalgo, y caracterizadas como bacterias promotoras de crecimiento vegetal (BPCV) (Mendoza-Hernández *et al.*, 2016).

## Preparación del inóculo

Las cepas seleccionadas fueron cultivadas en matraces Erlenmeyer de 500 ml en caldo Luria Bertani (LB) a 30 °C, agitación de 800 rpm durante 48 h. Posteriormente, fueron centrifugadas a 11 000 rpm durante 15 min. El pellet fue resuspendido en NaCl 0.9% para ajustar a una densidad óptica de 0.5 Å a 600 nm para obtener aproximadamente  $1 \times 10^9$  UFCml<sup>-1</sup>.

## Ensayo de las bacterias con el jal

Se realizó una inoculación de cada cepa bacteriana, 50 ml de la suspensión bacteriana en 100g de los jales de minas, usando dos testigos: (T1) jal y (T2) jal con NaCl 0.9%, y los jales se incubaron 30 °C durante 3 meses.

## Análisis químico o extracción secuencial

La extracción secuencial fue realizada acorde a lo reportado por Tessier *et al.* (1979), Hall *et al.* (1996), Dold & Fontboté (2001) y Favas *et al.* (2011). Las fracciones que se consideraron son las siguientes: soluble, intercambiable, enlazada a carbonatos, enlazada a oxihidróxidos de Fe, enlazada a óxidos de Fe, enlazada a materia orgánica, enlazada a sulfuros y fracción residual.

La extracción secuencial inició con la fracción soluble, en donde se pesaron 2 g de jal y se disolvió en 16 ml de agua destilada. Esta suspensión se agitó durante 30 min en un agitador rotatorio a 80 rpm y posteriormente se centrifugó a 8000 rpm durante 20 min. El sobrenadante fue retirado con una pipeta y fue analizado mediante espectrofotometría de absorción atómica (Favas *et al.*, 2011). Para la siguiente fracción se le agregó 16 ml de MgCl<sub>2</sub> 1 M al jal residual y se agitó durante 1 h; después, se centrifugó a 8000 rpm durante 20 min, y el sobrenadante se analizó como fracción intercambiable.

En la fracción unida a carbonatos al jal separado de la fracción intercambiable se agregó 16 ml de  $C_2H_3NaO_2$  1 M y se agitó durante 10 h; el sobrenadante se separó como el paso anterior para realizar el análisis como fracción unida a carbonatos. En la siguiente fracción, que corresponde a la fracción unida a Fe (III)-Oxihidróxidos, al jal residual se le agregó 80 ml de 0.2 M de  $(NH_4)_2C_2O_4$  y se agitó por 1 h en la oscuridad, separando el sobrenadante por centrifugación. Luego, en la siguiente fracción, que corresponde a la fracción unida a Fe (III)-óxidos, al jal residual de la fracción anterior se colocó 40 ml de 0.04 M de  $NH_2OH \cdot HCl_2$ , agitándose durante 6 h a 96 °C, y posteriormente se centrifugó durante 30 min, analizando el sobrenadante. Al jal residual de la fracción anterior se agregó 6 ml de 0.02 M de  $HNO_3$  más 10 ml de  $H_2O_2$  y se agitó durante 2 h a 85 °C. Posteriormente, se le agregó 6 ml de  $H_2O_2$  y se agitó durante 3 h a 85 °C. Después, a lo anterior se le agregó 10 ml de 3.2 M de  $NH_4OOCH_3$  y se agitó durante 30 min, y se separó el sobrenadante analizándolo como fracción unida a materia orgánica (Dold & Fontboté, 2001; Tessier *et al.*, 1979).

Acto seguido, en la fracción unida a sulfuros se le agregó al jal residual 1.5 g de  $KClO_3$  y 10 ml de  $HCl$  12 M, se tapó y agitó en vórtex por 30 min; se agregó 20 ml de  $HNO_3$  4 M, se tapó y agitó en vortex durante 20 min a 90 °C; se separó el sobrenadante y se analizó (Favas *et al.*, 2011; Hall *et al.*, 1996). Finalmente, para la fracción residual se agregó al jal residual de la fracción anterior 10 ml de  $HNO_3$ , 4 ml de  $HCl$  y 1 ml de  $H_2O_2$ . Se colocó en microondas a 180 °C por 15 min, y al término se filtró y diluyó la muestra a 50 ml con agua destilada (US Environmental Protection Agency [US-EPA], 1996).

