



BENEMÉRITA UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE PUEBLA

FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS

IMPACTO DEL GÉNERO *Bacillus* EN LA
BIORREMEDIACION DE METALES PESADOS

Tesis presentada para obtener el grado de
LICENCIADO EN BIOLOGÍA

PRESENTA:

CARMELO HERNANDEZ CARICIO

DIRECTORES:

DR. JOSE ANTONIO MUNIVE HERNANDEZ

DRA. NORA HILDA ROSAS MURRIETA

Mayo de 2022



Agradecimientos

Deseo expresar mi agradecimiento a todas las personas, así como a los organismos que me han ayudado y han hecho posible la realización del presente trabajo.

A la Dra. Nora Hilda Rosas Murrieta y al Dr. Jose Antonio Munive Hernandez por su ayuda, paciencia y dedicación a lo largo de este trabajo.

A mi familia por su gran apoyo incondicional durante tantos años.

A mis amigos por acompañarme en este proceso.

ÍNDICE

ABREVIATURAS	1
RESUMEN	3
INTRODUCCIÓN	4
JUSTIFICACIÓN	6
OBJETIVOS	7
MÉTODOS	8
RESULTADOS	11
CAPÍTULO I	11
I. METALES PESADOS	15
I.I FUENTES NATURALES DE METALES PESADOS	15
CAPÍTULO II	23
II. FUENTES ANTROPOGÉNICAS DE METALES PESADOS	23
II.I METALES PESADOS Y LA HUMANIDAD A LO LARGO DE LA HISTORIA	23
II.II CONTAMINACIÓN POR METALES PESADOS	30
II.III CONTAMINACIÓN DE METALES PESADOS EN LA AGRICULTURA	31
II.IV CONTAMINACIÓN DE METALES PESADOS EN ZONAS INDUSTRIALES	33
CAPÍTULO III	35
III. EFECTOS DE METALES PESADOS EN LOS SERES VIVOS	35
CAPÍTULO IV	46
IV. MÉTODOS CONVENCIONALES PARA LA ELIMINACIÓN DE METALES PESADOS	46
CAPÍTULO V	51
V. PROCESOS BIOLÓGICOS: BIORREMEDIACIÓN	51
V.I BIOLIXIVIACIÓN	52
V.II BIOSORCIÓN	53
V.III BIOAUMENTACIÓN	55

V.IV BIOESTIMULACIÓN	56
V.V BIOPILAS	56
V.VI BIOACUMULACIÓN	57
V.VII BIORREMEDIACIÓN CON HONGOS	58
V.VIII FITORREMEDIACIÓN	60
CAPÍTULO VI.....	67
V.I EL GÉNERO <i>BACILLUS</i>	67
VI.II APLICACIONES BIOTECNOLÓGICAS DE LAS BACTERIAS DEL GÉNERO <i>BACILLUS</i>	72
VI.III APLICACIÓN DEL GÉNERO <i>BACILLUS</i> EN BIORREMEDIACIÓN.....	76
VI.III.I MECANISMOS DE BIORREMEDIACIÓN DE METALES PESADOS IMPLEMENTADOS POR ORGANISMOS PERTENECIENTES AL GÉNERO <i>BACILLUS</i>	77
VI.III.II APLICACIÓN DEL GÉNERO <i>BACILLUS</i> EN BIORREMEDIACIÓN: CONTAMINACIÓN CON METALES PESADOS EN SUELO	80
DISCUSIÓN	94
CONCLUSIÓN	98
REFERENCIAS.....	99

ÍNDICE DE TABLAS

TABLA 1. TÉRMINOS EMPLEADOS PARA LA REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA.....	8
TABLA 2. DENSIDAD Y CONCENTRACIONES DE METALES PESADOS	12
TABLA 3. GRADOS DE CONTAMINACIÓN DE LOS SUELOS CON BASE EN EL ÍNDICE DE GEOACUMULACIÓN.....	16
TABLA 4. CARACTERÍSTICAS DE LOS HORIZONTES DEL SUELO.....	17
TABLA 5. FACTORES FORMADORES DE SUELO Y SUS COMPONENTES ...	18
TABLA 6. CONTENIDO DE METALES Y METALOIDES EN ROCAS ÍGNEAS Y SEDIMENTARIAS EXPRESADO EN MG·KG ⁻¹	21
TABLA 7. VALORES ESTÁNDAR REGULATORIOS DE CONCENTRACIONES DE METALES PESADOS EN LA AGRICULTURA	32
TABLA 8. CONCENTRACIÓN DE REFERENCIA DE METALES PESADOS EN SUELO DE USO INDUSTRIAL EN MÉXICO	34
TABLA 9. CONCENTRACIONES TOLERABLES DE METALES PESADOS EN AGUA.....	36
TABLA 10. DOSIS DE REFERENCIA DE INGESTA ORAL PARA METALES PESADOS Y ALGUNOS EFECTOS SOBRE LA SALUD.....	37
TABLA 11. COMPARACIÓN EN COSTOS EN PROCESOS DE REMEDIACIÓN	51
TABLA 12. CONCENTRACIONES DE METALES PESADOS EN ÓRGANOS ÁEREOS EN PLANTAS HIPERACUMULADORAS	63
TABLA 13. EFICACIA EN LA REMOCIÓN DE METALES PESADOS POR CEPAS DEL GÉNERO <i>BACILLUS</i>	81

ÍNDICE DE FIGURAS

FIGURA 1. DIAGRAMA DE FLUJO PRISMA.....	10
FIGURA 2. EVOLUCIÓN DE LAS TÉCNICAS DE FUNDICIÓN	25
FIGURA 3. DESORCIÓN TÉRMICA.....	47
FIGURA 4. MECANISMOS PARTICIPES EN ELECTORREMEDIACIÓN	48
FIGURA 5. COAGULACIÓN-FLOCULACIÓN.....	49
FIGURA 6. PROCESO DE BIOLIXIVIACIÓN.....	53
FIGURA 7. BIOSORCIÓN DE PB POR RAQUIS DE MAÍZ	54
FIGURA 8. PARTES DE UNA BIOPILA.....	58
FIGURA 9. PRINCIPALES ÓRGANOS EN LOS QUE SE ACUMULAN METALES PESADOS EN PLANTAS.....	61
FIGURA 10. ÁRBOL FILOGENÉTICO DEL GÉNERO <i>BACILLUS</i>	70
FIGURA 11. CLASIFICACIÓN GENÓMICA DEL GÉNERO <i>BACILLUS</i> Y DENOTACIÓN DE GRUPOS	71
FIGURA 12. ÁCIDO FÚLVICO COMO EPS ANTE ZN (II).....	78
FIGURA 13. ACTIVIDAD DE PROTEÍNAS PRODUCTO DEL OPERON <i>MER</i> EN LA RESISTENCIA SISTÉMICA A HG	79

ABREVIATURAS

ACC	1-aminociclopropano-1-carboxilico
Ag	Plata
AgNO ₃	Nitrato de plata
Al	Aluminio
As (III)	Arsenito
As (V)	Arseniato
As	Arsénico
As ₄ S ₄	Rejalgar
Au	Oro
Ba	Bario
C	Carbono
C ₂ H ₅ HgCl	Etil mercurio
Ca	Calcio
Cd	Cadmio
CH ₃ HgCl	Metil mercurio
Co	Cobalto
Cr	Cromo
Cu	Cobre
Fe	Hierro
Hg	Mercurio
HgCl ₂	Cloruro de mercurio
HgS	Cinabrio
IAA	Ácido indol-3-acético
I _{geo}	Índice de geoacumulación
Ir	Iridio

K.....	Potasio
Mg	Magnesio
Mn	Manganeso
Mo	Molibdeno
N.....	Nitrógeno
Na.....	Sodio
Nb.....	Niobio
Ni.....	Níquel
O	Oxígeno
P.....	Fosforo
Pb.....	Plomo
Pd.....	Paladio
Pt.....	Platino
Rh.....	Rodio
Ru.....	Rutenio
Sb.....	Antimonio
Se.....	Selenio
Si.....	Silicio
Sn.....	Estaño
Th.....	Torio
Ti.....	Titanio
Tl.....	Talio
U.....	Uranio
V.....	Vanadio
W.....	Tungsteno
Zn.....	Zinc
Zr.....	Circonio

RESUMEN

El término metales pesados se refiere al grupo de metales y metaloides caracterizados por una masa atómica mayor a $5 \text{ g}\cdot\text{cm}^{-3}$ y sus efectos tóxicos. Los metales pesados son elementos naturales de la corteza terrestre, su distribución es dada por fuentes geogénicas. Los metales pesados son de suma importancia para el mundo moderno, requeridos en grandes cantidades por la sociedad actual, la contaminación por metales pesados involucra el transporte de estos por diversas actividades antropogénicas entre las que encontramos a la agricultura, minería, fundiciones, plantas de energía y diversas industrias como la petroquímica, textil o de componentes electrónicos. El género *Bacillus* ha sido foco de atención para diferentes áreas entre las que encontramos a la medicina, agricultura e industria, cabe resaltar que especies del género han demostrado potencial en procesos de biorremediación de metales pesados. Esta revisión tuvo como objetivo identificar mediante una revisión bibliográfica el impacto del género *Bacillus* en la biorremediación de metales pesados. Se ha reportado la capacidad de *Bacillus infantis* con la capacidad de oxidar en 96% As (III) a As (V), reducción de [Co (III)-EDTA]⁻ un desecho nuclear a [Co (II)-EDTA]⁻² por parte de *Bacillus licheniformis*, la producción de sustancias poliméricas extracelulares de *Bacillus subtilis* para la reducción de un 93.5% de Cr (VI) a Cr (III), biosorción del 99% de Mn (II) por *Bacillus cereus*, o el apoyo en la fitorremediación brindado por *Bacillus litoralis* o *Bacillus cereus*. Con esta revisión se puede aseverar que el género *Bacillus* es una potencial bioherramienta para el tratamiento de metales pesados debido a las diversas estrategias para la tolerancia y reducción del impacto negativo de estos contaminantes sobre el ambiente.

INTRODUCCIÓN

Los metales pesados se encuentran naturalmente en la materia parental del suelo (Alloway, 2013a), son categorizados como contaminantes ambientales por los efectos tóxicos en la flora y fauna (Kumar & Agrawal, 2005). La contaminación por metales pesados ha incrementado en el medio a nivel mundial por el uso desmedido para el desarrollo humano, causando alteraciones geoquímicas y bioquímicas (Dixit *et al.*, 2015) resultando en el deterioro del ambiente. Los metales pesados en el suelo tienen diversas fuentes de origen, entre las que se encuentran deposición atmosférica, desechos industriales, minería, metalurgia, pesticidas y fertilizantes. Con el aumento de casos de contaminación de no solo un tipo de metal, sino por complejos de diferentes metales, aunado a esto la contaminación por metales pesados es incoloro e inolora, lo que dificulta su identificación (Su *et al.*, 2014).

La contaminación con metales pesados en suelo influye en su fertilidad, reducen la producción de cultivos, provoca daño metabólico en plantas (Sharma *et al.*, 2020a), afecta las redes tróficas por la translocación de metales pesados en plantas (Mignorance *et al.*, 2007), las cuales posteriormente son ingeridas por animales, lo que lleva a los sectores agrícola (Gonçalves Jr. *et al.*, 2011; Nacke *et al.*, 2013) y ganadero (Sabuwa *et al.*, 2019) como potencial fuente de metales pesados para los seres humanos. Las zonas de minería, forja y fundición de metales provocan una amplia variedad de desechos con altas concentraciones de metales pesados, que aun con años de cese de actividades, puedan generar enfermedades debido a la ingesta de pequeñas partículas de suelo contaminado (Bosso & Enzweiler, 2008).

Las altas concentraciones de metales pesados alteran la salud, como arsénico que se relaciona con riesgo de cáncer en vejiga, riñón, hígado, pulmones, piel y próstata, además de enfermedades cardiovasculares (Chen *et al.*, 2003a; Chen *et al.*, 2003b; Moon *et al.*, 2012; Quansah *et al.*, 2015); cadmio que provoca daños renales, hepáticos y en huesos, aumento del riesgo de cáncer de pulmón y riñón (Inaba *et al.*, 2005; Hartwig, 2013; Hyder *et al.*, 2013); plomo con efectos en sistema nerviosos, óseo y hematológico (Kobayashi *et al.*, 2010; Monnot *et al.*, 2015).

La biorremediación consiste en el uso de técnicas para el tratamiento de compuestos y medios de desechos para la desintoxicación de ambientes contaminados mediante la actividad de microorganismos (Juwarkar *et al.*, 2010) o sus derivadas, por medio de la degradación de contaminantes a formas menos tóxicas (Tekere, 2019), es un proceso eficaz y confiable de índole ecológico (Azubuike *et al.*, 2016). El género *Bacillus* es de gran importancia en agricultura, industria y medicina (Logan & de Vos, 2009), como bacterias promotoras de crecimiento (Lastochkina *et al.*, 2019), como biocontrol (Caulier *et al.*, 2018), producción de probióticos (Celandroni *et al.*, 2019), producción de vitaminas (Mohammed *et al.*, 2014). Este género dispone de la capacidad de producir una variedad de metabolitos secundarios con diferentes fines, entre ellos presenta la capacidad para degradar petroquímicos (Kim, 2014), desechos de la industria papelera (Salem *et al.*, 2014), metales pesados del ambiente (Bakiyaraj *et al.*, 2014).

JUSTIFICACIÓN

Los metales pesados han sido fundamentales para el desarrollo de la humanidad a lo largo de la historia y lo siguen siendo actualmente. La contaminación por metales pesados en el mundo es un problema creciente, debido a actividades antropogénicas en las que se ven presentes como agricultura, minería, fundiciones, plantas de energía o desechos de industriales. Aunque algunos de los metales pesados son necesarios para el desempeño de diversos procesos biológicos, como el metabolismo de proteínas, cofactores de enzimas, donadores de electrones, entre otros; mas también se encuentran involucrados con efectos negativos para la salud, como cáncer en piel, pulmón, riñón, próstata, mama, daños cardiovasculares, deterioro neurológico, daño hepático, entre otros. Los metales pesados son difíciles de eliminar del medio ambiente, aunque actualmente existen diversas técnicas para la remediación de suelos contaminados con metales pesados, mas estas son costosas y en muchos casos solo se refieren al traslado de un punto a otro sin la transformación a especies menos tóxicas o capturas eficaces de los metales pesados. El género *Bacillus* presenta diversas especies han sido utilizados en distintas actividades como agricultura, medicina, industria e inclusive la biorremediación de diversos desechos. Por esto, este trabajo se realizó con la finalidad de mostrar el potencial del género *Bacillus* en la biorremediación de metales pesados, de manera más económica y amigable con el ambiente en comparación a otras técnicas empleadas.

OBJETIVOS

Objetivo general

Identificar mediante una revisión bibliográfica el impacto del género *Bacillus* en la biorremediación de metales pesados.

Objetivos específicos

- I. Identificar en que escenarios se genera la contaminación por metales pesados.
- II. Mostrar el efecto de los metales pesados en el ambiente.
- III. Mostrar el efecto de los metales pesados en la salud.
- IV. Describir los diferentes métodos de biorremediación.
- V. Presentar las estrategias involucradas en el proceso de biorremediación de metales pesados efectuadas por el género *Bacillus*.
- VI. Estimar el potencial del género *Bacillus* en procesos de biorremediación de metales pesados en suelos.

MÉTODOS

En este trabajo se realizó una revisión de la literatura científica en las bases de datos de Springer, ScienceDirect, Science, Nature, Jstore, EBSCO, PubMed y Google Scholar, los términos utilizados se enlistan en la **Tabla 1**, los artículos incluidos fueron seleccionados en dependencia de su relación con los objetivos específicos.

Tabla 1.

