

Aislamiento de bacterias endófitas de *Vachellia farnesiana* y evaluación de su potencial para biorremediación de metales pesados

Gustavo Saucedo-Martínez ^a, Gael Eduardo Martínez-Sánchez ^a, Ivana Mabel Morales-González ^a, Luis Manuel Ramírez-Ramírez ^b, Julio Silva-Mendoza ^{a*}

^aUniversidad Autónoma de Nuevo León, Facultad de Ciencias Químicas, Av. Universidad s/n, Ciudad universitaria, C.P. 66455, San Nicolás de los Garza, México.

^bUniversidad Tecnológica de la Zona Metropolitana del Valle de México, Blvd. Miguel Hidalgo y Costilla y Cto. Gral. Felipe Ángeles Ramírez, Fracc. Los héroes tizayuca, C.P. 43816, Tizayuca, México.

*e-mail de autor responsable: jsilvamd@uanl.edu.mx

Gustavo Saucedo-Martínez: <https://orcid.org/0009-0004-3009-5765>

Julio Silva-Mendoza: <https://orcid.org/0000-0001-8236-0680>

Gael Eduardo Martinez Sanchez: <https://orcid.org/0009-0005-9289-4527>

Ivana Mabel Morales Gonzalez: <https://orcid.org/0009-0001-8352-1543>

Recibido 30 de noviembre 2025, Aceptado 10 enero 2026

Resumen

La contaminación por metales pesados representa una problemática ambiental creciente en México, donde la actividad industrial y minera ha contribuido a la acumulación de elementos tóxicos como Arsénico (As), cadmio (Cd) y plomo (Pb) en suelos y cuerpos de agua. Estos metales generan efectos adversos en la salud humana y en los ecosistemas, ya que no se degradan con facilidad y se acumulan en los ecosistemas. En este contexto, los microorganismos endófitos (bacterias y hongos que habitan los tejidos internos de las plantas de manera asintomática) han demostrado potencial aplicación como herramienta en biorremediación, gracias a su capacidad de tolerar y transformar metales pesados. En este estudio se seleccionó *Vachellia farnesiana* (Huizache) como planta hospedera debido a su amplia distribución y presencia en zonas impactadas por contaminantes. Se aislaron 9 bacterias endófitas a partir de hojas de Huizache de la zona de Potrero Chico (Hidalgo, Nuevo León). Se realizaron ensayos de tolerancia (capacidad de crecer en medio sólido) a Cd, Pb, y As en medios sólidos a diferentes concentraciones. La cepa endófitas de *Acinetobacter baumannii* fue la única cepa capaz de tolerar el Cd a 8 ppm. Mientras que *Acinetobacter baumannii*, *Klebsiella pneumoniae* y *Shigella* sp. mostraron tolerancia a 500 ppm de Pb, evidenciando su potencial uso en estrategias de biorremediación de ambientes contaminados por metales pesados.

Palabras clave: biorremediación; microorganismos endófitos; metales pesados; Huizache

Abstract

Heavy metal pollution represents a growing environmental issue in Mexico, where industrial and mining activities have contributed to the accumulation of toxic elements such as arsenic (As), cadmium (Cd), and lead (Pb) in soils and water bodies. These metals generate adverse effects on human health and ecosystems, as they do not easily degrade and tend to accumulate in the environment. In this context, endophytic microorganisms (bacteria and fungi that inhabit the internal tissues of plants asymptotically) have shown potential applications as tools for bioremediation due to their ability to tolerate and transform heavy metals. In this study, *Vachellia farnesiana* (Huizache) was selected as the host plant because of its wide distribution and presence in areas impacted by pollutants. Nine endophytic bacteria were isolated from Huizache leaves collected in the Potrero Chico area (Hidalgo, Nuevo León). Tolerance assays (growth capacity on solid medium) were performed for Cd, Pb, and As on solid media at different concentrations. The endophytic *Acinetobacter baumannii* strain was the only one capable of tolerating Cd at 8 ppm. Meanwhile, *A. baumannii*, *Klebsiella pneumoniae*, and *Shigella* sp. showed tolerance to 500 ppm of Pb, demonstrating their potential use in bioremediation strategies for environments contaminated with heavy metals.