El Pb y el As en todas las fracciones fue analizado mediante espectrofotometría de absorción atómica.

### Microscopía electrónica de barrido (MEB)

Las muestras se colocaron en cinta de carbón conductor y se recubrieron con oro en una unidad de pulverización (Denton Vacuum, DESK vSCD-030) antes de analizarla por MEB (JEOL JSM6610LV). Los experimentos se llevaron a cabo utilizando un detector de electrones secundarios (SE) en un sistema de muestra a granel que funciona en modo de alto vacío a 20 kV de voltaje de aceleración. El equipo se encuentra acoplado con un sistema de microanálisis por dispersión de energía de rayos X (EDS).

### Difracción de rayos X (DRX)

Los jales mineros se caracterizaron mediante la técnica de difracción de rayos X (DRX, BrukerD8 Discover). Los datos se recopilaron en un difractómetro Bruker modelo D8 Discover utilizando radiación  $CuK\alpha$  ( $\lambda = 0.5418$  nm) y modo de exploración por pasos (rango: 3°–90° de  $2\theta$ ; tiempo de paso: 0s, 60 s; ancho: 0°,04°).

### Análisis estadístico

Un análisis de varianza de un factor se realizó para detectar si al menos un tratamiento fue diferente. Así mismo, para detectar diferencias entre los tratamientos se realizó una comparación de medias usando la prueba de diferencia significativa honesta (DSH) de Tukey, con un nivel de significancia del 95% ( $\alpha = 0.05$ ). Todos los análisis se realizaron con el *software* SPSS versión 19.

## Resultados

El análisis fisicoquímico de las muestras de jales de minas iniciales y los inoculados con las BPCV indica que se presentó una modificación en el porcentaje de saturación, siendo mayor con una diferencia significativa ( $p < 0.05$ ) con la presencia de las bacterias con respecto al jal de mina sin inocular, y que hay una disminución del pH de 8.2 a 7.2 con diferencia significativa ( $p < 0.05$ ) del jal de mina inoculado con bacterias con respecto al testigo sin inocular. La conductividad eléctrica, acidez extraíble, capacidad de intercambio catiónico y densidad real no mostraron cambios significativos con y sin bacterias (Tabla 1).

Tabla 1. Parámetros fisicoquímicos del jal de mina, solo y con BPCV.

Parámetro	Jal de mina	Jal, BPCV <i>Enterobacter MC156</i>	Jal, BPCV <i>Serratia K120</i>	Jal, BPCV <i>Serratia MC119</i>	Jal, BPCV <i>Klebsiella MC173</i>	Jal, BPCV <i>Enterobacter K125</i>
Porcentaje de saturación	52.5 ± 0.2*	62.14 ± 0.1*	65.78 ± 0.3*	61.47 ± 0.2*	60.12 ± 0.2*	59.26 ± 0.3*
pH	8.2 ± 0.1*	7.2 ± 0.1*	7.1 ± 0.2*	7.5 ± 0.2*	7.4 ± 0.1*	7.3 ± 0.2*
Conductividad eléctrica	1.84 ± 0.3	1.79 ± 0.2	1.78 ± 0.2	1.75 ± 0.3	1.81 ± 0.2	1.78 ± 0.3
Acidez extraíble	4.4 ± 0.2	3.7 ± 0.1	3.6 ± 0.2	3.8 ± 0.2	3.9 ± 0.2	3.6 ± 0.2
Capacidad de intercambio catiónico (CmolKg)	0.56 ± 0.2	0.65 ± 0.1	0.78 ± 0.1	0.63 ± 0.1	0.69 ± 0.2	0.62 ± 0.2
Densidad real	0.85 ± 0.1	0.82 ± 0.1	0.83 ± 0.2	0.79 ± 0.2	0.77 ± 0.1	0.80 ± 0.2

\*Diferencias significativas ( $p < 0.05$ )

Fuente: Elaboración propia.