Términos empleados para la revisión bibliográfica

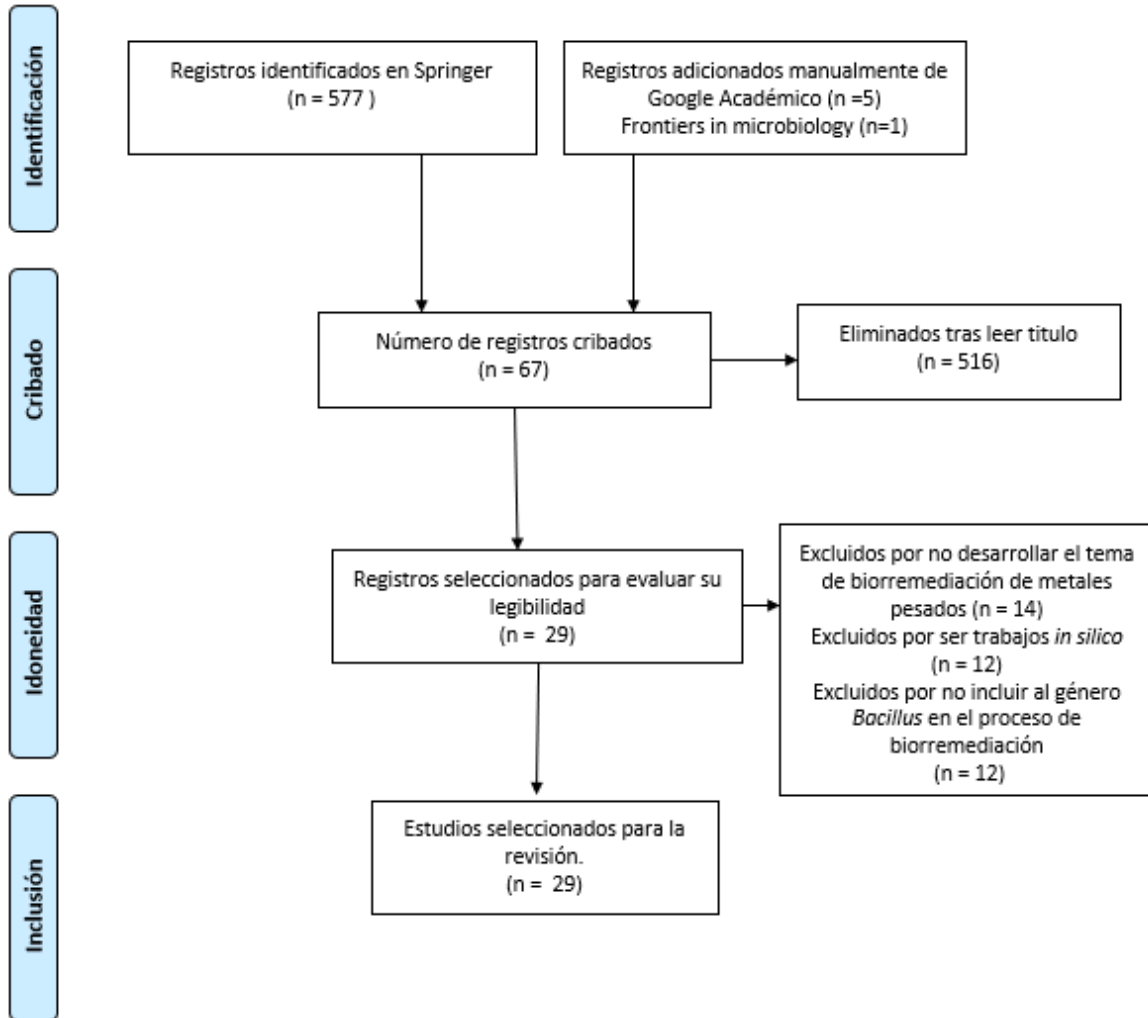
Objetivo específico	Término
Identificar en que escenarios se genera la contaminación por metales pesados.	“Heavy metals”, “Bioremediation”, “Soil”, “Geoaccumulation index”, “soil forming factors”, “Soil profile”, “Heavy metal source”, “Heavy metals history”, “Heavy metals pre-columbian history”, “Metales pesados historia precolombina”, “Heavy metals agriculture”, “Heavy metals industrial”.
Mostrar el efecto de los metales pesados en el ambiente	“Heavy metal in the environment”, “Heavy metal concentration agriculture”, “US EPA”,
Mostrar el efecto de los metales pesados en la salud.	“Arsenic disease”, “As disease”, “Cadmium disease”, “Cd disease”, “Chrome disease”, “Cr disease”, “Mercury disease”, “Hg disease”, “Lead disease”, “Pb disease”, “Selenium disease”, “Se disease”, “Zinc disease”, “Zn disease”, “Antimony disease”, “Sb disease”, “Silver disease”, “Ag disease”, “Thallium disease”, “Tl disease”, “Vanadium disease”, “V disease”.
Describir los diferentes métodos de biorremediación.	“Bioremediation”, “Bioleaching”, “Biosorption”, “Bioaugmentation”, “Biostimulation”, “Biopiles”, “Bioaccumulation”, “Bioremediation fungi”, “Phytoremediation”, “Phytoextraction”, “Rhizofiltration”, “Phytostabilization”, “Phytovolatilization”.

Presentar las estrategias involucradas en el proceso de biorremediación de metales pesados efectuadas por el género <i>Bacillus</i> .	“ <i>Bacillus</i> growth promoter”, “ <i>Bacillus</i> biocontrol”, “ <i>Bacillus</i> industrial”, “ <i>Bacillus</i> disease”, “ <i>Bacillus</i> bioremediation”, “ <i>Bacillus</i> heavy metals”.
Estimar el potencial del género <i>Bacillus</i> en procesos de biorremediación de metales pesados en suelos.	“ <i>Bacillus</i> AND Bioremediation AND Soil AND Heavy Metals AND NOT (Water AND Air)”.

Debido a que el apartado de “Aplicaciones del género *Bacillus* en biorremediación: contaminación con metales pesados en el suelo” es el tema central de este trabajo, la búsqueda se realizó siguiendo el diagrama de flujo de la matriz PRISMA de (Moher *et al*, 2009) para la búsqueda sistemática de información, exceptuando el apartado de riesgo de sesgo de estudios. La búsqueda se realizó en noviembre de 2021, en la base de datos de Springer con la siguiente formula: *Bacillus* AND *Bioremediation* AND *Soil* AND *Heavy Metals* AND NOT (*Water* AND *Air*), desarrollada en Springer con el uso de operadores booleanos. La búsqueda se delimito al periodo de publicación desde 2011 a 2021, se excluyeron capítulos de libros, revisiones y artículos sobre tolerancia sin efectos de reducción de las concentraciones de metales en el medio. Solo se incluyeron artículos relacionados con la biorremediación de suelos contaminados con metales pesados, ya sea porque el proceso se realizó en suelo o porque los organismos de interés fueron aislados a partir de suelo. La búsqueda arrojó 577 resultados, con la lectura del título se eliminaron 510 articulo, restando 61 artículos adecuados. Se procedió a la lectura de los resúmenes y con la información obtenida se descartaron 38 artículos, principalmente por ser trabajos que no desarrollan el tema de biorremediación en metales pesados (n=14), ser trabajos *in silico* (n=12) o no incluyen al género *Bacillus* en el proceso de biorremediación (n=12). 23 artículos cumplieron con los criterios de inclusión. Se implemento una búsqueda manual con la finalidad de indagar en la biorremediación por *Bacillus* en metales no encontrados con la ecuación de búsqueda de Springer, de esta manera se agregaron cinco artículos buscados en Google Académico, dos referentes a cobalto, uno para selenio, manganeso y antimonio respectivamente, se agregó un artículo más ejemplificando un trabajo realizado en México (*Frontiers in microbiology*).

Figura 1.

Diagrama de flujo PRISMA.



Nota. Adaptado de “Preferred reporting items for systematic reviews and meta-analyses: the PRISMA statement”, por D. Moher, A. Liberati, J. Tetzalaff, D. G. Altman y The PRISMA Group, 2009, *PLoS Med* 6 (7). doi:10.1371/journal.pmed1000097

RESULTADOS

CAPÍTULO I

I. Metales pesados

Con la finalidad de introducir al lector en materia de contaminación con metales pesados, se presenta en las siguientes líneas generalidades de los metales pesados, fuentes naturales de metales pesados en el suelo, así como características de este último para poder describir los escenarios en los que se genera la contaminación con estos contaminantes.

Comúnmente se ha utilizado el término “metales pesados” para referirse al grupo de metales y metaloides con una masa atómica relativamente alta, mayor a $5 \text{ g}\cdot\text{cm}^{-3}$ (Kumar & Agrawal, 2005; Gooch, 2011; Alloway, 2013b); aunque muchos autores los han designado como “metales tóxicos” o “metales traza”. El término de metales pesados comúnmente es usado en un sentido negativo, como metales dañinos que contaminan y deterioran el ambiente; aunque cabe resaltar el hecho que varios de estos metales son esenciales para plantas y animales. En este grupo encontramos como los más importantes ambientalmente (**Tabla 2**) al arsénico (As), cadmio (Cd), cromo (Cr), cobalto (Co), cobre (Cu), mercurio (Hg), plomo (Pb), manganeso (Mn), níquel (Ni), selenio (Se), zinc (Zn). Otros elementos menos abordados pero importantes en el ambiente son antimonio (Sb), oro (Au), molibdeno (Mo), plata (Ag), talio (Tl), estaño (Sn), tungsteno (W), uranio (U) y vanadio (V). Se resalta que elementos como As, Sb y Se, aunque en apariencia o en propiedades son similares a los metales, químicamente no son metales, y son llamados metaloides. Aquellos elementos que son requeridos por los organismos en concentraciones bajas en la materia seca de los organismos (menor que 100 mg/Kg) son llamados oligoelementos o elementos traza, en cuya clasificación podemos encontrar a varios de los metales pesados mencionados (He *et al.*, 2005; Alloway, 2013b).

Tabla 2.*Densidad y concentraciones de metales pesados.*

Nombre	Símbolo	Número atómico	Densidad (g·cm⁻³)^a	Rango de concentraciones en suelos no contaminados (ppm)^b	Concentración permitida en la agricultura (ppm)^b	Niveles tóxicos para plantas (ppm)^b
Arsénico	As	33	5.75	<1-95	2	1-20
Cadmio	Cd	48	8.69	0.06-1.1	5	10-20
Cromo	Cr	24	7.15	5-120		60-247
Cobalto	Co	27	8.86	0.1-70		30-40
Cobre	Cu	29	8.96	13-14	100	5-1500
Mercurio	Hg	80	13.53	0.04-0.4	0.142	0.5-1
Plomo	Pb	82	11.4	3-189	70	100-500
Manganeso	Mn	25	7.3	5-525	1500	
Níquel	Ni	28	8.9	0.2-450		40-246
Selenio	Se	34	4.8 ^c	0.25-0.37	0.7	2<
Zinc	Zn	30	7.13	17-125	100	150-500
Antimonio	Sb	51	6.68	0.05-4		
Oro	Au	79	19.3	0.0006-0.02		0.1-0.5
Molibdeno	Mo	42	10.2	0.013-17		135
Plata	Ag	47	10.5	0.03-0.4	0.4	
Talio	Tl	81	11.8	0.02-2.8	0.05	2-5
Estaño	Sn	50	7.28	1.1-4.6	50	80-300
Tungsteno	W	74	19.3	0.68-2.7	2.7	
Uranio	U	92	19.1			
Vanadio	V	23	6.0	18-115	2	3<
Hierro	Fe	26	7.87		500	

Nota. ^aRoyal Society of Chemistry (sin fecha), ^b Kabata-Pendias (2001), ^c En 1964, Anon propuso la inclusión de metales pesados con densidad mayor a $4 \text{ g}\cdot\text{cm}^{-3}$ (Nieboer & Richardson, 1980).

Existen diferentes fuentes de metales pesados, entre las que encontramos fuentes geogénicas, industriales, farmacéuticas, efluentes domésticos, fuentes atmosféricas y agricultura. Aunque los metales pesados son elementos naturales encontrados en la corteza terrestre, se ven relacionados con fenómenos naturales como meteorización o erupciones volcánicas (Tchounwou *et al.*, 2012). La contaminación por metales puede ocurrir en áreas extensas o localizadas. Para que se produzca la contaminación del suelo por metales pesados, estos deben ser transportados desde su fuente de origen hasta el suelo. Los metales pesados pueden ser transportados a través de corrientes de aire capaces de movilizar partículas de polvo (partículas del tamaño de aerosoles menores a $30 \mu\text{m}$), incluso algunos se transportan en forma gaseosa como el Hg. Las corrientes de agua arrastran metales pesados en pendientes, suelos aluviales (Alloway, 2013a), y ambientes costeros como manglares y océanos (Ranjan *et al.*, 2018). Los metales pesados también pueden moverse por el deslave de rocas ricas en estos elementos o por dispersión de fertilizantes con concentraciones elevadas de metales pesados.

Las concentraciones de metales pesados en el suelo se pueden dividir en “total” y en “disponible”. El primero incluye todas las formas del elemento en el suelo, como iones unidos a estructuras cristalinas de minerales, ligados en materia orgánica en estado sólido, iones libres o complejos inorgánicos e inorgánicos solubles en la solución del suelo. Los segundos se refieren a la porción del elemento presentes como iones libres, complejos solubles o en formas fácilmente desorbibles, siendo potencialmente disponibles para plantas (Alloway, 2013a). Los cambios en las condiciones físicas y químicas del suelo pueden modificar la disponibilidad de los metales pesados presentes en estos debido al cambio en su especiación química y su distribución, haciéndolos disponibles hasta alcanzar niveles tóxicos (Jena *et al.*,

2013). La disponibilidad de los metales es influenciada por procesos químicos y bioquímicos del suelo (He *et al.*, 2005).

Para calcular la concentración total de un metal en el suelo, se suman todos los suministros de éste en el suelo, tomando en cuenta la pérdida por remoción de cultivos, erosión del suelo, lixiviados y volatilización, como se puede ver en la siguiente fórmula:

$$M_{total} = (M_{mp} + M_{atm} + M_{ds} + M_f + M_{aq} + M_{mt} + M_{mo} + M_{ci}) - (M_{rc} + M_e + M_l + M_v)$$

En donde *M* es metal, *mp*=materia parental, *atm*=disposición atmosférica, *ds*=depósitos de sedimentos, *f*=fertilizantes, *aq*=agroquímicos, *mt*=material tecnogénico, *mo*=materia orgánica, *ci*=contaminantes inorgánicos, *rc*=remoción de cultivos, *e*=erosión del suelo, *l*=lixiviados, *v*=volatilización (Alloway, 2013a).

La toxicidad de metales pesados en el suelo depende del pH, temperatura, aniones y cationes inorgánicos, minerales de arcilla, óxidos metálicos hidratados, forma y cantidad de materia orgánica, así como el estado químico en el cual se encuentre (Kummar & Agrawal, 2005; Friedlova, 2010). La solubilización de metales pesados debido es dependiente del pH debido a que la mayoría de los metales pesados son solubles a niveles de pH bajo, con mayor concentración de protones que reemplazan a los metales pesados absorbidos en el sedimento (Chen & Lin, 2001), con la excepción de As, Mb, Se y Cr los cuales son disponibles a pH alcalino (Galán & Romero, 2008). El potencial redox influye en la solubilidad de metales puesto que determina si el metal se encuentra oxidado o reducido (Bourg & Loch, 1995; Galán & Romero, 2008). Los suelos arcillosos son quienes retienen mejor a metales en comparación con limos, en cambio los suelos arenosos no poseen capacidad de fijación con ello se puede contaminar la capa freática. La materia orgánica influye debido a que pueden formar complejos con metales pesados estabilizándolos o formando quelatos estables, aunque también se pueden formar complejos organometálicos con mayor solubilidad. Otro factor es la presencia de carbonatos

quien mantiene el pH alto; óxidos e hidróxidos de Fe y Mn que tienen alta capacidad para unirse a metales como Cu y Pb (Galán & Romero, 2008).

Para evaluar el grado de contaminación del suelo por metales pesados, se utiliza el índice de geoacumulación (I_{geo}) que considera la concentración total del elemento de interés y su concentración en la corteza terrestre, como se ve en la siguiente fórmula:

$$I_{geo} = \log_2 (C_n / 1.5 B_n)$$

En donde I_{geo} es el índice de geoacumulación, C_n es la concentración total del elemento en el suelo, B_n es la concentración del elemento en la corteza terrestre, 1.5 es una constante que compensa las fluctuaciones naturales de un metal y los impactos antropogénicos menores. Los siete grados de contaminación de los suelos, basadas en el índice de geoacumulación, son visibles en la **Tabla 3** (Massas *et al.*, 2013).

I.I Fuentes naturales de metales pesados.

El suelo es una mezcla de fragmentos de rocas parcial o completamente meteorizadas y minerales, materia orgánica, agua y aire, en diversas proporciones, tiene más o menos distintas capas y horizontes desarrollados por la influencia del clima y organismos vivos (Byers *et al.*, 1938). El suelo es comúnmente una mezcla porosa y suelta de materiales, presenta porosidad debido a la presencia de partículas orgánicas e inorgánicas, formando una delgada capa que cubre la superficie terrestre. El suelo se origina en respuesta a las condiciones físicas, químicas y biológicas que actúan sobre material geológico, residuos orgánicos y productos antropomórficos. Los componentes fundamentales del suelo son: (I) una fase inorgánica, compuesta por sólidos cristalinos y amorfos, principalmente esta fase está constituida por aluminosilicatos, hidróxidos de hierro y carbonatos; (II) materia orgánica, ya sea viva o muerta, encontramos biomasa y microorganismos; (III) solución acuosa de complejos orgánicos e inorgánicos, en donde encontramos iones y moléculas, diluidas en agua, con una actividad termodinámica cercana a 1; (IV) fase gaseosa, contiene comúnmente los elementos encontrados usualmente en

la atmósfera terrestre, sus proporciones pueden verse modificadas por reacciones químicas o bioquímicas, resultantes de las interacciones entre minerales y agua, respiración o descomposición orgánica (Gupta *et al.*, 2008). El perfil del suelo se refiere a los horizontes que se encuentran entre la superficie y la materia parental (Byers *et al.*, 1938). El perfil del suelo está constituido por tres horizontes son A, B y C (**Tabla 4**), A y B componen el solum, C es la materia parental modificada por meteorización y disgregación (Gupta *et al.*, 2008).

Tabla 3.

Grados de contaminación de los suelos con base en el índice de geoacumulación.

Valor de I_{geo}	Grados de contaminación	Ejemplo
$I_{geo} \leq 0$	No contaminado	Determinación de no contaminación por metales pesados en sedimentos del río Benin, en Nigeria (Ogbeibu <i>et al.</i> , 2014).
$0 < I_{geo} < 1$	No contaminado o moderadamente contaminado	Sedimentos de río Tigris en la región de Bagdad levemente contaminados con Pb, 0.28 a 0.67 I_{geo} , y Cd, 0.63 a 0.74 I_{geo} (Rabee <i>et al.</i> , 2011).
$1 < I_{geo} < 2$	Moderadamente contaminado	Sedimentos en costas de Namibia, moderadamente contaminados con Cd, 1.15 I_{geo} (Onjefu <i>et al.</i> , 2016).
$2 < I_{geo} < 3$	Moderadamente a altamente contaminado	Sedimentos de zona industrial y residencial-agrícola de Grecia, contaminados con Pb, 2 a 3 I_{geo} (Massas <i>et al.</i> , 2013).
$3 < I_{geo} < 4$	Altamente contaminado	Sedimentos de zonas cercanas a mina de Cu en China, altamente contaminados a extremadamente contaminado con Cd, 3.55 a 4.43 I_{geo} , y Cu, 3.89 a 4.73 I_{geo} (Zhiyuan <i>et al.</i> , 2011).
$4 < I_{geo} < 5$	Altamente a extremadamente contaminado	

Valor de I_{geo}	Grados de contaminación	Ejemplo
$5 \leq I_{geo}$	Extremadamente contaminado	Suelos cercanos a refinerías en Arabia Saudita extremadamente contaminados con Cd, $35.2 I_{geo}$ (Alshahri & El-Taher, 2018).