Keywords: bioremediation; endophytic microorganisms; heavy metals; Huizache

1. Introducción

Las bacterias endófitas son microorganismos que habitan de forma natural en el interior de los tejidos vegetales —como hojas, tallos, raíces y flores— sin provocar daño aparente a su planta hospedera (1). Estas bacterias establecen una relación mutualista con las

plantas, ya que reciben nutrientes esenciales y le retribuyen produciendo metabolitos bioactivos para: el control de plagas y patógenos; estimular su crecimiento; o aumentar la tolerancia a condiciones adversas, como sequía, salinidad o deficiencia de nutrientes (2,3)

El potencial de las bacterias endófitas representa una

alternativa sostenible a las prácticas agrícolas convencionales, ya que reducen la dependencia de fertilizantes y pesticidas sintéticos. Además, cuentan con la capacidad para tolerar y reducir la toxicidad de metales pesados en suelos (1,4). Las bacterias endófitas pueden crecer en presencia de estos contaminantes empleando estrategias de biorremediación, como la biosorción (adsorción de metales pesados en su superficie) y la bioacumulación (almacenamiento intracelular de metales) reduciendo la toxicidad en los suelos (5). Esto representa una alternativa para la biorremediación del medio ambiente, lo que resulta en ecosistemas más saludables.

Particularmente, la contaminación por metales pesados es una problemática creciente en ciudades industrializadas como Monterrey y Ciudad de México. La actividad humana diaria (como el alto tráfico vehicular), industrial y la minería generan contaminantes como plomo (Pb), cadmio (Cd) y arsénico (As). Estos metales pueden ser absorbidos por vía inhalatoria, dérmica y por ingestión. La exposición constante a ellos está asociada con problemas respiratorios y cardiovasculares, así como un mayor riesgo de desarrollar diversos tipos de cáncer (6,7). Las técnicas tradicionales para remediar este tipo de contaminación son destructivas, costosas y poco sostenibles, lo que resalta la necesidad de soluciones más efectivas y ecológicas (4).

En este trabajo se seleccionó *Vachellia farnesiana* (Huizache) como potencial hospedera de bacterias endófitas al cumplir con los criterios establecidos en la literatura para aislar microorganismos endófitos (2,8)

1. Estrategias interesantes de supervivencia
2. Especies con historia etnobotánica
3. Plantas endémicas
4. Crecer en áreas biodiversas
5. Ser asintomáticas

Incorporar bacterias endófitas en actividades, como la agricultura, representan una alternativa para mitigar las problemáticas causadas por la contaminación generada por los metales pesados. El objetivo de este proyecto es aislar y realizar una identificación preliminar de bacterias endófitas de *V. farnesiana* y con potencial para biorremediación de metales pesados como Pb, Cd y As.

Además, este proyecto se alinea con Objetivos de Desarrollo Sostenible de la Agenda 2030, incluyendo el ODS 3 (Salud y bienestar), ODS 11 (Ciudades y comunidades sostenibles), ODS 12 (Producción y consumo responsable), ODS 13 (Acción por el clima) y ODS 15 (Vida y ecosistemas terrestres), promoviendo

prácticas agrícolas más sostenibles y saludables (Organización de las Naciones Unidas, 2025) (9).

2. Metodología

2.1. Aislamiento e identificación de las bacterias endófitas.

Se tomaron hojas sanas de 4 ejemplares de *Vachellia farnesiana*, debido a su alta disponibilidad y a que son tejidos expuestos a la contaminación por metales pesados en el aire. El muestreo fue realizado en Potrero Chico (Hidalgo, Nuevo León - 25.943102, -100.477148). El material vegetal fue transportado al laboratorio en bolsas tipo Ziploc®. El tejido vegetal fue lavado con agua corriente y agua destilada. En condiciones de esterilidad, se realizó una desinfección superficial sumergiendo las hojas en etanol al 70% (v/v) por 40 segundos y por 20 segundos en hipoclorito de sodio al 4% (m/v). El tejido vegetal fue lavado con agua destilada estéril después de cada etapa y posteriormente fue secado con papel adsorbente estéril. Se incubaron 100 µL del último lavado con agua para realizar un control de eficacia de la desinfección. El material vegetal se trituró en un mortero estéril con 5 mL de solución salina estéril para sembrar por dilución en placa, obteniendo diluciones 10^0 , 10^{-1} y 10^{-2} . Cada concentración se inoculó por triplicado y se inoculó en cajas de Petri con medio agar nutritivo (AN) suplementados con cicloheximida a 50 mg/L para inhibir el crecimiento fúngico. Las cajas fueron incubadas a 30 °C (10). Se identificaron colonias aisladas después de 18 horas de incubación y se resembraron para determinar su pureza. Después de esta resiembra se procedió a identificar las bacterias endófitas.