El análisis EDS de los jales de minas indicó la presencia de oxígeno (O), silicio (Si), calcio (Ca), hierro (Fe), potasio (K), aluminio (Al) y azufre (S) como los elementos más representativos. Los resultados se muestran en la Figura 1.

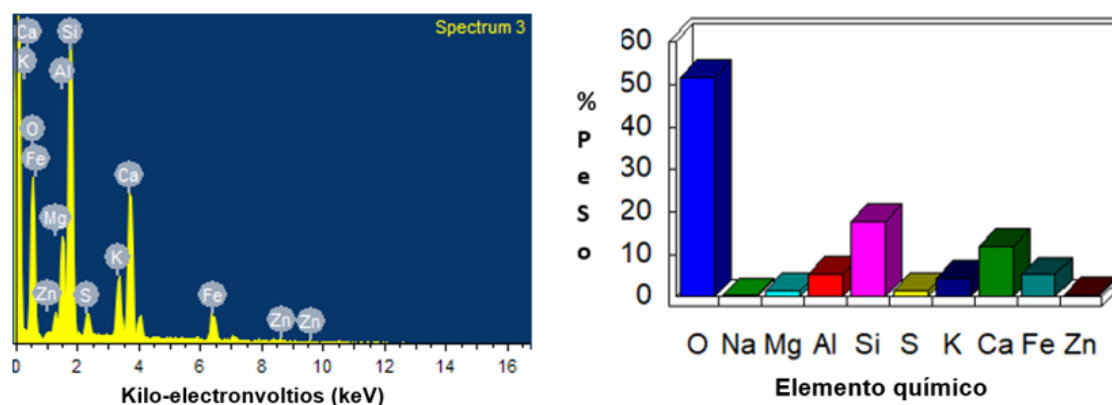


Figura 1. Imagen EDS de los elementos químicos detectados en los jales de minas.

Fuente: Elaboración propia.

Se empleó la técnica DRX para establecer y estudiar la estructura de las fases minerales presentes en la muestra de jales mineros. La Figura 2 muestra los difractogramas que indican que la muestra se compone principalmente por una mezcla de  $\text{CaCO}_3$  (Calcita, JCPDS-PDF 04-007-8659),  $\text{SiO}_2$  (Cuarzo, JCPDS-PDF 00-046-1045) y tecto-aluminosilicato de bario, calcio, sodio y potasio (K 0.88, Na 0.10, Ca 0.009, Ba 0.012) (Al 1.005, Si 2.995, O 8) (feldespato ortoclasa, JCPDS-PDF 01-076-0825). Se observan los picos más importantes para la calcita asignados a  $2\theta = 23.61^\circ, 29.47^\circ, 35.98^\circ, 39.42^\circ, 47.58^\circ, 48.59^\circ, 57.51^\circ, 64.65^\circ$  y  $81.61^\circ$ . En la misma figura se observan los picos a  $2\theta = 20.94^\circ, 50.12^\circ$  y  $60.06^\circ$ , siendo el más intenso en  $26.66^\circ$ , lo que corresponde al cuarzo. Los picos representativos asignados al feldespato ortoclasa se localizan a  $2\theta = 25.65^\circ, 27.56^\circ, 32.15^\circ, 43.37^\circ$  y  $56.36^\circ$ .