Tabla 4.

Características de los horizontes del suelo.

Horizonte	Materia orgánica	Minerales inestables	Minerales relictos
A	Rico en materia orgánica, viva y muerta	Virtualmente todos	Cuarzos con cantidades menores de accesorios.
B	Poca materia orgánica	Principalmente silicatos y carbonatos	Cuarzos relictos y feldespato alcalino
C	Poca materia orgánica o inexistente	Principalmente silicatos	Cuarzos relictos, feldespato, ferromagnesios.
Materia parental	Rastros insignificantes de materia orgánica		

Nota. Modificado de Gupta *et al.*, (2008).

El suelo verdadero es el producto de la acción del clima y los organismos vivos sobre el material parental. El suelo se encuentra en constante dinámica, pero alcanza un estado cercano al equilibrio con el ambiente después de un largo periodo de tiempo, desde unos cientos hasta miles de años, expuestos a diversas condiciones (Byers *et al.*, 1938). La formación del suelo consiste en dos pasos, la acumulación de materia parental y la diferenciación de los horizontes en el perfil. La diferenciación de los horizontes del suelo es determinada por cuatro tipos de cambios, adición, remoción, transferencia y transformación en el sistema del suelo, se resalta que estos procesos no necesariamente promuevan la diferenciación del suelo (Simonson, 1959). Los factores formadores del suelo (**Tabla 5**) pueden

definirse como “los agentes naturales interrelacionados responsables de la formación del suelo” (García & Taboada, 2008), estos factores son independientes y cada uno modifica la efectividad del otro (Byers *et al.*, 1938).

Tabla 5.

Factores formadores de suelo y sus componentes.

Factores formadores de suelo	Componentes de los factores formadores del suelo
Materia parental	Rocas Minerales Meteorización
Topografía	Pendiente Radiación solar Laderas Valles
Clima	Precipitación Temperatura Humedad
Biológico	Plantas Animales Microorganismos Hongos Materia orgánica
Tiempo	Cambios en los factores formadores del suelo en diferentes periodos de tiempo

Nota. Modificado de García & Taboada (2008), Chapin *et al.* (2011).

El primer paso para la formación del suelo es la formación de la materia parental, acumulada por la meteorización de las rocas (Byers *et al.*, 1938). Posteriormente, el suelo se desarrolla por la adición de materiales en el sistema, la transformación de estos y su transferencia entre horizontes. La materia parental, se refiere a las rocas y minerales sobre las que se genera el suelo, influyendo en la formación de este con sus propiedades físicas y químicas (Chapin *et al.*, 2011), es el estado inicial del suelo (García & Taboada, 2008). La materia parental varía en composición y distribución por el ciclo de las rocas, durante el cual las rocas se forman y son meteorizadas. La meteorización es el cambio en la materia parental a formas

estables por la exposición a condiciones físicas y químicas del ambiente. La meteorización física se refiere a la fragmentación de materia parental sin cambios químicos, como en fracturas de rocas por expansión y contracción por cambios en temperatura, o fisuras en rocas por raíces, mientras que la meteorización química se refiere a las reacciones de materia parental con diversas sustancias como oxidantes y ácidos, liberándose iones y formándose minerales insolubles, como silicatos de aluminio, hierro y magnesio. La topografía, tiene fuerte influencia los gradientes de pendiente en las propiedades del suelo, en la influencia de los rayos solares, temperatura, proporción de evapotranspiración y humedad del suelo, en procesos de erosión, los materiales pequeños tienden a ir cuesta abajo, depositándose en partes bajas de la pendiente, formándose suelos profundos con un mayor contenido de materia orgánica y mayor estabilidad física. La entrada de materia puede ser a partir de precipitación, viento, inundaciones o cambios en marea, que transportan iones y partículas de materia que se depositan en el suelo. Los seres vivos agregan materia orgánica y nitrógeno (N) al suelo como materia muerta, que será transformada en materia orgánica del suelo mediante su descomposición. La transferencia de materiales a través de los horizontes genera cambios en el perfil del suelo, la transferencia ocurre principalmente por lixiviación, iones solubles son agregados por precipitación o mineralización en las capas superiores del suelo, son transportados hacia horizontes inferiores, donde se transforman en productos insolubles, formando nuevos minerales bajo las condiciones diferentes (pH, contenido iónico) entre horizontes. Los materiales se transforman por las interacciones de procesos físicos, químicos, como es el caso de la meteorización y erosión, y biológicos que involucran la producción de materia orgánica o descomposición de esta. Las plantas y animales son fuentes de carbono (C) orgánico para el suelo. Diferentes tipos de plantas redistribuyen C y nutrientes en el suelo a diferentes profundidades, remueven elementos esenciales como fósforo (P), calcio (Ca), potasio (K) o silicio (Si) de horizontes inferiores a través de sus raíces y los almacenan en sus tejidos, y son regresados a través de desechos o materia muerta en la superficie del suelo. Animales que hacen madrigueras bajo el suelo, como topos o gusanos de tierra, transfieren materia entre horizontes,

transfiriendo materia orgánica desde la superficie a las profundidades, y llevando minerales de los horizontes inferiores a la superficie, redistribuyendo la materia del perfil del suelo. Al igual que plantas, los animales como gusanos de tierra o termitas, estimulan la transformación de la materia del suelo por la estimulación de descomposición de materia orgánica. En diferentes periodos de tiempo el suelo presentara características diferentes, por ser un sistema dinámico, con cambios constantes en materia parental (por ciclo de las rocas) como meteorización, acumulación de materia en valles por erosión de laderas, de igual manera, los procesos biológicos son diferentes, en suelos “jóvenes” cuentan con altas concentraciones disponibles de P y bajas de N, en suelos “viejos”, el P se fija en minerales no biodisponibles o se reduce por transporte de materia, en cambio las concentraciones de N se ven en aumento por la colonización de plantas y bacterias fijadoras de N en suelos ricos de P (Chapin *et al.*, 2011).

Los diez elementos principales que componen el suelo son oxígeno (O), Si, aluminio (Al), Fe, Ca, sodio (Na), K, magnesio (Mg), P y titanio (Ti). Estos constituyen más del 99% del contenido total de la corteza terrestre; el resto de los elementos comprenden aproximadamente el 1% de la corteza terrestre, con concentraciones individuales que no superan $1000 \text{ mg}\cdot\text{Kg}^{-1}$, excepto cuando se encuentran en menas minerales (Wedepohl, 1995; Alloway, 2013a), y que por encontrarse en bajas concentraciones son considerados elementos traza (He *et al.*, 2005).

Existen diferentes fuentes de metales pesados en los suelos. Las fuentes pueden ser la roca madre (ígneas, sedimentarias o metamórficas, por meteorización), aguas subterráneas, precipitados desde la atmósfera y por actividades humanas. Las rocas son la principal fuente de metales pesados en el ambiente (Bradl, 2005) (**Tabla 6**). La corteza terrestre está compuesta en 95% por rocas ígneas y 5% rocas sedimentarias, cerca del 80% de las últimas son lutitas, 15% areniscas y 5% limo (He *et al.*, 2005).

En esta dependencia del tipo de roca encontraremos diferentes metales pesados en los suelos; las rocas ígneas basálticas contienen altas concentraciones de

metales como Cu, Zn, Cr, Co y Ni, en rocas ígneas como augita y hornblenda presentan Cu, Zn, Co y Mn (He *et al.*, 2005).

Las rocas ultramáficas son rocas ígneas con alto contenido de minerales máficos como olivino y piroxenos, entre otros. Las rocas ultramáficas presentan un contenido de Si menor a 45% (Manutchehr-Danai, 2009). Los suelos desarrollados a partir de estas rocas no ocupan un área grande a nivel global, y presentan concentraciones relativamente altas de Ni, Cr y Co (Alloway, 2013a).

Tabla 6.

Contenido de metales y metaloides en rocas ígneas y sedimentarias expresado en mg·kg⁻¹.

Elemento	Ígnea basáltica	Ígnea granítica	Lutitas y arcillas	Calizas	Arenisca
As	0.2-10	0.2-13.8	1-17	0.1-8.1	0.6
Cd	0.006-0.6	0.003-0.18	0-11	0.05	0.05
Cr	40-600	2-90	30-590	10	35
Co	24-90	1-15	5-25	0.1	0.3
Cu	30-160	4-30	18-120	4	2
Hg	0.002-0.5	0.005-0.4	0.005-0.51	0.01-0.22	0.001-0.3
Pb	2-18	6-30	16-50	9	<1-31
Mo	0.9-7	1-6	2.5	0.4	0.2
Ni	45-410	2-20	20-250	20	2
Se	0.05-0.11	0-05-0.06		0.08	0.05
Zn	48-240	5-140	18-180	20	2-41

Nota. Tomado y traducido de He *et al.* (2005).

Las lutitas negras son rocas sedimentarias que presentan materia orgánica degradada de manera incompleta por bacterias anaerobias; estos minerales están enriquecidos con materia orgánica, y por ello contienen moléculas orgánicas y tejidos blandos mineralizados, así como partes duras de los organismos (Oschmann, 2011). Las lutitas también se encuentran enriquecidas con diversos elementos como Ag, As, Au, Ba (bario), Cd, Cr, Cu, Hg, Mo, Ni, Pb, Sb, Se, torio (Th), Tl, U, V, W, Zn, tierras raras y elementos del grupo de platino (Pt), rutenio (Ru), rodio (Rh), paladio (Pd), osmio (Os) e iridio (Ir). Las lutitas negras se forman en agua

de mar poco profunda, en un entorno reductor, esto es en parte responsable de su acumulación de metales pesados (Alloway, 2013a).

Las piedras calizas son rocas sedimentarias constituidas principalmente por carbonato de calcio, carbonato de magnesio o la combinación de estos (Manutchehr-Danai, 2009). Se pueden encontrar con concentraciones elevadas de metales pesados, y suelen formarse en cuencas marinas en las que se acumulan organismos marinos microscópicos; siendo estos, fuente de granos de calcita (CaCO_3); en ocasiones estos granos se mezclan con precipitados químicos fuentes de metales pesados para estas rocas. En diversas áreas del mundo, las calizas se han mineralizado a partir de la deposición de minerales de sulfuro de metales pesados de los fluidos hidrotermales en lechos sedimentarios de piedra caliza. Cabe resaltar que, al meteorizarse, los metales se dispersan en el suelo residual e inclusive se puede lixiviar en aguas subterráneas (Alloway, 2013a).

Las fosforitas son rocas sedimentarias con más del 19.5% de óxido de fósforo (P_2O_5) (Manutchehr-Danai, 2009). Las fosforitas se forman por precipitación del fosfato de calcio del agua de mar a lo largo de miles y hasta millones de años, o por la acumulación de detritos de diatomeas, los cuales son ricos en fosfatos (Baturin, 1971). Las fosforitas, suelen acompañarse de otros estratos sedimentarios como las calizas que, al estar expuestas por extensos periodos de tiempo al excremento de aves marinas, han reaccionado dando como resultado los depósitos de fosforitas, los cuales se han utilizado como materia prima para fertilizantes fosfatados. Las fosforitas se encuentran enriquecidas generalmente por diversos metales pesados, inclusive en mayor medida que las lutitas negras (Alloway, 2013a).

En sedimentos ricos en óxido de hierro, podemos encontrar “piedras de hierro”, las cuales están constituidas por un alto porcentaje de Fe (Manutchehr-Danai, 2009). En estas también es posible encontrar concentraciones relativamente altas de As, Ba, Cu, Mn, Mo, Ni, Pb, V y Zn (Alloway, 2013a).

CAPÍTULO II

II. Fuentes antropogénicas de metales pesados

II.I Metales pesados y la humanidad a lo largo de la historia

Los seres humanos, a lo largo de su historia, han hecho uso de los recursos de la naturaleza, para su supervivencia. Las primeras evidencias de la obtención de minerales por parte de la humanidad son de África, hace aproximadamente 300000 años, comenzando a utilizar sílex como herramienta, obtenido mediante la colecta superficial hasta profundidades de dos metros bajo el suelo; siendo esto el punto de inicio de la búsqueda de minerales que llevaría con los años a la industria minera. Hace aproximadamente 8000 años se comenzó con el uso de metales como Cu, Au y Ag por las grandes civilizaciones de la edad de bronce en el mediterráneo y en China (Sykes *et al.*, 2016).

El Cu ha sido utilizado desde hace aproximadamente 7000 años en China central. Esto fue comprobado mediante la prueba de C^{14} en metales derivados de sedimentos del lago Liangzhi en la provincia de Hubei, China (Lee *et al.*, 2008). Se considera que el primer metal en ser utilizado fue el Cu, aunque sus concentraciones en la corteza terrestre son bajas (0.006%) en comparación con Fe (6%) o Al (8%); debido a su maleabilidad, el Cu era utilizados en la forma “nativa”, y se le daba la forma deseada ya sea como ornamento o herramienta primitiva como cuchillos o hachas mediante golpes. Se estima que la invención de la fundición fue el resultado de que un contenedor de Cu entrara en contacto con fuego y fuese reducido en metal líquido, separándose de las impurezas; de manera similar surgirían las aleaciones, al fundir menas minerales que contenían Cu y Sn, dando lugar a un metal más duro, el cual es conocido como bronce. Desde aproximadamente 5000 a. C., se crearon armas, herramientas, pesos, medidas, tuberías, utensilios del hogar como vasijas, espejos pulidos, navajas y decoraciones artísticas hechas de Cu y bronce (Radetzki, 2009).

La Ag ha sido conocida desde el 4000 a. C. por los caldeos; es el tercer metal conocido utilizados ancestralmente, después del Au y Cu (Alexander, 2009). Otro

metal utilizado entre los años 4000-3000 a. C. fue el Hg; este fue utilizado en la forma mineral conocida como cinabrio (HgS) el cual fue utilizado, en los territorios que actualmente son Italia y España, para la preservación de huesos humanos, con fines religiosos o rituales mágicos. Debido a su característico color, fue utilizado para hacer pigmentos en años posteriores (Parsons & Percival, 2005).

Desde hace 4000 años se desarrollaron técnicas de fundición a mayores temperaturas, lo cual permitió la extracción de Fe a partir de menas minerales, lo que llevaría a la edad del hierro y a grandes imperios como el Romano con grandes redes de minería, Fe extraído del norte de Italia, Francia y Alemania, Au, Ag, Cu y Sn extraídos de España y Pb de las minas británicas (Sykes *et al.*, 2016). El uso de Fe para la fabricación de herramientas y armas presentó mejores características, como un peso menor y mayor dureza, también el costo para la obtención de herramientas y armas se redujo debido al desarrollo de mejores técnicas de fundición (Radetzki, 2009).

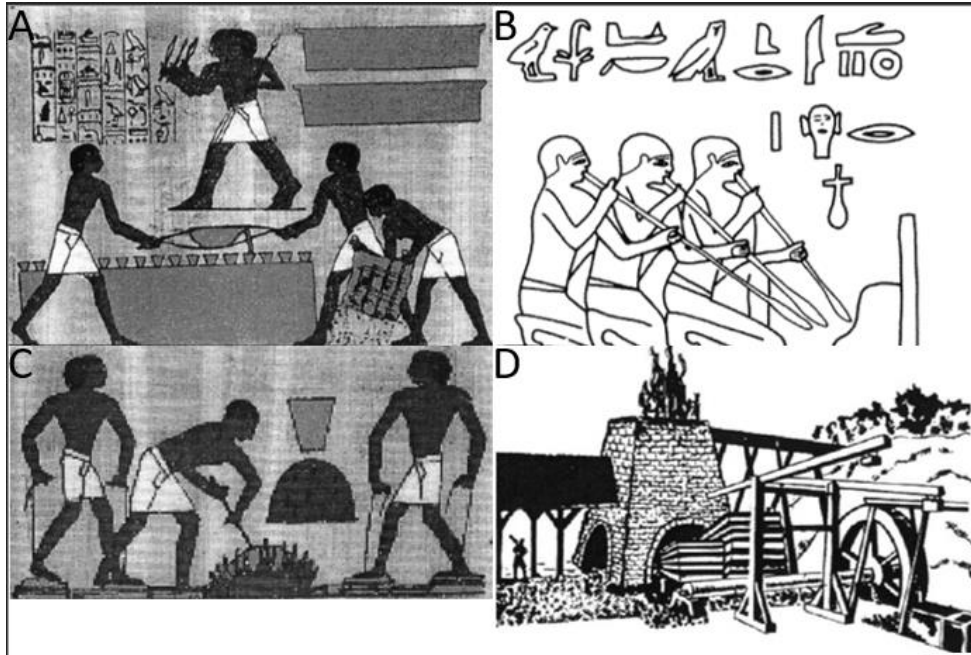
En la antigua ciudad de Menfis, Egipto (3050-2690 a. C.) se fundía Au mediante un proceso muy diferente a los métodos utilizados actualmente, pues consistía en la formación de capas de carbón y Au intercaladas. Estas capas eran prendidas y se mantenían encendidas durante 3-4 días (**Figura 2A**). Cuando el Au derretido caía en el centro del horno, el fuego era apagado y se recogía el trozo de metal, de aproximadamente 1 kg. Aproximadamente entre el año 2690-2420 a. C., los egipcios comenzaron a utilizar cerbatanas para aumentar la temperatura, y de esta manera, facilitar la fundición del Au (**Figura 2B**). Posteriormente el uso de cerbatanas dejó de ser eficiente, por ello desarrollaron hornos de mayor tamaño, y fuelles con piel de cabra, los cuales eran utilizados con los pies. Los fuelles estaban atados con cables; cuando se hacía presión sobre uno con un pie, el otro era jalado con el cable para que se llenara de aire, posteriormente era pisado y se hacía lo mismo con el otro fuelle (**Figura 2C**); de esta manera lograron aumentar la cantidad de Au fundido (Habashi, 2005).