Se realizó tinción Gram para identificar la morfología de las bacterias. Las bacterias con morfología de bacilos y bacilos cortos Gram negativas se identificaron por las pruebas bioquímicas Indol, rojo metilo, Vogues Proskauer y citratos (IMViC). A las bacterias con morfología de cocos Gram positivas se identificaron por la prueba de catalasa y coagulasa (10).

2.2. Prueba de tolerancia a metales pesados.

Las pruebas de tolerancia se realizaron en medios de AN suplementados con los metales. Se preparó AN adicionado con las siguientes concentraciones: 300 ppm, 500 ppm y 1000 ppm de Pb; 3 ppm, 5 ppm y 8 ppm de Cadmio; y 5 ppm, 10 ppm y 15 ppm de As. Posteriormente se realizó la siembra por estría de la bacteria en cada uno de los metales, la cual provenía de cultivos de 18 – 24 h de crecimiento previo. Cada prueba se realizó por triplicado. Se determinó como: (-) inhibición, (+) tolerancia leve, (++) tolerancia moderada, (+++) tolerancia alta [14] al ser comparadas con un grupo control (sin exposición a metal) (8).

3. Resultados y discusión

3.1 Aislamiento e identificación de las bacterias endófitas.

A pesar de ser el primer trabajo del cual se aíslan bacterias endófitas de *V. farnesiana* resalta que la mayoría de los microorganismos aislados son bacilos y cocobacilos gram negativos de la familia de las enterobacterias (Tabla 1), lo cual tiene concordancia con la literatura, donde resalta esta familia de microorganismos como endófitos (11).

Tabla 1. Características morfológicas de las bacterias endófitas aisladas de *V. farnesiana*.

Bacteria	Morfología
Af-I	Cocobacilos Gram negativos
Af-II	Cocobacilos Gram negativos
Af-III	Bacilos Gram negativos
Af-IV	Bacilos Gram negativos
Af-V	Cocos Gram positivos
Af-VI	Bacilos Gram negativos
Af-VII	Coco Gram positivos
Af-VIII	Cocobacilos Gram negativos
Af-IX	Cocobacilos Gram negativos

Tabla 2. Resultados de las pruebas bioquímicas IMViC aplicadas a bacterias endófitas Gram negativas.

Bacteria	Indol	Móvil	H ₂ S	Citrato	LIA	RMVP
Af-I	(-)	(-)	(-)	(-)	DC	(-)
Af-II	(-)	(-)	(-)	(+)	(-)	VP
Af-III	(+)	(-)	(-)	(+)	DC	(-)
Af-IV	(+)	(+)	(-)	(-)	(-)	(-)
Af-VI	(+)	(-)	(-)	(-)	DC	(-)
Af-VIII	(+)	(-)	(-)	(+)	DA	(+)
Af-IX	(-)	(-)	(-)	(+)	DC	VP

LIA= Agar lisina hierro; RM/VP = rojo metilo/Vogues-Proskauer; (-) = negativo; (+) = positivo; DC = descarboxila; DA = desamina

Tabla 3. Identificación presuntiva de bacterias endófitas mediante pruebas bioquímicas

Bacteria	Posible especie
Af-I	<i>Acinetobacter</i> sp.
Af-II	<i>Klebsiella pneumoniae</i>
Af-III	<i>Providencia rettgeri</i>
Af-IV	<i>Morganella morganii</i>
Af-VI	<i>Shigella</i> sp.
Af-VIII	<i>Enterobacter cloacae</i>
Af-IX	<i>Klebsiella aerogenes</i>

Las bacterias endófitas coco Gram positivas (Af-V y Af-VII) dieron positivo a la prueba de catalasa y negativo a la prueba de coagulasa, por lo que son del género *Staphylococcus*.