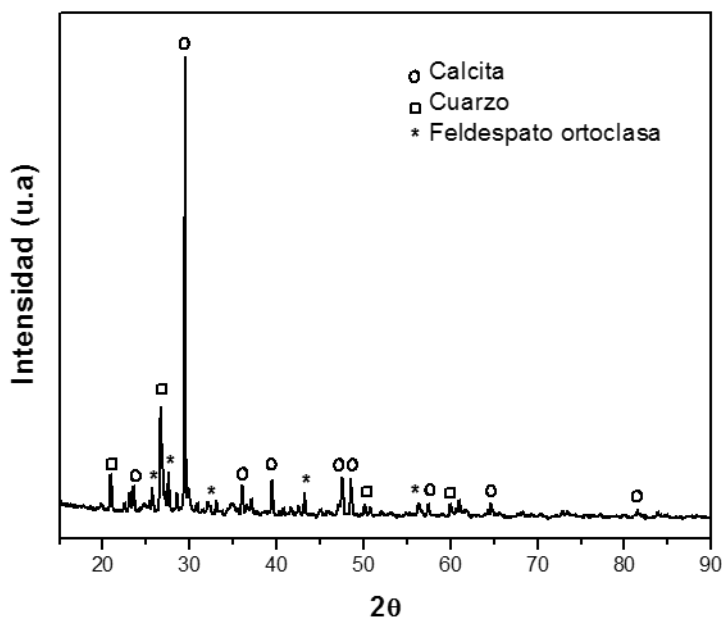
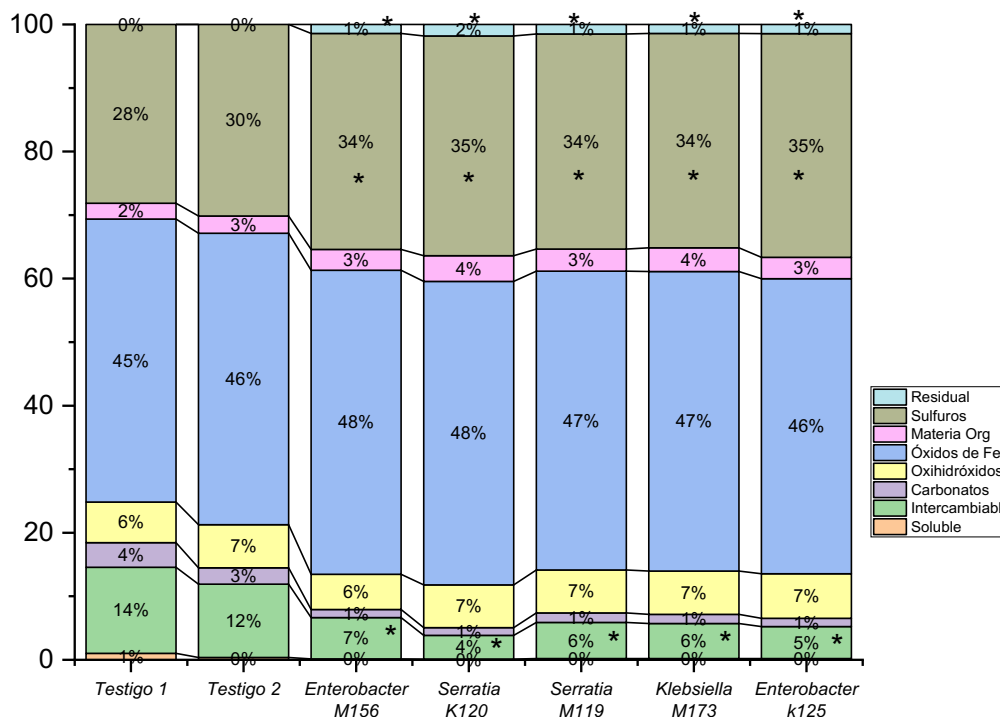


Figura 2. Patrón DRX de jales de minas.  
Fuente: Elaboración propia.