El desarrollo en las técnicas de extracción de metales y refinación permitió que, en lo que actualmente es Turquía e Iraq, hace aproximadamente 2500 años se

desarrollara el uso de monedas de Au, Ag y Cu. Aproximadamente 500 años después una gran parte del Cu era consumido por Roma en la producción de monedas (Radetzki, 2009).

Figura 2.

Evolución de las técnicas de fundición.



Nota. A) Primeras técnicas de fundición de Au por parte de los egipcios mediante el uso de capas de carbón y Au. B) Egipcios usando cerbatanas para mayor temperatura. C) Mural egipcio que muestra el mecanismo de fuelles desarrollado para aumentar la temperatura del horno mediante corrientes de aire. D) Hornos de fundición del siglo XVIII utilizando ruedas de agua para el funcionamiento de fuelles. Adaptado de “Egyptian wall-painting showing worjers melting and casting gold”, “Ancient Egyptian wall-painting showing the use of blowpipes to increase the temperature of fire”, “Ancient Egyptian wall-painting showing the use of bellows to blow air into a fire”, “An 18th-century water-wheel operating bellows to blow air into

a blast furnace”, por N. Habashi, 2005, *Mineral processing and extractive metallurgy*, 114.

No todo el uso de metales se limitó al Mediterráneo y Asia; hay evidencia en momias de hace aproximadamente 3000 años en Perú, de la práctica de trepanaciones en las que ocasionalmente se practicaba craneoplastías con la finalidad de cubrir el defecto de la trepanación mediante el uso de conchas, calabazas y placas de Au o Ag (Abhay & Haines, 1997). También se reportaron actividades de fundición en los Andes Peruanos gracias a muestras de sedimentos de lagos en la región minera de Morococha. Las evidencias más antiguas sugieren el uso de metalurgia de Cu y aleaciones de Cu en el año 1000 d. C., y hay registros del uso de la metalurgia en Ag entre los años 1450 a 1533 (Cooke *et al.*, 2007). Para el caso de Mesoamérica, la metalurgia fue introducida desde el sur, las primeras evidencias del uso de metales en México datan del año 650, se teoriza que los primeros artefactos de metal fueron introducidos por las costas surestes del país, a partir del intercambio con pueblos originarios de lo que actualmente es Ecuador, siendo ellos quienes introducirían las primeras técnicas de extracción y producción de metal aproximadamente en el año 650. Para el año 1200, se habrían desarrollado técnicas de metalurgia de bronce (aleaciones de Cu-Sn y Cu-As) y aleaciones de Ag-Cu. Entre los productos realizados se encuentran campanas, anillos, colgantes, corazas de chapas, escudos ornamentales y coronas (Hosler, 2014).

El Hg obtenido a partir de HgS es conocido desde el siglo VII a. C. en Mesopotamia. En India se registra desde los siglos IV-III a. C. en el “Artha-sastra”. Se cree que el Hg fue importante para la antigua medicina de India. Se han encontrado pigmentos de HgS en estatuas griegas del siglo VI a. C. El Hg aparece en textos chinos hasta 122 a. C., pero se usaba HgS para la producción de tinta roja utilizada en huesos oráculos durante la dinastía Shang-Yin, entre los años 1751-1112 a. C. Durante el siglo I d. C., en Roma, el HgS fue usado como ingrediente en medicamentos para purgas y enemas, se cree que también fue el primer tratamiento contra sífilis (Parsons & Percival, 2005).

El mineral realgar (As_4S_4) fue descrito alrededor del siglo IV a. C. por Aristóteles, pero el As elemental fue identificado hasta 1649. A lo largo de su historia, el As ha sido utilizado en cosméticos, alimentos, vidrios, insecticidas, medicamentos, pigmentos, pirotecnia, rodenticidas, preservativos de madera, embalsamientos, metalurgia, curtido y taxidermia (Bentley & Chasteen, 2002).

En diferentes épocas de la historia, grandes figuras de la medicina utilizaron metales pesados para el tratamiento de malestares. Hipócrates (460-377 a. C.) utilizó diferentes metales para la trata de diferentes padecimientos como preparaciones de Ag para el tratamiento de úlceras y promover la recuperación de heridas (Alexander, 2009), o pasta de As_4S_4 para el tratamiento de úlceras (Bentley & Chasteen, 2002). Rhazes (850-923) probó Hg en un mono, reportando que este le provocó dolor de estómago; también reportó que la aplicación de Hg en el oído puede provocar lesiones (Parsons & Percival, 2005). Avicena (980-1037) usó limaduras de Ag para purificar sangre (Alexander, 2009); también consideró al Hg como tóxico y corrosivo (Parsons & Percival, 2005). Paracelso (1493-1541) en 1520 usó nitrato de plata (AgNO_3) para cauterizar heridas, una práctica que continúa hasta nuestros días (Alexander, 2009), también propuso el uso de Hg para curar la sífilis; por ello desde el siglo XVI hasta mediados del XX, fue usado en ungüentos, baños de vapor e ingerido (Parsons & Percival, 2005). Angelo Sala (1576-1637) usó AgNO_3 como contrairritante, purgativo, y para el tratamiento de infecciones en el cerebro (Alexander, 2009).

En 1554, en la Nueva España se desarrolló la “amalgación”, técnica que utilizaba Hg para la extracción de Ag, debido a su capacidad de amalgamar metales; propiedad descrita por primera vez por Vitruvio en el siglo I a. C. Se utilizó Hg en el desarrollo del barómetro por Torricelli en 1643 y el termómetro en 1714 por Fahrenheit (Parsons & Percival, 2005).

Durante el periodo de la colonización de Norteamérica por parte de los británicos en el siglo XVI, por la necesidad de transportar agua por largas distancias, se acostumbró a colocar una moneda de Ag en las vasijas de agua para preservarla. Esta práctica también se utilizó para preservar leche. Cabe resaltar que el origen de

esta práctica surge en el imperio persa con diferentes reyes, entre los que encontramos al rey Ciro II el grande (600-530 a. C.). Ciro II tomaba agua de contenedores de Ag, los cuales la mantenían fresca por años, esto debido a sus continuas campañas militares, las cuales no siempre permitían encontrar agua en buenas condiciones (Alexander, 2009).

En el siglo XVIII se desarrollaron fuelles en los hornos de fundición movilizadas por ruedas de agua (**Figura 2D**); por ello, las fundiciones estaban en zonas montañosas cercanas a las zonas de extracción mineral y de madera, con disponibilidad de una corriente de agua (Habashi, 2005).

Durante el siglo XVIII, el Dr. Fowler desarrolló la solución de Fowler, la cual empleaba arsenito de potasio. Esta solución fue utilizada durante el siglo XIX como “cura todo”. Durante este siglo los compuestos de As fueron muy populares, no solo para tratar diferentes malestares, también eran utilizados compuestos de As por parte de mujeres en el cabello y cuero cabelludo para eliminar alimañas (Bentley & Chasteen, 2002).

En 1804, Smithson Tennant describió al Ir ante la Royal Society, procedente de residuos negros insolubles resultado del uso de agua regia en Pt nativo. El Ir es un miembro del grupo del Pt, el cual posee remarcables cualidades físicas y químicas. El Ir es el metal más resistente a la corrosión, insoluble en los ácidos minerales incluida el agua regia, no es afectado por otros minerales fundidos o silicatos a altas temperaturas, tiene un alto punto de fusión, es el único metal que mantiene buenas propiedades mecánicas al aire a temperaturas cercanas a 1600 °C y hasta 2000 °C en aleaciones con Rh; estas características le permiten encapsular el combustible en generadores de electricidad de radioisótopos, utilizados en misiones espaciales como la del Voyager lanzado en 1977, que usó como combustible dióxido de plutonio-238, en esferas encapsuladas en Ir, lo que provee protección a grandes puntos de fusión y a grandes fuerzas (Hunt, 1987). Otros metales del grupo del Pt que han sido utilizados son el Pt y el Rh. Los catalizadores de Pt-Rh son utilizados para la oxidación de amonio con aire durante la manufactura de ácido nítrico para la manufactura de fertilizantes nitrados. Las aleaciones de Pt son utilizadas en la

manufactura de fibras de vidrio, y se utiliza equipo de Pt altamente puro para el desarrollo de fibra óptica (Chaston, 1982).

Desde inicios del siglo XX se han ido desarrollando características metalúrgicas del acero microaleado; estos aceros han sido desarrollados para obtener propiedades mecánicas comparadas al acero-carbono, con propiedades de resistencia a la corrosión superiores, estas aleaciones incluyen C (0.05-0.25%), Mn (2%), pequeñas cantidades de Cr, Ni, Mo, Cu, N, V, niobio (Nb), Ti y circonio (Zr) en diferentes proporciones. Su desarrollo es de gran importancia debido a su uso en los campos de la construcción, vehículos pesados, tanques de almacenamiento, vagones, plataformas petroleras, pipas para el transporte de hidrocarburos, entre otros (Villalobos *et al.*, 2018).

Durante el siglo XX diversos metales como el Hg estaban presentes en el uso de medicamentos para tratar malestares en forma de ungüentos, diuréticos, antisépticos y anticonceptivos (Parsons & Percival, 2005). Durante la primera guerra mundial, se utilizó sulfadiazina de plata para el tratamiento de quemaduras (Bradford & Cowan, 2014). Los coloides eléctricos de Ag fueron el pilar de la terapia antimicrobiana durante la primera mitad del siglo XX, hasta la introducción de los antibióticos a principios de 1940; para este año había al menos 50 productos de Ag en el mercado de Estados Unidos de América (Alexander, 2009). En 1985, la Administración de Medicamentos y Alimentos (FDA) de Estados Unidos de América, aprobó el uso de $C_{20}H_{35}AuO_9PS$ (auranofín) como tratamiento para la artritis reumatoide, este fármaco presenta un cierto porcentaje de oro en su estructura (Bradford & Cowan, 2014).

Los metales también han sido utilizados con fines criminales; uno de los primeros casos documentados de envenenamiento con As es el de Tiberius Claudius Britannicus por Nerón Claudio César Augusto Germánico, conocido como Nerón, en el año 55 d. C. Se teoriza que Cesare y Lucrezia Borgia (1476-1507 y 1480-1519) utilizaron compuestos de As en alimentos y bebidas para envenenar a enemigos políticos. Durante la primera guerra mundial, la lewisita (dicloro (2-

clorovinil) arsina), y otros componentes de As fueron utilizados como gases venenosos (Bentley & Chasteen, 2002).

Los metales son de suma importancia para el mundo moderno y son requeridos para una gran cantidad de actividades en la sociedad actual. En 2007, el peso de metales al servicio de la humanidad se encontraba de la siguiente manera (en millones de toneladas): 940 Fe, 43 Al, 18 Cu, 11 Zn, 4 Pb, 2 Ni, 0.3 Sn, 0.2 Mb y 0.02 Ag (Radetzki, 2009).

II.II Contaminación por metales pesados

Los seres humanos han utilizado diversos metales pesados durante miles de años, como el Au que ha sido usado aproximadamente por 8000 años, Cu por más de 6000 años, y Pb por aproximadamente 4000 años (Alloway, 2013b). Algunas actividades antropogénicas como la industrialización, la minería, la agricultura o la fundición incrementan la concentración de metales pesados en la biósfera a niveles peligrosos (Kumar & Agrawal, 2005; Alloway, 2013a). Las fuentes de metales pesados emitidas a la atmósfera incluyen estaciones generadoras de electricidad por carbón y petróleo, emisiones industriales de fundiciones, industrias pirometalúrgicas, emisiones de vehículos de motor, residuos de neumáticos y de frenos desgastados, emisiones de calefacciones domésticas e industriales, incendios y corrosión de estructuras metálicas (Alloway, 2013a).

En la biósfera podemos encontrar metales pesados de manera natural por la actividad geológica, que han sido propagados a diferentes entornos por actividades antropogénicas (Ju-Liang *et al.*, 2009) como la industria petroquímica (Rivas-Castillo *et al.*, 2017), las rutas de comunicación con alta tasa de tráfico de vehículos, la agricultura (Placek *et al.*, 2016), la extracción minera intensa (Rodríguez-Elizalde *et al.*, 2010; Placek *et al.*, 2016; Covarrubias & Piña, 2017), refinerías de metales, quema de carbón en centrales eléctricas, combustión de petróleo, centrales nucleares y líneas de alta tensión, plásticos, textiles, microelectrónica, preservación de madera y plantas de procesamiento de papel (Tchounwou *et al.*, 2012).

II.III Contaminación de metales pesados en la agricultura.

La contaminación de metales pesados en zonas rurales tiene diferentes orígenes; la más frecuente es el uso de fertilizantes fosfatados con fosforita, los cuales se depositan en el suelo (Mehmood *et al.*, 2009; Alloway, 2013a), el uso de productos que contienen metales traza en la agricultura como fertilizantes, fungicidas, pesticidas, herbicidas ha generado un aumento de metales pesados en los cultivos como Cu, Zn, Fe, Mn, As, Cd y Pb (He *et al.*, 2005), por ello, diferentes países han implementado estándares (**Tabla 7**) para concentraciones de metales pesados en suelos dedicados a la agricultura (He *et al.*, 2015). La contaminación por metales pesados en la agricultura afecta al sector ganadero, como por ejemplo en bovinos donde se han reportado concentraciones de Pb (Sabuwa *et al.*, 2019; Koréneková *et al.*, 2002).

Ante el desequilibrio nutricional del suelo debido a su uso intensivo, surge la necesidad de dar seguimiento a los niveles de micronutrientes en suelos agrícolas en relación con el manejo de cultivos agrícolas alrededor del mundo (Gonçalves Jr. *et al.*, 2011; Nacke *et al.*, 2013). El uso de fertilizantes para el suministro de nutrientes, puede influir en las interacciones de la matriz del suelo o aumentar sus concentraciones por impurezas (Gonçalves Jr. *et al.*, 2011), el uso excesivo de fertilizantes que decrecen el pH del suelo, puede llevar a la desorción de metales pesados de la matriz del suelo (Ning *et al.*, 2017; Salem *et al.*, 2020), o a la reducción de materia orgánica en el suelo (Ning *et al.*, 2017), estos factores tienen como resultado el aumento de metales tóxicos en los cultivos. El uso de fertilizantes para el suministro de Zn ha aumentado los niveles de Pb y Cr en plantas de trigo, *Triticum aestivum* L. (Gonçalves Jr. *et al.*, 2011), mayor biodisponibilidad de Cd, Cr y Pb en el suelo para maíz, *Zae mays* L., con un aumento significativo en la concentración de sus hojas (Nacke *et al.*, 2013). Fertilizantes químicos como fuentes de N, P y K, pueden contener metales pesados (Cd, As, Cr, Ni y Pb) como impurezas que pueden ser mayores a los límites permisibles por los estándares internacionales (Salem *et al.*, 2020). El uso de fertilizantes orgánicos también influye en la biodisponibilidad de metales pesados, el uso de una mezcla entre fertilizante

químico y orgánico a base de excremento de paloma, aumento el contenido de Zn, Cd y Cr en el suelo (Ning *et al.*, 2017). El uso de estiércol de cerdo como fertilizante orgánico, tuvo como resultado el aumento en las concentraciones de Cu, Zn y Cd en suelo, y mayor tamaño en la semilla, mayores concentraciones de aminoácidos, proteína cruda, Zn y Cd en granos de cacahuate (*Arachis hypogaea* L.) en comparación con fertilizantes químicos (Wang *et al.*, 2020).

Tabla 7.

Valores estándar regulatorios de concentraciones de metales pesados en la agricultura.

País	As	Cd	Cr	Cu	Hg	Ni	Pb	Zn
Australia ^a	20	3	50	100	1	60	300	200
Canadá ^a	20	3	250	150	0.8	100	200	500
China ^a	20-40	0.3-0.6	150-300	50-200	0.3-1	40-60	80	200-300
Alemania ^a	50	5	500	200	5	200	1000	600
Tanzania ^a	1	1	100	200	2	100	200	150
Países Bajos ^a	76	13	180	190	36	100	530	720
Nueva Zelanda ^a	17	3	290	>10 ⁴	200		160	
Reino Unido ^a	43	1.8			26	230		
Estado Unidos de América ^a	0.11	0.48	11	270	1	72	200	1100
México ^b	22	37	280		23	1600	400	

Nota. Valores en “mg metal pesado·Kg⁻¹ suelo”. ^aTomado y traducido de He *et al.* (2015), ^bTomado de SEMARNAT, 2007.

Una fuente de contaminación importante deriva del tratamiento de aguas residuales que producen lodos, los cuales poseen un contenido benéfico de N, P y materia orgánica, que son utilizados en el sector agrícola por su valor fertilizante; pero al mismo tiempo depositan metales pesados. Otra fuente de contaminación por metales pesados en zonas rurales es la causada por las aguas residuales vertidas en alcantarillas (Alloway, 2013a), el uso de lodos de depuradora debe ser tratados

de manera que se evite el aumento en las concentraciones de metales pesados en el suelo y cultivos (Hei *et al.*, 2016). El riego de cultivos vegetales con aguas residuales puede ser riesgoso para la salud de los consumidores debido a las concentraciones de metales pesados que se pueden encontrar en estas, entre los que encontramos Fe, Zn, Mn, Cu, Pb, Cr, Ni, As, Co, Cd y Hg (Kharazi *et al.*, 2021), como es el caso de vegetales cultivados en China a partir de suelos irrigados con aguas residuales desde mediados de 1960, presentaron altas concentraciones de Cd, Ni y Pb (Khan *et al.*, 2008).