Previo a cualquier aplicación, es fundamental identificar de forma exacta las bacterias mediante técnicas como la secuenciación. Ya que, algunos de los géneros identificados preliminarmente en las bacterias aisladas son de interés para la salud humana (12). Por lo tanto, es vital confirmar la ausencia de patogenicidad y de genes de resistencia a antibióticos en estas cepas, garantizando así su inocuidad ambiental.

3.2. Prueba de tolerancia a metales pesados.

El 30% de las cepas endófitas (n=3) presentó una alta tolerancia a 500 ppm de Pb y a 5 ppm de Cd. Mientras que el 55% (n=5) presentó una tolerancia alta a 15 ppm de As, siendo la mayor concentración de este metal empleada en este trabajo. En ningún caso se observó la producción de pigmentos. Por lo tanto, los metales mejor tolerados por la mayoría de las bacterias son Pb, Cd y As (Tablas 4, 5 y 6). Estos metales han sido reportados por su alta presencia en el área metropolitana de Monterrey, contribuyendo a su posible tolerancia (Guzmán-Velasco et al., 2021). Contrario al Zn, el cual está relacionado a la minería (6), la cual no es una actividad común en el estado de Nuevo León.

Tabla 4. Tolerancia de bacterias endófitas aisladas de *V. farnesiana* a diferentes concentraciones de plomo (Pb).

Bacteria	Concentración de plomo (ppm)		
	300	500	1000
Af-I	+++	+++	-
Af-II	+++	+++	-
Af-III	-	-	-
Af-IV	+++	+	-
Af-V	+++	-	.
Af-VI	+++	+++	-
Af-VII	+++	+	-
Af-VIII	+++	+	-
Af-IX	+++	-	-

Interpretación: (-) inhibición, (+) tolerancia leve, (++) tolerancia moderada, (+++) tolerancia alta.

Tabla 5. Tolerancia de bacterias endófitas aisladas de *V. farnesiana* a diferentes concentraciones de cadmio (Cd).

Bacteria	Concentración de cadmio (ppm)		
	3	5	8
Af-I	+++	+++	+
Af-II	+++	+++	-
Af-III	-	-	-
Af-IV	+	+	-
Af-V	+	+	-
Af-VI	+	+	-
Af-VII	++	++	-
Af-VIII	+++	+++	-
Af-IX	++	++	-

Interpretación: (-) inhibición, (+) tolerancia leve, (++) tolerancia moderada, (+++) tolerancia alta.

Tabla 6. Tolerancia de bacterias endófitas aisladas de *V. farnesiana* a diferentes concentraciones de arsénico (As).

Bacteria	Concentración de arsénico (ppm)		
	5	10	15
Af-I	+++	+++	+++
Af-II	+++	+++	+++
Af-III	-	-	-
Af-IV	++	++	+
Af-V	++	++	++
Af-VI	+++	+++	+++
Af-VII	+++	+++	+++
Af-VIII	+++	+++	+++
Af-IX	+	+	-

Interpretación: (-) inhibición, (+) tolerancia leve, (++) tolerancia moderada, (+++) tolerancia alta.

El resultado más destacado es que la cepa Af-I (*A. baumannii*) presentó una tolerancia a 500 ppm de Pb y a 8 ppm de Cd. Se ha atribuido la tolerancia a metales a bombas de eflujo y a la producción de biopelícula, las cuales pueden contribuir, a su vez, resistencia a los fármacos (13,14). Esto concuerda con los reportes de la OMS, en los cuales *A. baumannii* es una bacteria de importancia crítica por su resistencia a fármacos (12). Similar al caso de la bacteria Af-II (*K. pneumoniae*) la cual presentó tolerancia a 500 ppm de Pb y tolerancia alta a 5 ppm de Cd. Actualmente cepas de estas dos bacterias son de importancia clínica por su resistencia a fármacos (12). Otra bacteria destacada es Af-VI (*Shigella* sp.) la cual presentó tolerancia fuerte a 500 ppm de Pb y tolerancia leve a 5 ppm de Cadmio. Se han reportado que las cepas de esta bacteria se encuentran en prioridad alta por su resistencia a fármacos (12).