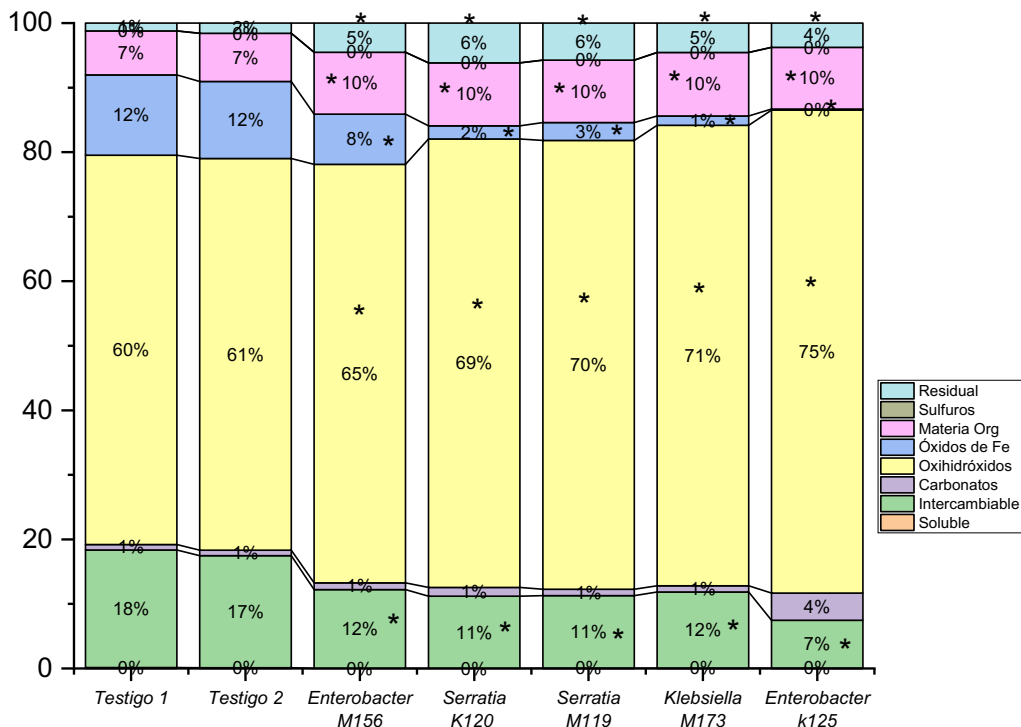
Del análisis de la movilidad del Pb en las diferentes fracciones de los jales de minas usando la biorremediación con BPCV, encontramos que estas influyen disminuyendo significativamente ( $p < 0.05$ ) con respecto a los testigos el porcentaje de biodisponibilidad (fracción soluble, intercambiable y unida a carbonatos) de este metal en un 10.51% para la bacteria *Enterobacter* MC156, 13.37% para *Serratia* K120, 11.05% en *Serratia* MC119, 11.27% en *Klebsiella* MC173 y 11.88% en *Enterobacter* K125; se incrementó de manera significativa ( $p < 0.05$ ) con respecto a los testigos en la fracción unida a sulfuros en un 5.83% para *Enterobacter* MC156, 6.47% en *Serratia* K120, 5.71% en *Serratia* MC119, 5.6% en *Klebsiella* MC173 y 7.07% en *Enterobacter* K125; y finalmente se incrementa significativamente ( $p < 0.05$ ) en aproximadamente 1% para todas las bacterias en la fracción residual con respecto a los testigos, como se observa en la Figura 3.



\* Diferencias significativas ( $p < 0.05$ )

Figura 3. Porcentaje de distribución de Pb en las diferentes fracciones del suelo con la presencia de BPCV.  
Fuente: Elaboración propia.

La movilidad del As en las diferentes fracciones de los jales de mina en presencia de BPCV fue de la siguiente manera. Se presentó una disminución significativa ( $p < 0.05$ ) con respecto a los testigos en las fracciones disponibles (soluble, intercambiable y carbonatos) de un 5.93% para *Enterobacter* MC156, 6.64% para *Serratia* K120, 6.94% para *Serratia* MC119, 6.38% para *Klebsiella* MC173 y 7.52% para *Enterobacter* K125. En la fracción de oxihidróxidos, se incrementó significativamente ( $p < 0.05$ ) con respecto a los testigos en un 4.51% para *Enterobacter* MC156, 9.15% para *Serratia* K120, 9.23% para *Serratia* MC119, 10.99% para *Klebsiella* MC173 y 14.5% para *Enterobacter* K125. En la fracción de óxidos de Fe se presentó una disminución significativa ( $p < 0.05$ ) con respecto a los testigos de 4.66% para *Enterobacter* MC156, 10.41% para *Serratia* K120, 9.67% para *Serratia* MC119, 10.98% para *Klebsiella* MC173 y 12.28% para *Enterobacter* K125. Para la fracción de materia orgánica se presentó un incremento significativo ( $p < 0.05$ ), con respecto a los testigos, de 2.77% en *Enterobacter* MC156, 2.95% en *Serratia* K120, 2.86% en *Serratia* MC119, 3.02% en *Klebsiella* MC173 y 2.77% en *Enterobacter* K125. Finalmente, para la fracción residual se presentó un incremento significativo ( $p < 0.05$ ), con respecto a los testigos de 3.31% en *Enterobacter* MC156, 4.95% en *Serratia* K120, 4.52% en *Serratia* MC119, 3-35% en *Klebsiella* MC173 y 2.54% *Enterobacter* K125, como se muestra en la Figura 4.