Suelos de cultivo cercanos a una zona minera, presentaron concentraciones altas de Cu, Zn y Cd, mayores a las permitidas en China, lo cual influyo en altas concentraciones de Cd y Pb en granos de arroz (Zhuang *et al.*, 2009). En suelo contaminado con relaves de mina de Pb/Zn en China, tratado por remoción de lodos tóxicos y una porción del suelo, los cultivos presentan concentraciones altas de Zn, Cd y Pb después de 17 años de la limpieza (Liu *et al.*, 2005). Suelos de cultivo cercanos a fundiciones en Australia, presentaron vegetales con concentraciones de Cd y Pb superiores a lo permitido por “Australian and New Zeland Food Authority” (ANZFA), “Commission of the European Communities” y “Codex Alimentarius Commission”, también se registraron altas concentraciones de Zn y Cu (Kachenko & Singh, 2006).

II.IV Contaminación de metales pesados en zonas industriales

La contaminación por metales pesados en suelos en zonas industriales varía dependiendo del tipo de industria (Alloway *et al.*, 2013b), en México se encuentra regulada la concentración de metales pesados en suelo de uso industrial (**Tabla 8**). Los principales metales pesados en desechos de la industria textil son As, Cd, Co, Cr, Cu, Fe, Hg, Mn, Ni, Pb, Tl y Zn (Zeiner *et al.*, 2007); en la industria del papel: Fe, Cu, Mn, Zn, Ni y Cd (Arivoli *et al.*, 2015); en la industria de cerámica: Ni, V, Co, Cr, As, Zr, Th, Fe, Cu, Zn y Pb (Sánchez *et al.*, 2010); en la industria de pinturas: Cr, Cd, Ni, Zn y Pb (Lokhande *et al.*, 2011); en la industria petroquímica: Zn, Cu, Pb, Cd, Hg y As (Li *et al.*, 2009); en la industria farmacéutica: Fe, Zn, Cu, Mn, Pb, Cr (Abdullahi *et al.*, 2020); en la industria de baterías: As, Cr, Cu, Mn, Ni, Cd, Pb y Zn

(Liu *et al.*, 2014); en la industria de componentes electrónicos: Cr, Zn, Pb, As, Cd, Ni y Cu (Wu *et al.*, 2018).

Tabla 8.

Concentración de referencia de metales pesados en suelo de uso industrial en México.

Contaminante	Concentración (mg metal pesado·Kg⁻¹)
As	260
Cd	450
Cr (VI)	510
Hg	310
Ni	20000
Ag	5100
Pb	800
Se	5100
Tl	67
V	1000

Nota. Tomado de SEMARNAT (2007).

CAPÍTULO III

III. Efectos de metales pesados en los seres vivos

Los metales pesados juegan un papel importante en los seres vivos, puesto que algunos de estos son indispensables para diversas funciones biológicas en las cuales se ven involucrados. Los metales pesados participan en el metabolismo de proteínas, y en el transporte de moléculas en células u órganos (Placek *et al.*, 2016); algunos metales pesados actúan como cofactores de enzimas, teniendo un papel estructural o participando en reacciones químicas. Tal es el caso del Cu que actúa como cofactor de oxidasas, de enzimas involucradas en la eliminación de radicales superóxidos y activador para algunas enzimas; es esencial para plantas y algas en la fotosíntesis, debido a que este es un componente del donante primario de electrones en el fotosistema I. Otros ejemplos son el Ni, la enzima ureasa es dependiente a Ni, y es encontrada en una amplia variedad de organismos, esta enzima juega un papel importante en el ciclo del N, catalizando la descomposición hidrolítica de la urea para la producción de amonio y carbamato (Mazzei *et al.*, 2020); el Mo, presente en la nitrato reductasa (Nicholas & Nason, 1953) y en la nitrogenasa (Boyd *et al.*, 2011); o el Co, encontrado en la vitamina B12 (Kennedy *et al.*, 1994). El Mg es otro metal destacable que participa en las reacciones catalizadas por la malato deshidrogenasa, la oxalosuccinato descarboxilasa, y es participe en la actividad de la enzima superóxido dismutasa en el fotosistema II. El Fe es esencial en diversos procesos metabólicos, siendo indispensable para todos los organismos, es un componente de proteínas como hemoglobina, mioglobina, nitrogenasa y citocromos (Kummar & Agrawal, 2005).

Otros metales pesados pueden ser muy tóxicos, estos se pueden acumular en tejidos, y con ello influir en las redes tróficas (Conceição *et al.*, 2016); dado que no son fácilmente degradables, sin intervención pueden persistir en el suelo por siglos, estos no solo afectan a la calidad de los productos agrícolas y el agua, sino también al ecosistema pudiendo dañar a diversos organismos (Ma *et al.*, 2016). La Environmental Protection Agency (EPA) de Estados Unidos de América, ha publicado valores de concentraciones máximas de metales pesados para agua

(**Tabla 9**) y dosis de referencia oral (**Tabla 10**) de niveles permitidos, entiéndase como la dosis ante la cuales no se tiene efectos en la salud marcados, mas no como dosis recomendables (US EPA, 2002; US EPA, 2018; SEMARNAT, 2003), aunado con los diversos efectos que conlleva el sobre exponerse a estos metales y metaloides acorde al objetivo de mostrar algunos de los efectos de estos sobre la salud.

Tabla 9.

Concentraciones tolerables de metales pesados en agua.

Metal pesado	Niveles máximos tolerables mg·L⁻¹ ^a	Niveles máximos tolerables mg·L⁻¹ en ríos, promedio mensual ^b
Hg	0.002	0.005
Tl	0.002	
Cd	0.005	0.1
Sb	0.006	
As	0.01	0.1
Pb	0.015	0.2
Se	0.05	
Cr	0.1	0.5
Cu	1.3	4

Nota. ^aUS EPA (2018), ^bSEMARNAT (2003).

Los metales pesados pueden ingresar al cuerpo humano mediante la inhalación de aire o ingesta de agua contaminada, por la transferencia de estos por las rutas suelo-planta-humano o suelo-planta-animal-humano (Kosek-Hoehne *et al.*, 2017). Los metales pesados, pueden entrar en pequeñas dosis, por un largo periodo de tiempo y ser acumulados en órganos y tejidos. La acumulación de metales pesados en el cuerpo puede causar toxicosis, acompañado de disturbios en los procesos bioquímicos, cambios en la estructura y función de las células (Slivinska *et al.*, 2020). La presencia de metales pesados induce el estrés oxidativo celular, lo cual lleva a la sobreproducción de especies reactivas que alteran el estado redox, e inclusive, puede llevar a la muerte celular (Rivas-Castillo *et al.*, 2017). El absorber y acumular metales pesados causan efectos nocivos para la salud entre los que se

encuentran cáncer, daño en órganos y sistema nervioso e inclusive la muerte (Barakat, 2011; Gunatilake, 2015).

Tabla 10.

Dosis de referencia de ingesta oral para metales pesados y algunos efectos sobre la salud.

Metal pesado	Dosis de referencia oral ([mg·Kg⁻¹·d)^a	Efectos a la salud	Referencias
As	3·10 ⁻⁴	Cáncer de piel Cáncer de vejiga Cáncer de pulmón Abortos espontáneos Daños cardiovasculares Parkinson Hiperqueratosis	Chen <i>et al.</i> , 2003a; Chen <i>et al.</i> , 2003b; Chen <i>et al.</i> , 2004; Quansah <i>et al.</i> , 2015; Monn <i>et al.</i> , 2012; States <i>et al.</i> , 2008; Cholanians <i>et al.</i> , 2016; Li <i>et al.</i> , 2011; Rodríguez & Mandalunis, 2018.
Cd	1·10 ⁻³	Cáncer de pulmón Cáncer de riñón Cáncer de próstata Cáncer de endometrio Cáncer de mama Necroinflamación hepática Enfermedad del hígado graso no alcohólico Esteatohepatitis Enfermedad de Itai-itai Fallas renales crónicas Aterosclerosis Osteoporosis	Hartwig, 2013; Hyder <i>et al.</i> , 2013; Inaba <i>et al.</i> , 2005; Rodríguez & Mandalunis, 2018.
Cr (VI)	5·10 ⁻³	Cáncer de pulmón Dermatitis Alergias Erupciones cutáneas Sangrado nasal Úlceras estomacales Debilitamiento del sistema inmune	Rodríguez & Mandalunis, 2018; Molina <i>et al.</i> , 2010.

Metal pesado	Dosis de referencia oral ([mg·Kg⁻¹·d)^a	Efectos a la salud	Referencias
Hg	3·10 ⁻⁴	Aumento de glutatión oxidada/ disminución de glutatión reducida Deterioro en desarrollo neurológico Retraso mental Disartria Ceguera Pérdida de audición Tonificación anormal de músculos Esclerosis lateral amiotrófica Parkinson Alzheimer Retraso psicomotor Hipertensión Infarto al miocardio Disfunción coronaria Aterosclerosis Anemia Fibrosis pulmonar Síndrome de Young	Zefferino <i>et al.</i> , 2017; Rice <i>et al.</i> , 2014; Fernandes <i>et al.</i> , 2012; Genchi <i>et al.</i> , 2017; Rodríguez & Mandalunis, 2018.
Pb	2·10 ⁻²	Cáncer Deficiencia intelectual Hiperactividad Deficiencia en funciones motores finas Deficiencia en coordinación mano-ojo Deficiencia en tiempo de reacción Hipertensión Enfermedad coronaria Enfermedad arterial periférica Hipertrofia del ventrículo izquierdo Alteraciones al ritmo cardiaco Anemia	Monnot <i>et al.</i> , 2015; Kobayashi <i>et al.</i> , 2010; Navas-Acien <i>et al.</i> , 2007; Campbell <i>et al.</i> , 1970; Rodríguez & Mandalunis, 2018; Molina <i>et al.</i> , 2010.

Metal pesado	Dosis de referencia oral ([mg·Kg⁻¹·d)^a	Efectos a la salud	Referencias
Pb		Neurotoxicidad (central y periférica) Daños a la matriz ósea Hipocalcemia Hipofosfatemia Defectos en el desarrollo de la línea roja hepática Defectos en el desarrollo del sistema nervioso	
Se	5·10 ⁻³	Reducción de actividad antioxidante Daño hepático Diarrea Perdida de cabello Fatiga Decoloración y fragilidad de uñas Dolor de articulaciones	Mézes & Balogh, 2009; MacFarquhar <i>et al.</i> , 2010.
Zn	3·10 ⁻¹	Fallas cardiovasculares Fallas respiratorias Fallas renales Fallas hepatobiliares Orina roja Anemia Ulceras en piel Letargo Aturdimiento Ansiedad Depresión Somnolencia Comatosa Deficiencia de cobre Leucopenia Neutropenia Daño a células gliales	Rodríguez & Mandalunis, 2018; Nriagu, 2007.
Sb	4·10 ⁻⁴	Cáncer Neumoconiosis Manchas en piel Cardiotoxicidad	Sundar & Chakravarty, 2010; Cooper & Harrison, 2009.

Metal pesado	Dosis de referencia oral ([mg·Kg⁻¹·d)^a	Efectos a la salud	Referencias
Sb		Malestares gastrointestinales Aumento en riesgo a abortos espontáneos Alteración en la menstruación	
Ag	5·10 ⁻³	Argiria Argirrosis Convulsiones Coma Edema pleural Hemolisis	Ratte, 1998; Wadhera & Fung, 2005.
Tl		Neurodegeneración Malestares gastrointestinales Alopecia Hipertensión Taquicardia Polineuritis Encefalopatía Hemorragia subaracnoidea Depresión de medula ósea Reducción de visión/ceguera	Cvjetko <i>et al.</i> , 2010; Li <i>et al.</i> , 2012.
V	7·10 ⁻³	Rinitis Bronquitis Neumonía Asma Espudo Hipertensión Hepatomegalia Lengua verde	Rehder, 2013; Venkataraman & Sudha, 2005.

Nota.^aUS EPA (2002).

Hg, Cd, As y Ni son clasificados como metales carcinogénicos por sus efectos en el ADN, la inducción de especies reactivas de oxígeno, o por inhibición de la actividad de proteínas críticas en los mecanismos de reparación de ADN (Morales *et al.*, 2016). La “Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives” creó el valor PTWI

(Provisional Tolerable Weekly Intake) para describir la cantidad de metales pesados ingeridos a la semana que no causan alguna reacción al cuerpo. Para los cuatro metales más tóxicos el valor PTWI es el siguiente: Hg $0.005 \text{ mg}\cdot\text{Kg}^{-1}$ de peso corporal, Cd $0.007 \text{ mg}\cdot\text{Kg}^{-1}$, Pb $0.025 \text{ mg}\cdot\text{Kg}^{-1}$, y As $0.025 \text{ mg}\cdot\text{Kg}^{-1}$ (Kosek-Hoehne *et al.*, 2017).

El Hg tiene sus fuentes naturales en las erupciones volcánicas, erupciones bajo el agua y evaporación de Hg desde tierra o agua, erosión de rocas con Hg y procesos geotermales. Las emisiones de Hg naturales son mayores a aquellas por el hombre; la quema de carbón es uno de los principales medios de contaminación antropogénica de mercurio. Las industrias de cal y hormigón, refinerías petroleras, producción de alquitrán y asfalto son las principales fuentes industriales de Hg. El Hg es considerado uno de los metales pesados más peligrosos para la salud humana. El Hg inorgánico y el Hg metálico pueden ser absorbidos por la piel e ingresar por medio del tracto respiratorio como Hg gaseoso. El Hg cruza la membrana de los alveolos pulmonares hasta llegar al torrente sanguíneo y a diferentes tejidos provocando severos daños celulares. Algunos de los órganos que pueden acumular el metal son riñones, hígado, bazo, sangre y cerebro, se conoce un efecto degenerativo en sistema nervioso central asociado al Hg (Kosek-Hoehne *et al.*, 2017). Se ha reportado que Hg se une al sitio activo de diversas enzimas inhibiendo su actividad; Mirzoian & Luetje en 2002 reportaron que el cloruro de mercurio (HgCl_2) inhibe a los receptores nicotínicos de acetilcolina neuronales de rata (nAChRs) expresados en ovocitos de *Xenopus laevis* al interactuar con la subunidad α_4 , mientras que, si el cloruro de mercurio interactúa con la subunidad β_4 , potencia su actividad.

El Cd se encuentra en la naturaleza en complejo con iones y quelatos orgánicos, en rocas sedimentarias, fosforitas procedentes de los océanos o en combustibles fósiles como el carbón. Las actividades humanas que son fuentes de Cd son la industria metalúrgica, la producción de fertilizantes fosfatados o la quema de combustibles fósiles. Este metal ha sido utilizado para la producción de aleaciones, pigmentación de productos, estabilización de plásticos, la producción de baterías de

Cd-Ni, entre otros usos. El Cd puede ingresar al organismo por el tracto gastrointestinal, tracto respiratorio o la piel, a través de los alimentos o la exposición al humo de cigarrillos. El Cd se acumula en riñones e hígado por mucho tiempo, daña a los pulmones y puede causar desmineralización de huesos debido al malfuncionamiento de riñones (Kosek-Hoehne *et al.*, 2017). El Cd reduce la actividad de catalasa y superóxido dismutasa, con un efecto destructivo sobre las membranas celulares y biopolímeros (proteínas y ácidos nucleicos). El Cd es capaz de acumularse en eritrocitos, estimulando la formación de formas activas de óxidos y peróxidos de lípidos cuyo incremento en las membranas provoca la destrucción de metahemoglobina. El Cd reduce el contenido de Se, formando complejos inertes con este, lo cual previene la inactivación de la glutatión transferasa y la glutatión peroxidasa (Slivinska *et al.*, 2020). La actividad carcinogénica del cadmio se ha asociado a la inhibición de los mecanismos de la reparación de ADN, la reparación por escisión de nucleótidos, la unión de extremos no homólogos, la reparación por escisión de bases y la reparación de errores de apareamiento (Morales *et al.*, 2016). El Cd reduce el crecimiento en plantas debido al incremento en la actividad de la ácido indol-3-acético (IAA) oxidasa (Chaoui & El Ferjani, 2005). El exceso de Cd en suelo lleva a la deficiencia de Fe en plantas (Siedlecka & BaszyńAski, 1993).

El Pb representa el 0.0013% de la corteza terrestre. El metal es emitido por actividades antropogénicas como la quema de combustible, la industria, la quema de carbón y la producción de concreto, entre otros. Durante el siglo XX, este metal fue utilizado para la producción de pipas, alambres, pinturas, baterías y combustibles. Toxicidad de Pb en plantas es caracterizada por la inhibición de actividad de enzimas con el grupo tiol (-SH), inhibe la germinación de semillas y retarda el crecimiento de plántulas, reduce el crecimiento de raíz y brote, promueve la formación de especies reactivas de oxígeno por ende estrés oxidativo, daño en la estructura de cloroplastos con ello reduce la tasa fotosintética, inhibiendo síntesis de clorofila, plastoquinonas y carotenoides, alteración en la permeabilidad de membrana debido a que el Pb se une fuertemente a grupos carboxilo de los carbohidratos en la pared celular (Sharma & Shanker, 2005). A nivel celular, el plomo es capaz de bloquear o reemplazar la interacción de calcio con algunas

proteínas y afecta la síntesis del grupo hemo. Al entrar al cuerpo, el Pb se une a los eritrocitos, los cuales lo transportan a hígado, riñones, pulmones, cerebro, bazo, músculos y corazón, la exposición prolongada al metal favorece su acumulación en huesos y dientes. Cantidades pequeñas de Pb son capaces de causar severas anomalías, en niños puede retrasar el desarrollo físico y psicológico, también causa estrés oxidativo e induce cambios metabólicos en placenta aumentando el riesgo de aborto espontáneo (Kosek-Hoehne *et al.*, 2017). El Pb es un componente venenoso altamente acumulativo, se ha reportado que, en cortos periodos de tiempo, las sales de Pb en baja concentración conducen a la reducción de la protección del sistema antioxidante, acompañado de la acumulación de productos de peroxidación de lípidos, la reducción de la actividad de superóxido dismutasa, catalasa, glutatión peroxidasa y glutatión reductasa (Slivinska *et al.*, 2020).