En la literatura se reporta que concentraciones cercanas a 100 ppm de Pb y 1 ppm de Cd empiezan a ser tóxicas para la mayoría de los microorganismos. Comparado con nuestros resultados, las bacterias endófitas de *V. farnesiana* toleran moderadamente algunos metales pesados, sobre todo Pb, Cd y As e incluso a concentraciones mayores a la LD₅₀ (8,15).

Las Figuras 1, 2 y 3 ilustran de manera representativa la capacidad de crecimiento de algunas bacterias endófitas aisladas en presencia de concentraciones elevadas de arsénico, plomo y cadmio, respectivamente. En la Figura 1 se observa el crecimiento de las cepas Af-I (*Acinetobacter baumannii*), Af-II (*Klebsiella pneumoniae*) y Af-IV (*Morganella morganii*) en medio sólido suplementado con 15 ppm de As, evidenciando una tolerancia alta, lo que sugiere la posible activación de mecanismos de resistencia como sistemas de eflujo o transformación metabólica del arsénico. En la Figura 2 se muestra el crecimiento de las cepas Af-IV, Af-V (*Staphylococcus* sp.) y Af-VI (*Shigella* sp.) a 300 ppm de

Pb, confirmando la elevada tolerancia al plomo observada en los ensayos semicuantitativos, particularmente en bacterias Gram negativas. Finalmente, la Figura 3 evidencia que las cepas Af-I, Af-II y Af-III presentan crecimiento en presencia de 5 ppm de Cd, aunque con diferentes niveles de tolerancia, siendo *A. baumannii* la única capaz de crecer a concentraciones mayores de este metal. En conjunto, estas observaciones visuales respaldan los resultados tabulados y refuerzan el potencial de las bacterias endófitas de *V. farnesiana* como candidatas para aplicaciones de biorremediación en ambientes contaminados por metales pesados.

Los resultados evidencian la capacidad de las bacterias endófitas de *V. farnesiana* para tolerar Pb, As y Cd. Lo que las convierte en una potencial herramienta para mitigar la contaminación.

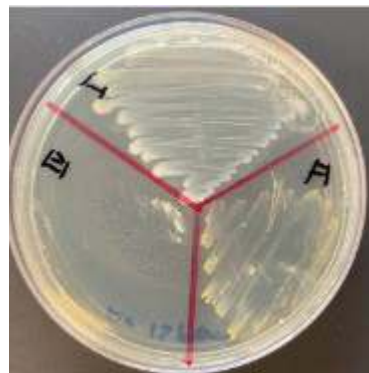


Figura 1. Crecimiento de las bacterias endófitas Af-I (*Acinetobacter baumannii*), Af-II (*Klebsiella pneumoniae*) y Af-IV (*Morganella morganii*) en medio agar nutritivo suplementado con 15 ppm de arsénico (As).



Figura 2. Crecimiento de las bacterias endófitas Af-IV (*Morganella morganii*), Af-V (*Staphylococcus* sp.) y Af-VI (*Shigella* sp.) en medio agar nutritivo suplementado con 300 ppm de plomo (Pb).



Figura 3. Crecimiento de las bacterias endófitas Af-I (*Acinetobacter baumannii*), Af-II (*Klebsiella pneumoniae*) y Af-III (*Providencia rettgeri*) en medio agar nutritivo suplementado con 5 ppm de cadmio (Cd).

4. Conclusiones

Las bacterias endófitas aisladas de las hojas de *V. farnesiana* presentan tolerancia a plomo, cadmio y arsénico, mostrando crecimiento en presencia de estos metales, incluso a concentraciones superiores a los niveles reportados como letales para bacterias en otros estudios. Estos resultados son altamente prometedores para su posterior estudio sobre su posible uso como herramienta biotecnológica para la biorremediación. Estos microorganismos serán posteriormente analizados por secuenciación de su gen 16s ribosomal, el cual indudablemente nos dirá género y especie de cada bacteria, homologando con los resultados obtenidos por las pruebas bioquímicas (10).

5. Agradecimientos

Los autores agradecen a la UANL por su apoyo a través del programa ProACTI (clave de proyecto: 6-BYQ-2024). GSM agradece a la SECIHTI por la beca otorgada (Número de CVU: 1231595).