\* Diferencias significativas ( $p < 0.05$ )

Figura 4. Porcentaje de distribución de As en las diferentes fracciones del suelo con la presencia de BPCV. Fuente: Elaboración propia.

El índice de evaluación de riesgos (RLAC) para Pb para los testigos está entre el 11% y el 30%, lo que significa un riesgo medio al medio ambiente; sin embargo, después de los tratamientos con bacterias, es menor al 10%, lo que representa un riesgo bajo al medio ambiente. El RLAC para As en los testigos está entre el 11% y el 30%, lo que representa un riesgo medio para el medio ambiente; después de los tratamientos, disminuyó por debajo del 10% para las bacterias *Serratia* K120, *Serratia* Mc119, *Klebsiella* Mc173 y *Enterobacter* K125, mientras que para *Enterobacter* Mc156 sí disminuyó, pero no por debajo de 10% (Tabla 2).

Tabla 2. RLAC para Pb y As.

RLAC Pb		Testigo 1	<i>Enterobacter</i> MC156	<i>Serratia</i> K120	<i>Serratia</i> MC119	<i>Klebsiella</i> MC173	<i>Enterobacter</i> K125
Jales de minas + BPCV		17.2	7.7	5.0	7.24	7.0	6.4
RLAC As		Testigo 1	<i>Enterobacter</i> MC156	<i>Serratia</i> K120	<i>Serratia</i> MC119	<i>Klebsiella</i> MC173	<i>Enterobacter</i> K125
Jales de minas + BPCV		17.1	11.1	9.7	9.4	9.8	9.6

Fuente: Elaboración propia.



## Discusión

Las BPCV pueden mejorar la biorremediación actuando por sí mismas o en los procesos de interacción con las plantas por la modificación de la solubilidad de fosfatos, la captación de Fe, la modificación del pH, la secreción de quelantes y la movilidad de los oligoelementos. Por otra parte, el conocimiento de la redistribución de los EPT en los sistemas de biorremediación con BPCV y plantas para hacerlos menos disponibles no se ha estudiado lo suficiente para entenderlo y puede ayudar a comprender el comportamiento del transporte y los riesgos potenciales hacia el medio ambiente y la salud humana (Li et al., 2021).

Las BPCV provocaron una redistribución significativa del Pb, movilizándolo de las fracciones disponibles (soluble, intercambiable y unida a carbonatos) a la fracción de sulfuros, y un poco a la fracción residual, disminuyendo su biodisponibilidad y el riesgo al medio ambiente y a la salud humana (Mngadi et al., 2020), siendo *Serratia* K120 y *Enterobacter* K125 las que mejor funcionan. Esto concuerda con lo reportado por Kidd et al. (2009) y Cao et al. (2018) en *Pseudomonas fluorescens*, donde disminuye el Pb en la fracción unida carbonatos. También coincide con los estudios de Radziemska et al. (2022), quien indicó que las rizobacterias ayudan a la estabilización de los EPT, moviéndolos de la fracción biodisponible a la fracción residual, favoreciendo los sistemas de biorremediación mediante el uso de bacterias que presentan la capacidad de vivir en sistemas con concentraciones elevadas de estos.

La disminución de la biodisponibilidad de los EPT provenientes de aguas contaminadas (Song et al., 2019) por la acción de las bacterias (Azouzi et al., 2019; Álvarez-Ayuso & Abad-Valle, 2021; Boostani et al., 2021) favorecería al crecimiento de las plantas en zonas en donde las actividades industriales generan contaminación por EPT, y en este caso, con BPCV no solo disminuiría la biodisponibilidad de los EPT, sino que también favorecería el crecimiento de las plantas.