Elementos como el As tienen sus fuentes naturales en la actividad volcánica, incendios forestales, evaporación a baja temperatura desde el suelo, evaporación desde océanos, erosión y eluviación. Entre las fuentes antropogénicas de As encontramos la quema de combustibles fósiles, procesos metalúrgicos, producción de hormigón y cristal, y la agricultura. El As es usado para producir herbicidas, preservación de madera, producción de cristal, tintes, armas químicas y purificar gases industriales. El As es comúnmente encontrado en el suelo de dos formas, arsenito [As (III)] y arseniato [As (V)], el As (III) actúa en los organismos uniéndose a grupos tiol (-SH) en enzimas y proteínas lo cual provoca mal funcionamiento en funciones celulares, mientras que el As (V) es un análogo del P por lo cual interfiere con la captura de P y el metabolismo de la planta, ambos tipos de As llevan a la generación de especies reactivas de oxígeno lo que da como resultado estrés oxidativo (Singh *et al.*, 2016). El aumento en la concentración de As en el suelo conlleva a la reducción de clorofila α y β en las hojas de *Oryza sativa* L., lo cual se relaciona con la reducción de tamaño de la planta (Rahman *et al.*, 2007). El As puede causar cáncer en diversos órganos, siendo frecuentes el cáncer de tracto respiratorio y tumores en la piel. (Kosek-Hoehne *et al.*, 2017). La actividad carcinogénica del As se atribuye a la inhibición de la poli (ADP-ribosa) polimerasa-1 (PARP-1), importante en la reparación del ADN; al exponer linfocitos a As se

mostró la represión de los genes *ERCC1*, *XPB* y *XPF* (Morales *et al.*, 2016). La proteína de reparación por escisión de ADN (*ERCC1*) y la endonucleasa XPF son importantes en la reparación de enlaces cruzados entre cadenas de ADN, los cuales evitan la separación de las hebras de ADN, bloqueando la transcripción y replicación (Niedernhofer *et al.*, 2004; Olaussen *et al.*, 2006). La endonucleasa XPB, es una de las 10 subunidades del factor de transcripción humana IIH (TFIIH) que participa en el sistema de defensa celular para proteger el genoma por reparación por escisión de nucleótidos (Coin *et al.*, 2007).

El Cr se puede encontrar en la corteza terrestre y el agua de mar, como cromo metálico (0), trivalente [Cr (III)] y hexavalente [Cr (VI)]; este último es resultado de la oxidación del Cr (III) y es altamente tóxico (Cefalu & Hu, 2004), debido a que el Cr (VI) puede entrar en las células y reducirse a Cr (V), Cr (IV) hasta Cr (III), pero estos estados de oxidación dañan la integridad celular por el deterioro de proteínas, ADN y lípidos de membrana (Sharma *et al.*, 2020a), debido a sus propiedades fuertemente oxidativas (Shekhawat *et al.*, 2015). El Cr ha sido manipulado en la industria por más de 100 años, el Cr (0) es utilizado para hacer acero y otras aleaciones, trivalente encontrado en rocas, suelo, plantas, animales y emisiones volcánicas, y Cr (VI) es resultado de Cr (III) después de diversos procesos industriales (Pellerin & Booker, 2000). El Cr (III) es un nutriente esencial con baja toxicidad, se encuentra en yemas de huevo, cereales con contenido de salvado, café, nueces, habas verdes, brócoli, levadura de cerveza y carne (Cefalu & Hu, 2004). La ingesta permitida de Cr es de 35 µg/día para hombres y 25 µg/día para mujeres jóvenes (Institute of Medicine US, 2001). El Cr es un cofactor en la acción de la insulina, se ha demostrado que debido a niveles bajos de Cr en animales de experimentación y humanos con nutrición parenteral total prolongada sin suplemento de Cr, desarrollaron síntomas de diabetes, entre los que se incluyen pérdida de peso e hiperglucemia, sugiriendo una relación entre los niveles de Cr y el metabolismo de glucosa y/o lípidos (Institute of Medicine US, 2001; Cefalu & Hu, 2004). Los órganos con mayores concentraciones de Cr son hígado, riñones, bazo y huesos (Cefalu & Hu, 2004; Shekhawat *et al.*, 2015). El Cromo (VI) puede entrar al cuerpo por respirar aire contaminado, al ingerir comida o beber agua que lo

contenga, es un carcinogénico, principalmente en pulmones y en la cavidad nasal. La inhalación de altas concentraciones de Cr (VI) provoca escurrimiento nasal, estornudos, picazón, sangrado nasal, úlceras y hoyos en el septum nasal. La ingesta de Cr (VI) provoca daño en riñones e hígado, náuseas, irritación del tracto gastrointestinal, úlceras estomacales, convulsiones e incluso la muerte. La exposición a la piel de Cr (VI) puede generar úlceras en la piel o reacciones alérgicas (Pellerin & Booker, 2000). El Cr (VI) puede entrar a las células donde es reducido a Cr (III), siendo ésta la especie iónica asociada al daño en el ADN entre las que destacan la fragmentación de la cromatina, entrecruzamiento de ADN y proteínas, así como la formación de aductos de Cr-ADN por la interacción del Cr con adenina y guanina (Pellerin & Booker, 2000; Taufik *et al.*, 2017). El Cr (VI) tiene la capacidad de entrar a eritrocitos, unirse a hemoglobina y reducir su actividad (Shekhawat *et al.*, 2015). El Cr en plantas influye en su crecimiento debido a daños en la membrana celular en diversos tejidos, daño en raíces afectando la distribución de agua y nutrientes, daño en cloroplastos reduciendo el contenido de pigmentos fotosintéticos generando clorosis en hojas, producción de especies reactivas de oxígeno, alteración de enzimas (Sharma *et al.*, 2020a).

CAPÍTULO IV

IV. Métodos convencionales para la eliminación de metales pesados

En el siguiente apartado se presentan diversos métodos de remediación implementados comúnmente en la remoción de metales pesados en el medio, como marco de referencia antes de describir los mecanismos implicados en la biorremediación de metales pesados.

Los metales pesados son descargados al ambiente en un amplio rango de formas fisicoquímicas, ya sea como iones, sales, partículas, etc. Los iones metálicos pueden ser retenidos por algunos componentes del suelo (minerales o sustratos orgánicos) mediante sorción, precipitación, complejación, y reacciones redox, en un proceso lento (Dermont *et al.*, 2008). Existen diversas técnicas para eliminar estos contaminantes conocidas como técnicas de remediación que son clasificadas sobre la base de:

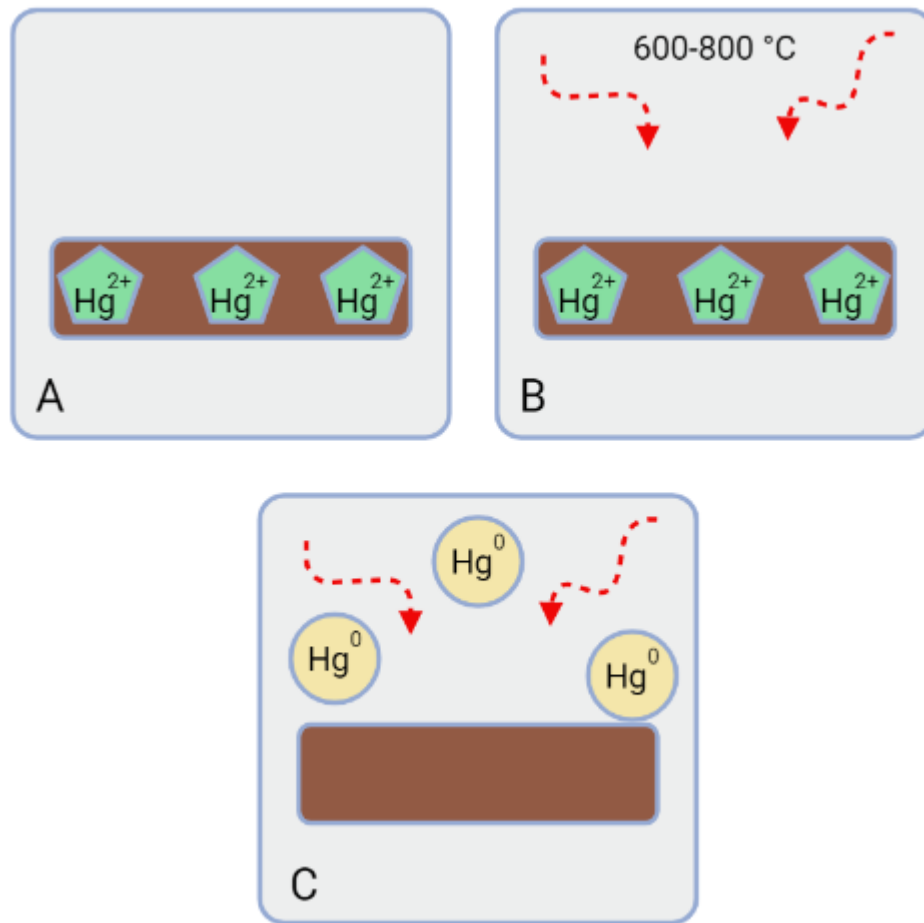
- 1) la naturaleza de la acción que se aplica sobre los metales (inmovilización o extracción);
- 2) el lugar en donde el proceso es aplicado (*in situ* o *ex situ*);
- 3) tipo de técnica, métodos de contención / eliminación, químicos, físicos, térmicos, biológicos, o monitoreo de atenuación natural.

Diversos procesos físicos son utilizados para la separación de metales pesados de sitios contaminados, basados en la implementación de técnicas de separación por tamaño, gravedad, flotación, depuración por desgaste, clasificación hidrodinámica, separación electrostática y magnetismo (Dermont *et al.*, 2008; Gunatilake, 2015). La desorción térmica (**Figura 3**), es una técnica utilizada para la remediación de suelos con Hg; este elemento es encontrado como Hg (0) o Hg (II) en el suelo, las cuales, al aumentar la temperatura en un rango de 600-800 °C, pueden convertirse en mercurio volátil. Esta técnica como método de remediación tiene como ventaja ser segura, genera menos emisiones de sustancias contaminantes en comparación con otras técnicas de remoción de Hg, desde rangos de temperatura de entre 540-650 °C, puede reducir la concentración del Hg residual de suelos a menos de 2

mg·Kg⁻¹ y el mercurio volátil ser capturado con hasta un 99% de puridad (Chang & Yen, 2006).

Figura 3.

Desorción térmica.



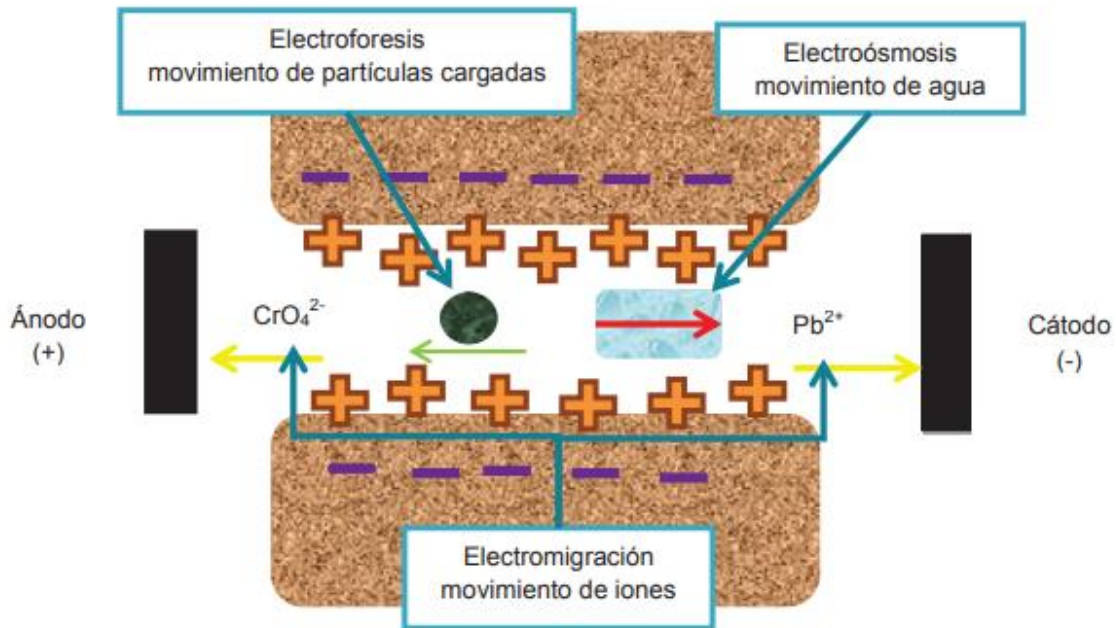
Nota. Adaptado de Chang & Yen, 2006.

Las técnicas electrocinéticas (**Figura 4**) usan procesos electroquímicos para la remoción de metales pesados a partir de suelos saturados y parcialmente saturados, arcillas y arcillas de limo; su eficiencia se reduce en sitios contaminados con múltiples metales (Dermont *et al.*, 2008). La eficiencia de la separación física depende de las características del suelo, como forma y tamaño de las partículas, contenido de arcilla, humedad, contenido húmico, heterogeneidad del suelo,

diferencia de las densidades entre la matriz del suelo y los metales pesados, propiedades magnéticas y propiedades hidrofóbicas (Gunatilake, 2015).

Figura 4.

Mecanismos participantes en electroremediación.



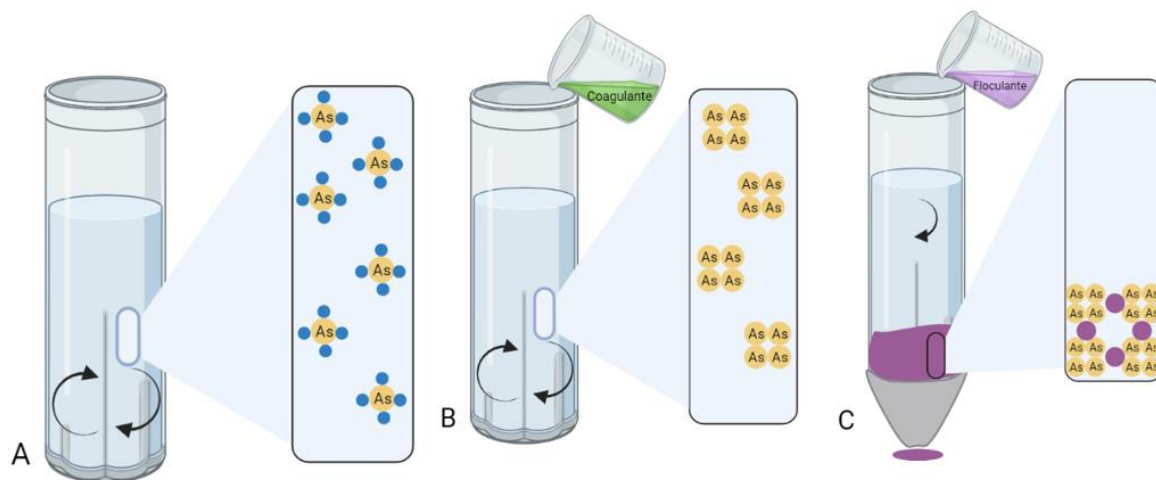
Nota. Tomado de “Mecanismos de transporte durante la electroremediación”, Aragón, C., 2013, Escuela politécnica nacional.

Existen técnicas de separación de metales pesados que involucran mecanismos de coagulación-floculación (**Figura 5**), basados en el potencial zeta (ζ), que es una medida para definir la interacción electrostática entre contaminantes y agentes coagulante-floculantes (Gunatilake, 2015). La coagulación y la floculación son métodos que potencian la separación de partículas en procesos como sedimentación o filtración en agua. Las partículas coloidales y otras materias finamente divididas se asocian y aglomeran para formar partículas de mayor tamaño que posteriormente se pueden eliminar de una manera más eficaz. La floculación es un proceso que permite la asociación de partículas coloidales, con ello la

formación de partículas más grandes, que son más fáciles de separar por sedimentación o filtración (Shammas, 2005). El aumento en el tamaño de las partículas en el proceso de floculación es debido a las colisiones o interacciones con polímeros orgánicos o inorgánicos agregados como sales basadas en Al o Fe, o polímeros orgánicos sintéticos, conocidos como polielectrolitos (Shammas, 2005; Gunatilake, 2015).

Figura 5.

Coagulación-floculación.



Nota. A. Tanque de mezcla rápida contaminado con As. B. Integración de coagulante que desestabiliza As de moléculas de agua y formación de coágulos. C. Tanque de mezcla lenta con incorporación de floculante y aglomeración de coágulos. Adaptado de Shammas, 2005.