6. Referencias

- Watts D, Palombo EA, Jaimes Castillo A, Zaferanloo B. Endophytes in Agriculture: Potential to Improve Yields and Tolerances of Agricultural Crops. *Microorganisms*. 2023 May 1;11(5). doi:10.3390/microorganisms11051276
- Strobel G, Daisy B. Bioprospecting for Microbial Endophytes and Their Natural Products. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*. 2003 Dec;67(4):491–502. doi:10.1128/mmbr.67.4.491-502.2003 PubMed PMID: 14665674.
- Yadav G, Meena M. Bioprospecting of endophytes in medicinal plants of Thar Desert: An attractive resource for biopharmaceuticals. *Biotechnology Reports*. 2021 Jun 1;30(e00629):1–30. doi:10.1016/j.btre.2021.e00629
- Sharma P, Kumar S. Bioremediation of heavy metals from industrial effluents by endophytes and their metabolic activity: Recent advances. *Bioresour Technol*. 2021;339(125589).
- Rajkumar M, Ae N, Freitas H. Endophytic bacteria and their potential to enhance heavy metal phytoextraction. *Chemosphere*. 2009 Sep 1;77(2):153–60. doi:10.1016/J.CHEMOSPHERE.2009.06.047 PubMed PMID: 19647283.
- Aguilera A, Bautista F, Gutiérrez-Ruiz M, Cenicerós-Gómez AE, Cejudo R, Goguitchaichvili A. Heavy metal pollution of street dust in the largest city of Mexico, sources and health risk assessment. *Environ Monit Assess*. 2021 Apr 1;193(4). doi:10.1007/s10661-021-08993-4 PubMed PMID: 33723965.
- Guzmán-Velasco A, Ramírez-Cruz JI, Ruiz-Aymá G, Rodríguez-Sánchez IP, Garza-Ocañas L, Treviño-Alvarado VM, et al. Great-tailed Grackles (*Quiscalus mexicanus*) as Biomonitors of Atmospheric Heavy Metal Pollution in Urban Areas of Monterrey, Mexico. *Bull Environ Contam Toxicol*. 2021 Jun 1;106(6):983–8. doi:10.1007/s00128-021-03250-3 PubMed PMID: 33963874.
- Salazar-Ramírez G, Flores-Vallejo RDC, Rivera-Leyva JC, Tovar-Sánchez E, Sánchez-Reyes A, Mena-Portales J, et al. Characterization of fungal endophytes isolated from the metal hyperaccumulator plant *vachellia farnesiana* growing in mine tailings. *Microorganisms*. 2020 Feb 1;8(2). doi:10.3390/microorganisms8020226
- Organización de las Naciones Unidas. Objetivos y metas de desarrollo sostenible . 2025. 17 objetivos para transformar nuestro mundo.
- Kandasamy GD, Kathirvel P. Insights into bacterial endophytic diversity and isolation with a focus on their potential applications –A review. *Microbiol Res*. 2023 Jan 1;266. doi:10.1016/j.micres.2022.127256 PubMed PMID: 36410317.
- Mahlangu SG, Tai SL. Morphological and molecular characterization of bacterial endophytes from *Centella asiatica* leaves. *Journal of Genetic Engineering and Biotechnology*. 2022 Dec 1;20(1). doi:10.1186/s43141-022-00456-8

12. Organización Mundial de la Salud. Comunicados de Prensa. 2024. La OMS pone al día la lista de bacterias farmacorresistentes más peligrosas para la salud humana.
13. Nnanji ND, Anyanwu CU, Miri T, Onyeaka H. Mechanisms of Heavy Metal Tolerance in Bacteria: A Review. *Sustainability* (2071-1050). 2024 Dec;16(16):11124–46.
14. Silver S. Bacterial resistances to toxic metal ions - a review. *Gene*. 1996 Jan 1;179(1):9–19. doi:10.1016/S0378-1119(96)00323-X PubMed PMID: 8991852.
15. Wanjala MP, Odokuma L, Etela I, Ramkat R, Odogwu BA, Boadu KO. Evaluation of the Effects of Cadmium in Soil on the LC50 of Soil Bacteria and Fungi for Environmental Monitoring. *Journal of Applied Sciences and Environmental Management*. 2021 Nov 5;25(6):1025–32. doi:10.4314/jasem.v25i6.21