Mngadi et al. (2020) han reportado que el As en jales de minas de extracción de oro se encuentra fundamentalmente en la fracción residual (55.4%–80.6%), mientras que en jales de minas de Zimapán donde se realizó el estudio se distribuye en mayor proporción en la fracción de oxhidrilos; y cuando se colocan las BPCV, este se moviliza de las fracciones biodisponibles (soluble, intercambiable y unida a carbonatos) a la fracción orgánica y la fracción residual, disminuyendo al riesgo de medio a bajo para el medio ambiente y la salud humana (Mngadi et al., 2020; Rajkumar et al., 2012), siendo la bacteria *Serratia* K120 y *Enterobacter* K125 las que mejor funcionaron, concordando con lo reportado por Bedoya et al. (2021).

## Conclusiones

Las BPCV *Serratia* K120 y *Enterobacter* K125 contribuyen en la inmovilización del Pb y As de las fracciones disponibles a las menos disponibles, por lo que ayudarían a la estabilización de los EPT y pueden ser usadas para los sistemas de biorremediación de jales de mina, ya que modifican el riesgo al medio ambiente y a la salud humana, volviéndolo bajo.

## Agradecimientos

A la Vicerrectoría de Investigación y Estudios de Posgrado por el apoyo para la realización de este proyecto.

## Conflicto de interés

No existen conflictos de intereses.

## Referencias

- Ahn, Y., Han, M., & Choi, J. (2020). Monitoring the mobility of heavy metals and risk assessment in mine-affected soils after stabilization. *Journal of Hazardous Materials*, 400, 123231. doi: <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2020.123231>
- Álvarez-Ayuso, E., & Abad-Valle, P. (2021). Application of different alkaline materials as polluted soil amendments: a comparative assessment of their impact on trace element mobility and microbial functions. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 227, 112927. doi: <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2021.112927>
- Azouzi, R., Charef, A., Ayed, L., & Khadhar S. (2019). Effect of water quality on heavy metal redistribution and mobility in polluted agricultural soils in a semi-arid region. *Pedosphere*, 29(6), 730–739. doi: [https://doi.org/10.1016/S1002-0160\(17\)60367-9](https://doi.org/10.1016/S1002-0160(17)60367-9)
- Bedoya, J. M., Martínez, J. G., Tobón, J., & Ochoa, S. (2021). Bioremediation potential of *Pseudomonas* genus isolates from residual water, capable of tolerating lead through mechanisms of exopolysaccharide production and biosorption. *Biotechnology Reports*, 32, e00685. doi: <https://doi.org/10.1016/j.btre.2021.e00685>
- Boostani, H. R., Hardie, A. G., Najafi-Ghiri, M., & Khalili, D. (2021). The effect of soil moisture regime and biochar application on lead (Pb) stabilization in a contaminated soil. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 208, 111626. doi: <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2020.111626>
- Cao, C., Zhang, Q., Ma, Z. B., Wang, X., Chen, H., & Wang, J. (2018). Fractionation and mobility risks of heavy metals and metalloids in wastewater-irrigated agricultural soils from greenhouses and fields in Gansu, China. *Geoderma*, 328, 1-9. doi: <https://doi.org/10.1016/j.geoderma.2018.05.001>
- Dold, B., & Fontboté, L. (2001). Element cycling and secondary mineralogy in porphyry copper tailings as a function of climate, primary mineralogy, and mineral processing. *Journal of Geochemical Exploration*, 74(1), 3-55. doi: [https://doi.org/10.1016/S0375-6742\(01\)00174-1](https://doi.org/10.1016/S0375-6742(01)00174-1)
- Favas, P. J. C., Pratas, J., Gomes, M. E. P., & Cala, V. (2011). Selective chemical extraction of heavy metals in tailings and soils contaminated by mining activity: environmental implications. *Journal of Geochemical Exploration*, 111(3), 160-171. doi: <https://doi.org/10.1016/j.gexplo.2011.04.009>
- Hall, G. E. M., Vaive, J. E., Beer, R., & Hoashi, M. (1996). Selective leaches revisited, with emphasis on the amorphous Fe oxyhydroxide phase extraction. *Journal of Geochemical Exploration*, 56(1), 59-78. doi: [https://doi.org/10.1016/0375-6742\(95\)00050-X](https://doi.org/10.1016/0375-6742(95)00050-X)
- Jerez, C. A. (2019). Metal extraction and biomining. En T. M. Schmidt (ed.), *Encyclopedia of microbiology* (pp. 39-52) (Fourth Edition). Academic Press. doi: <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-809633-8.13077-8>
- Kidd, P., Barceló, J., Bernal, M. P., Navari-Izzo, F., Poschenrieder, C., Shilev, S., Clemente, R., & Monterroso, C. (2009). Trace element behaviour at the root-soil interface: implications in phytoremediation. *Environmental and Experimental Botany*, 67(1), 243-259. doi: <https://doi.org/10.1016/j.envexpbot.2009.06.013>
- Li, X., Yan, X., Wu, T., Zhang, X., & Yu, H. (2021). Risks and phyto-uptake of micro-nano size particulates bound with potentially toxic metals in Pb-contaminated alkaline soil (NW China): the role of particle size fractions. *Chemosphere*, 272, 129508. doi: <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2020.129508>
- Mendoza-Hernández, J. C., Perea-Vélez, Y. S., Arriola-Morales, J., Martínez-Simón, S. M., & Pérez-Osorio, G. (2016). Assessing the effects of heavy metals in ACC deaminase and IAA production on plant growth-promoting bacteria. *Microbiological Research*, 188-189, 53-61. doi: <https://doi.org/10.1016/j.micres.2016.05.001>
- Mngadi, S., Sihlahla, M., Lekoadu, S., Moja, S., & Nomngongo, P. N. (2020). Evaluation of mobility, fractionation, and potential environmental risk of trace metals present in soils from Struibult gold mine dumps. *Journal of African Earth Sciences*, 172, 104008. doi: <https://doi.org/10.1016/j.jafrearsci.2020.104008>
- Radziemska, M., Gusiati, M. Z., Cydzik-Kwiatkowska, A., Majewski, G., Blazejczyk, A., & Brtnicky M. (2022). New approach strategy for heavy metals immobilization and microbiome structure long-term industrially contaminated soils. *Chemosphere*, 308, 136332. doi: <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2022.136332>