La coagulación ha mostrado efectos positivos en la remoción de contaminantes de tipo materia orgánica tóxica, virus, radionucleidos y metales mediante la absorción por coloides. Este método es viable para la desestabilización y aglomeración de material, es utilizado para el tratamiento de aguas. El proceso de coagulación, se divide en tres pasos secuenciales: formación del coagulante, desestabilización de partículas, y colisión entre partículas. Los dos primeros pasos son rápidos y ocurren

en un mismo tanque de mezcla rápida. El tercer paso tiene lugar en un tanque de floculación con flujo y mezcla lenta para aglomerar las partículas (Shammas, 2005).

Otra técnica utilizada es la precipitación química, la cual es aplicada para la remoción de metales pesados a partir de efluentes inorgánicos de la industria (Gunatilake, 2015). La precipitación química es un proceso que elimina del agua a los iones metálicos solubles no deseados por su conversión a una forma no soluble; este proceso implica la alteración en el equilibrio iónico para la producción de precipitados insolubles con la finalidad de ser eliminados fácilmente por sedimentación. La precipitación es seguida por la separación de sólidos por medio de técnicas como coagulación, sedimentación o filtración. Existen diferentes tipos de precipitación química: precipitación de hidróxido, precipitación de sulfuro, precipitación de cianuro, precipitación de carbonato o coprecipitación. Este proceso es utilizado para ablandamiento y estabilización de agua, eliminación de metales pesados, así como de eliminación de fosfatos (Wang *et al.*, 2005).

El empleo de técnicas para la remoción de contaminantes aplicada comúnmente es el uso de membranas de filtración, las cuales son capaces de remover sólidos suspendidos, componentes orgánicos y contaminantes inorgánicos (Gunatilake, 2015). Las técnicas de membrana utilizadas en el tratamiento de aguas son categorizadas en dependencia del tamaño de partícula que retienen; entre ellas destacan la electrodiálisis (Sadzadeh & Mohammadi, 2008), la osmosis inversa (Blandin *et al.*, 2015), la microfiltración, la ultrafiltración y la nanofiltración (Vigneswaran *et al.*, 2005).

CAPÍTULO V

V. Procesos Biológicos: Biorremediación

La biorremediación se refiere al uso de organismos vivos para eliminar desechos, sustancias peligrosas u otros contaminantes (Bour, 2016). La biorremediación permite la eliminación de compuestos de desecho, degradando los contaminantes; permitiendo la desintoxicación de ambientes contaminados (Juwarkar *et al.*, 2010). La naturaleza de los contaminantes a tratar por biorremediación va desde agroquímicos, compuestos clorados, colorantes, gases de efecto invernadero, metales pesados, hidrocarburos, residuos nucleares, plásticos y aguas residuales (Azubuike *et al.*, 2016). La implementación de tratamientos biológicos en los procesos de remediación, resultan ser económicos en comparación de tratamientos de otros indoles, como se puede apreciar en la **Tabla 11**, aunado a esto, los procesos de remediación biológicos permiten ser acoplados con otras técnicas de tratamiento, estableciendo una cadena de tratamiento para desechos mixtos y complejos (Juwarkar *et al.*, 2010).

Tabla 11.

Comparación en costos en procesos de remediación.

Tratamiento	Costo aproximado (^a £·tonelada de suelo ⁻¹)
Biológico	5-170
Químico	12-600
Físico	20-170
Solidificación/ Estabilización	17-171
Térmico	30-750

Nota. Tomado y traducido de Juwarkar *et al.* (2010); ^a libra esterlina.

La contaminación impacta en la dinámica de los ecosistemas. En ambientes contaminados existen comunidades microbianas menos diversas (Juwarkar *et al.*, 2010); estas comunidades muestran una estrategia colectiva de cambio de una población nativa a una aclimatada, durante la adaptación de esta comunidad ante la presencia de los contaminantes (Paliwal *et al.*, 2012). Los organismos adaptados

al medio contaminado pueden presentar funciones catabólicas especializadas, con ello realizar la tarea de biorremediación del o de los contaminantes del medio (da Silva & Álvarez, 2010).

Existen diferentes técnicas de biorremediación cuya aplicación utiliza diversos criterios de selección tales como la naturaleza del contaminante, la profundidad y grado de contaminación, el tipo de ambiente, la ubicación, el costo y las políticas ambientales (Azubuike *et al.*, 2016). Las técnicas de biorremediación se pueden adaptar a las condiciones del sitio, para lo cual se realiza la identificación del problema, la evaluación de la naturaleza del contaminante y su peligrosidad. La elección de la técnica de bioremediación exige el conocimiento del proceso a detalle, de lo contrario, su empleo podría conducir a la producción de sustancias más nocivas o móviles que el compuesto original (Juwarkar *et al.*, 2010). Un claro ejemplo es el del bioaumento del suelo con *Phragmites australis* y su bioestimulación con P para la eliminación de endosulfán, cuya aplicación produjo un efecto de volatilización en lugar de degradación de uno de los plaguicidas organoclorados más abundantes en la atmósfera (Zhao *et al.*, 2014). Las técnicas de biorremediación más utilizadas son fitorremediación, bioblanqueamiento, biorreactores, compostaje, rizofiltración y bioestimulación (Bour, 2016).

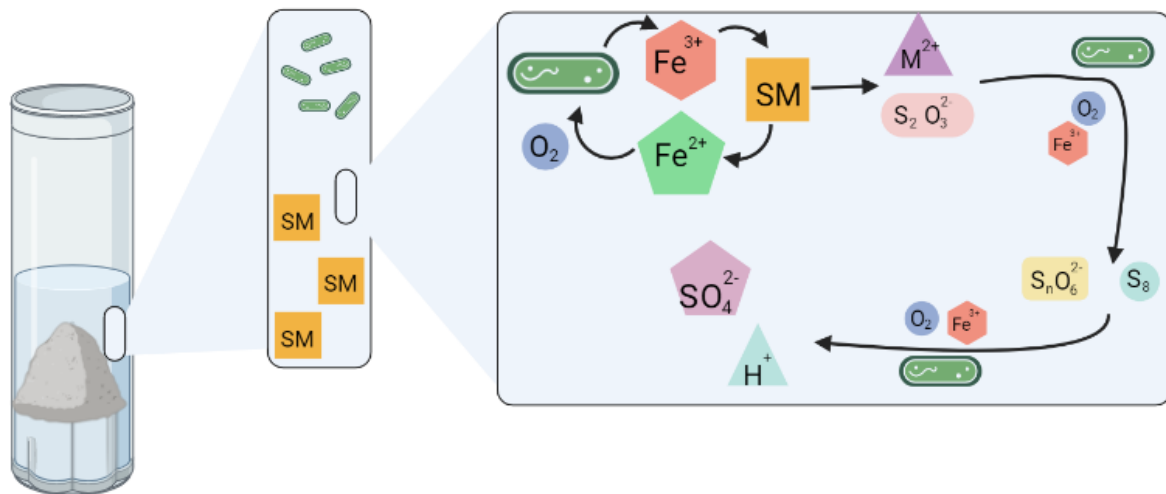
V.I Biolixiviación

La biolixiviación (**Figura 6**) es la movilización de cationes metálicos procedentes de minerales mediante procesos biológicos de oxidación y de complejación. Los metales para los que se suele usar esta técnica son Cu, Co, Ni, Zn y U, los cuales son extraídos de sulfuros insolubles (Vera *et al.*, 2013). La biolixiviación permite la extracción de minerales a partir de desechos y depósitos de minerales del suelo. El proceso de lixiviación es comúnmente observado en pilas biológicas y biolixiviación *in situ* (Yin *et al.*, 2018). Las bacterias son participes en la disolución del mineral mediante la generación del agente oxidante y por una oxidación posterior de los compuestos de azufre liberados, de sulfuro metálico a ácido sulfúrico. Los microorganismos predominantes que disuelven sulfuros metálicos son bacterias y arqueobacterias acidófilas que oxidan compuestos de azufre inorgánico y iones de

Fe (II). Los géneros de bacterias lixiviantes son *Acidithiobacillus*, *Acidiphilium*, *Acidiferrobacter*, *Ferrovum*, *Leptospirillum*, *Alicyclobacillus*, *Sulfobacillus*, *Ferrimicrobium*, *Acidimicrobium* y *Ferrithrix*; en estos géneros encontramos bacterias mesófilas y moderadamente termófilas. Para las arqueas, los géneros son *Sulfolobus*, *Acidianus*, *Metallosphaera*, *Sulfurisphaera* y *Ferroplasma*; estos géneros son oxidantes de Fe (II) y azufre extremadamente termófilas (Vera *et al.*, 2013).

Figura 6.

Proceso de biolixiviación.



Nota. SM: Sulfuros metálicos. Adaptado de Vera *et al.*, 2013.

V.II Biosorción

La biosorción es un proceso natural fisicoquímico utilizado principalmente en la eliminación de contaminantes como metales pesados, sustancias radioactivas, colorantes, compuestos fenólicos y pesticidas, presentes en efluentes en bajas concentraciones (Wang *et al.*, 2016). La biosorción utiliza material de origen vegetal o biológico, y se basa en varios mecanismos como absorción, adsorción, intercambio iónico, complejación superficial y precipitación (Fomina & Gadd., 2014). La biosorción utiliza biomasa residual inactiva para eliminar los contaminantes de la solución acuosa mediante un proceso no metabólico, en el cual se une pasivamente

el contaminante a la biomasa no viva debido a la presencia de grupos funcionales en la pared celular y/o metabolitos en el área externa (Mwandira *et al.*, 2020), como se ejemplifica en la **Figura 7**, en donde se utiliza raquis de maíz para la captura de Pb^{2+} por la presencia de grupos funcionales con carga negativa, se puede observar la influencia del pH en las interacciones entre los metales pesados y los grupos funcionales, en condiciones ácidas por la competencia con hidrones (H^+) el Pb^{2+} no es capturado, en cambio en condiciones alcalinas, la competencia es menor y por ello puede ser secuestrado (Jiménez *et al.*, 2015).

Figura 7.

Biosorción de Pb por raquis de maíz.



Nota. Tomado de “Mecanismo de biosorción de iones de Pb (II), con MRLZ”, Jiménez *et al.*, 2015, *Revista de la sociedad química del Perú*, 81 (2).

La biosorción consta de dos fases, una fase sólida (sorbente), y una líquida (disolvente) la cual contiene el contaminante. Los biosorbentes pueden ser bacterias, hongos o algas, así como desechos vegetales y forestales, lo cual permite la reutilización de material agrícola y forestal. El alto contenido de celulosa en el material vegetal, lo convierte en un material eficaz en la biosorción de iones de metales pesados. Se han utilizado como biosorbentes de origen vegetal a semillas, hojas, raíz, bagazo, tallo, paja, corteza flores y cáscaras (Jain *et al.*, 2016). Los biosorbentes son tratados como desechos sólidos después de varios ciclos de biosorción-desorción. La propiedad de unión del biosorbente está determinada por

la presencia de grupos funcionales del tipo carboxilo, amino, fosfato y sulfonato, que se unen a los contaminantes. Se ha comprobado que los sitios de biosorción en el material pueden variar para diferentes contaminantes, maximizando la reutilización del biosorbente (Wang *et al.*,2016).

Se ha reportado el proceso de biosorción de Pb (II) y Zn (II) por *Oceanobacillus profundus* KBZ 3-2, aislada de la mina Kabwe, Zambia, África. *O. profundus* mostró un porcentaje de remoción del 97% de Pb (II) a partir de una concentración de 50 mg·L⁻¹, y una remoción del 54% de Zn (II) a partir de una concentración inicial de 2 mg·L⁻¹; ambos después de 24 horas, a una temperatura de 30 °C y con un pH de 6. El proceso de biosorción fue realizado por las sustancias poliméricas extracelulares producidas por *O. profundus*. Las sustancias poliméricas extracelulares están constituidas por 105 µg·L⁻¹ de proteínas y 679 µg·L⁻¹ de carbohidratos y fueron las responsables de la biosorción por quelación de Pb (II) y Zn (II), por la presencia de grupos carboxilo cargados negativamente al grupo sulfato y al grupo fosfato (Mwandira *et al.*, 2020).

V.III Bioaumentación

La bioaumentación consiste en la adición de cultivos microbianos catabólicos especializados, que comúnmente se cultivan por separado, adaptándolas hacia el medio objetivo para realizar tareas de remediación específica en un entorno determinado (da Silva & Álvarez, 2010; Zhao *et al.*, 2014). Existen dos enfoques de bioaumentación; uno consiste en agregar microorganismos con potencial catabólico para complementar o reemplazar la población de microorganismos nativos. Las bacterias o consorcios incorporados a un ambiente contaminado pueden sobrevivir y superar a los organismos nativos, ocupando el nicho metabólico (da Silva & Álvarez, 2010); aunque existe la posibilidad de que los microorganismos se conviertan en invasores e impacten negativamente el ambiente (Zhao *et al.*, 2014). El segundo enfoque consiste en la adición de una concentración alta de microorganismos, que en el nicho ejecutan actividades biocatalizadoras por un periodo de tiempo y degradan una cantidad significativa de contaminante. Posteriormente se inactivan o perecen debido al estrés biótico o abiótico en el medio

contaminado (da Silva & Álvarez, 2010). En este sentido, se ha utilizado a *P. australis* para la degradación de endosulfán en el tratamiento de suelo; la estimulación de la actividad con sacarosa favoreció la reducción de 76-77% de endosulfán mientras que la incorporación de un consorcio bacteriano constituido por bacterias de los géneros *Alcaligenes*, *Labrays* y *Serratia* mostró ser una estrategia 5.91-7.60% más eficiente en la remoción del contaminante. Por otro lado, la estimulación de *P. australis* con fósforo (KH_2PO_4) para el tratamiento de endosulfán, aumentó la tasa de absorción y transporte, pero no su degradación; el contaminante fue absorbido por la planta y eliminado por volatilización a través de las hojas, contaminando el aire (Zhao *et al.*, 2014).

V.IV Bioestimulación

La bioestimulación consiste en la adición de uno o más nutrientes, y la optimización de condiciones como la disponibilidad de oxígeno, temperatura, pH y potencial redox, que limitan la velocidad de la tasa de biodegradación de los contaminantes (Nikolopoulou & Kalogerakis, 2010; da Silva & Álvarez, 2010; Zhao *et al.*, 2014). Las variables por optimizar dependen del sistema de origen. En la biorremediación de ambientes marinos, la ausencia de N y P es una limitante (Nikolopoulou & Kalogerakis, 2010). En la biorremediación de sitios contaminados con hidrocarburos, los microorganismos son capaces de utilizar estos contaminantes como fuente de C y energía, pero requieren la adición de N y P al entorno (Ron & Rosenberg, 2010; Dias *et al.*, 2015).

V.V Biopilas

La biorremediación por biopilas, también llamadas bioceldas o pilas de composteo, es una técnica biológica controlada, en la que contaminantes orgánicos son biodegradados y mineralizados. Las biopilas se utilizan para reducir las concentraciones de hidrocarburos en suelos contaminados mediante la biodegradación. Esta técnica de remediación consiste en la estimulación de la actividad microbiana mediante la aireación, adición de nutrientes y humedad. Se compone de las etapas de aireación, riego, sistemas de recolección de nutrientes y lixiviado. La técnica permite tratar un gran volumen de suelo contaminado en un

espacio limitado (Sanscartier *et al.*, 2009; Azubuike *et al.*, 2016). La aireación puede ser pasiva o forzada, en el caso de la segunda se utilizan bombas de aire que brindan una mejor distribución de aire, pero no es viable en zonas remotas. El incremento de la temperatura puede potenciar la actividad microbiana y la disponibilidad de contaminantes, no obstante, requiere un monitoreo constante de la temperatura del aire para evitar el secado del suelo, la inhibición de la actividad microbiana y la volatilización de los contaminantes. La implementación de un sistema de humidificación de las biopilas mantiene en óptimas condiciones el contenido de humedad sin promover en exceso la lixiviación, potencia la biodegradación y minimiza la volatilización (Sanscartier *et al.*, 2009), se puede observar un ejemplo de biopila en la **Figura 8**, en donde se señalan componentes importantes como entradas y salidas de aire para la ventilación, tratamiento para los lixiviados, la adición de nutrientes y humedad, entre otros.

A pesar de las bajas temperaturas y baja disponibilidad de nutrientes en el suelo, la biorremediación por biopila en conjunto de la bioestimulación es factible aun en sitios como la Antártida para la eliminación de hidrocarburos en suelo. El uso de biopilas con bacterias de los géneros *Caulobacter*, *Sphingomonas*, *Brevendimonas* y *Rhodofera* a temperaturas promedio de 0.9 °C (-5.5 – 7.7 °C) y enriquecidas con harina de pescado como fuente de N y P, redujo significativamente la cantidad de estos contaminantes (Dias *et al.*, 2015).