- Rajkumar, M., Sandhya, S., Prasad, M. N. V., & Freitas, H. (2012). Perspectives of plant-associated microbes in heavy metal phytoremediation. *Biotechnology Advances*, 30(6), 1562-1574. doi: <https://doi.org/10.1016/j.biotechadv.2012.04.011>
- Roy, M., Giri, A. K., Dutta, S., & Mukherjee, P. (2015). Integrated phytobial remediation for sustainable management of arsenic in soil and water. *Environment International*, 75, 180-198. doi: <https://doi.org/10.1016/j.envint.2014.11.010>
- Song, J., Duan, X., Han, X., Li, Y., Li, Y., & He, D. (2019). The accumulation and redistribution of heavy metals in the water-level fluctuation zone of the Nuozhadu Reservoir, Upper Mekong. *Catena*, 172, 335-344. doi: <https://doi.org/10.1016/j.catena.2018.08.027>
- Soil Survey Staff. (2014). *Kellogg Soil Survey Laboratory Methods Manual. Soil Survey Investigations. Report No. 42, Version 5.0*. R. U. S. Department of Agriculture, Natural Resources Conservation Service.
- Tessier, A., Campbell, P. G. C., & Bisson, M. (1979). Sequential extraction procedure for the speciation of particulate trace metals. *Analytical Chemistry*, 51(7), 844-851. doi: <https://doi.org/10.1021/ac50043a017>
- US Environmental Protection Agency (US-EPA). (1996). *Method 3050B Acid digestion of sediments, sludges, and soils*. <https://www.epa.gov/sites/default/files/2015-06/documents/epa-3050b.pdf>
- Zhao, W., Gu, C., Ying, H., Feng, X., Zhu, M., Wang, M., Tan, W., & Wang, X. (2021). Fraction distribution of heavy metals and its relationship with iron in polluted farmland soils around distinct mining areas. *Applied Geochemistry*, 130, 104969. doi: <https://doi.org/10.1016/j.apgeochem.2021.104969>