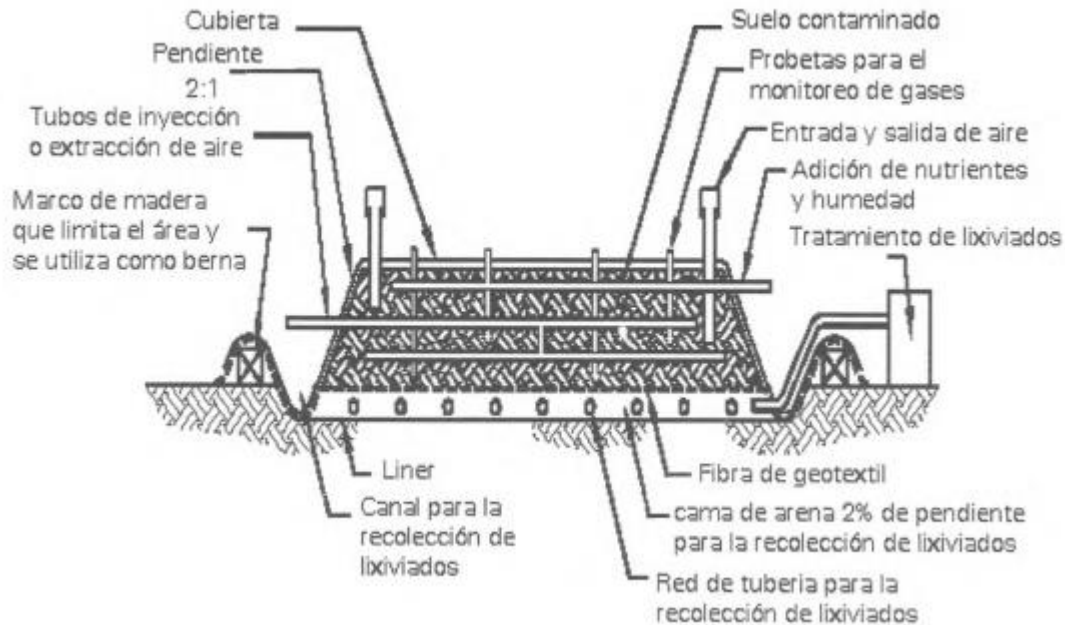
V.VI Bioacumulación

La bioacumulación es la acumulación de contaminantes orgánicos o inorgánicos en tejidos animales o vegetales, entre los que encontramos peces, coleópteros, musgos, líquenes, entre otros (da Costa *et al.*, 2016). El proceso de absorción es controlado metabólicamente por la biomasa viva, la cual requiere la interacción entre el contaminante y la pared celular. Dentro de la célula, el contaminante se une a sitios activos de absorción, compuestos por polisacáridos y proteínas (Mwandira *et al.*, 2020). En la bioacumulación, la interrupción a la exposición del contaminante favorece la excreción de la sustancia acumulada al medio ambiente. El monitoreo de bioacumuladores en cultivos permite evaluar el grado de contaminación de los

ambientes con hidrocarburos, compuestos radiactivos o metales pesados como Pb, V, Cd, Cr, Zn, Ni y Mn (da Costa *et al.*, 2016).

Figura 8.

Partes de una biopila.



Nota. Tomado de "Partes de una biopila", Iturbide-Argüelles *et al.*, 2002, *Ingeniería investigación y tecnología III*, 1.

V.VII Biorremediación con hongos

La biorremediación fúngica implica el uso de enzimas de origen fúngico para la biocatálisis de contaminantes. El empleo de enzimas en biorremediación representa una menor contaminación ambiental en comparación con los métodos químicos convencionales (Saglam *et al.*, 2018). Algunas de las enzimas lignolíticas extracelulares ampliamente usadas son la lacasa, la peroxidasa de manganeso y la peroxidasa de lignina, las cuales tienen la capacidad de eliminar sustancias xenobióticas (Ellouze & Sayadi, 2016). Las lacasas son enzimas del grupo de las oxidasas de cobre azul que catalizan la oxidación monoelectrónica de diversas

sustancias, siendo uno de los más importantes los compuestos fenólicos. Estas enzimas son capaces de convertir en nutrientes productos como madera, plásticos y pinturas, entre otros (Viswanath *et al.*, 2014). Las lacasas han sido utilizados en el biopulpeo, que es el pretratamiento fúngico de madera para la producción de pulpa, aprovechando la capacidad de hongos de pudrición blanca de degradar selectivamente la lignina de la madera dejando la celulosa (Bajpai, 2018).

Se han utilizado diferentes especies de hongos con el fin de reducir diferentes contaminantes en el ambiente. El uso de la biomasa seca de *Phanerochaete chrysosporium* tiene la capacidad de biosorción de Hg en la forma $HgCl_2$, metil mercurio (CH_3HgCl) y etil mercurio (C_2H_5HgCl), en rangos de pH de 3 a 8 a una temperatura de 25 °C (Saglam *et al.*, 1998). Los hongos de pudrición blanca son más eficientes que las bacterias en la degradación de fenoles simples y complejos (Mann *et al.*, 2009), como en el interesante estudio del hongo *Trametes versicolor*, el cual fue utilizado para la remoción de fenoles en aguas residuales de almazaras, la cual contiene compuestos fitotóxicos y componentes antimicrobianos entre los que destacan compuestos fenoles poliméricos y monoméricos, ácidos volátiles, polialcoholes, componentes nitrogenados (Aytar *et al.*, 2011). El hongo *Cerrena* sp., autóctono de Australia, demostró una reducción del 75% de fenoles totales de aguas residuales de almazaras después de 2 horas de su incorporación por la acción de la lacasa producida por esta cepa a una temperatura de 25 °C (Mann *et al.*, 2009).

También se han utilizado hongos para la biorremediación de creosota e hidrocarburos aromáticos policíclicos, como es el caso de la mezcla de *Cladosporium* sp., *Fusarium* sp., *Penicillium* sp., *Aspergillus* sp. y *Pleurotus* sp., autóctonos de KwaZulu-Natal, Sudáfrica, bioestimulados con suplementos nutricionales para obtener una proporción C: N: P de 25:5:1. Con éstos se obtuvo un porcentaje de reducción de la concentración de creosota (derivado del fraccionamiento de alquitranes) de 94.1% después de 70 días. La misma mezcla fue capaz de degradar completamente naftalina, antraceno, fenantreno, pirrol y floureno, degradó pirineo, criseno, fluoranteno y benzo(a)-pirineo (Atagana *et al.*, 2006). Se ha reportado que *Penicillium citrinum* autóctona de Arequipa, Perú es

capaz de reducir hasta en un 80% de la concentración de Cr (VI) después de 120 horas de exposición a efluentes de la industria de curtiduría con el uso de un biorreactor de columna de burbujas con capacidad de 5 L (Zapana-Huarache *et al.*, 2020).

Algunas especies de hongos poseen la capacidad de producir ácido oxálico, el cual es un quelante y agente reductor, capaz de aumentar la acidez del sustrato y con ello la solubilidad de metales. Entre los hongos con la capacidad de producir ácido oxálico se encuentran *Formitopsis palustris*, *Laetiporus sulphureus* y *Coniphora puteanea*. Se reportó que el ácido oxálico producido por estas especies es capaz de lixiviar compuestos de arseniato de cobre cromado, el cual es utilizado en el tratamiento para la conservación de madera, estos dos últimos forman complejos, los cuales contamina con Cr, Cu y As, al contacto o al quemar la madera; sin embargo, el complejo formado por el arseniato de cobre cromado a condiciones altamente ácidas puede ser reversible. Al tratar aserrín con arseniato de cobre cromado con ácido oxálico, el ácido oxálico producido por *F. palustris* removió cerca del 72% de Cu, 87% de Cr y 100% de As, el de *L. sulphureus* removió 50% de Cu, 69% de Cr y 85% de As y el de *C. puteanea* removió 67% de Cu, 19% de Cr y 18% de As (Kartal *et al.*, 2004).

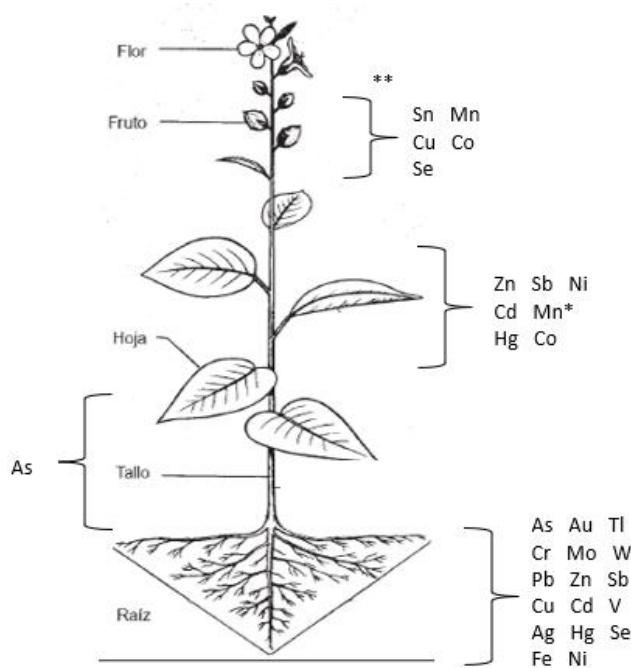
V.VIII Fitorremediación

El término fitorremediación, se refiere a una serie de técnicas de limpieza de contaminantes orgánicos e inorgánicos en el ambiente mediante el uso de plantas y microorganismos asociados a estas, con la finalidad de detoxificar, transformar, extraer, secuestrar o asimilar diversos compuestos inorgánicos tóxicos y contaminantes orgánicos en el ambiente, especialmente en el suelo, mantos acuíferos, agua superficial y aire (Placek *et al.*, 2016; Hussain *et al.*, 2018), para el año 2011 habían reportado aproximadamente 450 especies de angiospermas como hiperacumuladoras de metales pesados (Rascio & Navari-Izzo, 2011). La fitorremediación requiere abarcar dos procesos, el primero que consiste en el control y estabilización del contaminante, previniendo su movimiento a otro medio, el segundo se refiere a la “cosecha” de la planta acumuladora con alto contenido de

contaminantes para la reducción de la concentración de este en el medio, el material “cosechado” puede ser tratado mediante diversos procesos como precipitación química, adsorción, intercambio iónico y tecnologías electroquímicas con la finalidad de facilitar su almacenamiento (Wei *et al.*, 2021). La fitoextracción involucra la captación de metales pesados por las raíces de la planta con la subsecuente acumulación de altas concentraciones inusuales de iones metálicos (**Figura 9**) en sus órganos aéreos (Jabeen *et al.*, 2009; Arya *et al.*, 2017).

Figura 9.

Principales órganos en los que se acumulan metales pesados en plantas.



Nota. Mn* solo en hojas viejas. ** Sn, Cu, Se, Co en semillas; Mn en vainas. Información modificada de Kabata-Pendias (2001). Imagen adaptada de “Funciones de la raíz y del vástago”, por H. Troiani, A. Prina, W. Muiño, M. Tamame y L. Beinticinco, 2017, Universidad de la Pampa.

La acumulación de metales en los órganos aéreos se ve influenciada por la concentración del metal en el suelo (Begonia *et al.*, 2004), de igual manera influye

los factores de bioconcentración y de translocación. El factor de bioconcentración hace referencia a la relación entre la acumulación del tejido y del agua, para ello se calcula con la siguiente formula:

Factor de bioconcentración: Concentración del tejido/ Concentración del agua.

Valores del factor de bioconcentración mayores a 1 indican capacidad para la bioacumulación de metales pesados en su biomasa (Alderete-Sarez *et al.*, 2018), cabe mencionar que una planta sea capaz de bioacumular un metal no la hace una hiperacumuladora de este, debido a que esto se basa en la fitotoxicidad de cada metal, para que una planta sea hiperacumuladora esta debe ser capaz de crecer en suelo y presentar cierta concentración de metal en sus tejidos aéreos (**Tabla 12**) sin sufrir daño fitotóxico. Las plantas hiperacumuladoras presentan tres rasgos en común: I) Capacidad para capturar metales pesados desde el suelo, II) Rápida y optima translocación de metales desde la raíz a tejidos aéreos y III) capacidad para secuestrar y detoxificar grandes cantidades de metales pesados en las hojas (Rascio & Navari-Izzo, 2011).

El factor de translocación que es la concentración del metal en los órganos aéreos y la raíz de la planta lo cual nos permite determinar su capacidad para movilizar o inmovilizar contaminantes desde su raíz hacia sus órganos aéreos, su valor se obtiene con la siguiente formula:

Factor de translocación= Concentración aérea/ Concentración raíz.

Aquellos factores de translocación mayores a 1 sugieren gran capacidad para el transporte de metales desde raíz a sus tejidos aéreos, en cambio valores menores a 1 y cercanos a 0 indicarian la retención del metal en su raíz (Alderete-Suarez *et al.*, 2018). Estos factores varían en dependencia de la especie en cuestión y se pueden ver influenciados por la concentración en el sitio o el tiempo de vida de la planta, como es el caso de *Eichhornia crassipes* quien en sitios con baja concentración de metales pesados no los transloca a sus tejidos aéreos y plantas jóvenes presentan absorción más rápida (Carrión *et al.*, 2012).

Tabla 12.

Concentraciones de metales pesados en órganos aéreos para plantas hiperacumuladoras.

Metal pesado	Concentración
Mn	>10 mg·g ⁻¹
Zn	
As	>1 mg·g ⁻¹
Co	
Cr	
Cu	
Ni	
Pb	
Sb	
Se	
Tl	
Cd	>0.1 mg·g ⁻¹

Nota. Adaptado de Rascio & Navari-Izzo, 2011.

La biomasa en los brotes en donde se ha acumulado metales pesados puede ser recolectada y utilizada con propósitos no alimenticios o ser tratados para el reciclaje de los metales en caso de ser económicamente factible o su eliminación en vertederos (Begonia *et al.*, 2004). Ramana *et al.*, en 2013, demostraron la capacidad de rosas para crecer y absorber concentraciones de Cr (VI), a concentraciones de 25 mg Cr (VI)·(Kg de suelo)⁻¹ no se muestran cambios significativos en el tamaño de la flor, aunque se ve una reducción en el tamaño de las raíces en 18% y a una concentración de 760 µg Cr (VI)·(g peso seco)⁻¹ en las raíces, con una concentración de 50 mg Cr (VI)·(Kg de suelo)⁻¹, la reducción en el tamaño de la raíz es de 43% y tiene una concentración de 1985 µg Cr(VI)·(g peso seco)⁻¹. El uso de quelantes aumenta la biodisponibilidad del metal pesado para la planta, mediante la

desorción del metal pesado desde la matriz del suelo a una solución más fácil de captar, lo cual puede potenciar la captura y translocación del contaminante (Begonia *et al.*, 2002; Begonia *et al.*, 2004). *T. aestivum* L., posee la capacidad para crecer a concentraciones de hasta 2000 mg Pb·Kg⁻¹ de suelo seco con presencia de EDTA (ácido etilendiamino tetraacético) y ácido acético como quelantes, siendo capaz de absorber Pb y translocarlo en su raíz y órganos aéreos, aunque presenta una reducción en el crecimiento de la biomasa de su raíz (Begonia *et al.*, 2004). *Sesbania exaltata*, es capaz de acumular Pb en raíces, aunque en este caso, el uso de quelantes como EDTA y ácido acético, se denota una reducción en la biomasa por estrés debido a los altos niveles de fitotoxicidad por parte de estos quelantes contra la planta (Begonia *et al.*, 2002). Se ha demostrado la capacidad del ácido acético para la desorción de Pb, Cd y Ni del suelo (Gzar *et al.*, 2014). Cabe resaltar que el aumento en la disponibilidad del metal puede conllevar al riesgo de transportar el contaminante hacia otro medio, por ello debe ser optimizado el uso de quelantes al grado de reducir el volumen de lixiviados a la menor cantidad posible (Begonia *et al.*, 2004).

La rizofiltración utiliza la capacidad de las raíces de ciertas especies de plantas para la absorción, concentración y precipitación de contaminantes (Jabeen *et al.*, 2009; Ignatus *et al.*, 2014), siendo utilizado para la purificación de agua contaminada (Lapan *et al.*, 2019). Diferentes especies de plantas poseen esta capacidad, como es *Plectranthus amboinicus*, quien puede acumular plomo en sus raíces, con reducciones de 50% en concentraciones de 5, 10, 15 y 25 mg Pb·L⁻¹ en 24 horas y una remoción cercana al 100% a los 20 días, con concentraciones de 50 mg Pb·L⁻¹ le toma 5 días una reducción del 50% y 20 días una reducción del 50% con concentraciones de 100 mg Pb·L⁻¹, con una translocación limitada hacia tallo y hojas, lo cual no influye en su uso como planta medicinal (Ignatus *et al.*, 2014). En la implementación de bioplatos utilizando plantas con 8 días posteriores a la germinación, de las cuales *Z. mays* L. fue capaz de absorber hasta 58% de cationes de Zn (II), *Dactylis glomerata* L. absorbió 40% y *Secale cereale* L. un 39%, con una concentración inicial de 10 mg Zn (II)·dm⁻³, *Z. mays* L. y *D. glomerata* L. fueron capaces de absorber hasta 91% de la concentración después de 20 días. *S. cereale*

L. y *Phleum pratense* L., presentaron la capacidad de absorber en más del 90% de la concentración de $1 \text{ mg Cd}\cdot\text{dm}^{-3}$ después de 29 días (Lapan *et al.*, 2019).

La fitoestabilización, se refiere al uso de plantas para la reducción en la biodisponibilidad de metales pesados (Tangahu *et al.*, 2011), mediante la transformación de especies químicas tóxicas a especies químicas menos tóxicas, evitando de esta manera la exposición de contaminantes tóxicos a vías de dispersión aéreas o acuáticas (Jabeen *et al.*, 2009). Las especies *Spartina densiflora* y *Spartina maritima*, tienen la capacidad de oxigenar su rizosfera, generando un suelo oxidante, de esta manera, en estuarios altamente contaminados con metales pesados, fueron capaces de inmovilizar Co en el substrato subyacente a su rizosfera, pues la capacidad oxidativa de su rizósfera oxida a moléculas de Fe en el ambiente, los óxidos de Fe poseen alta afinidad por la adsorción de Co (Cambrollé *et al.*, 2011).

La fitovolatilización, es un proceso de absorción y transpiración de contaminantes solubles en agua por las plantas, los contaminantes se someten a diversos procesos por las plantas y se volatilizan a la atmósfera por transpiración (Arya *et al.*, 2017). La fitovolatilización puede existir de manera directa o indirecta, la forma directa, resulta de la absorción y translocación de contaminantes por parte de la planta hasta que eventualmente el compuesto es volatilizado a través de los órganos aéreos. Esta vía es semejante a la vía vascular de transpiración del agua, aunque difiere en que muchos de los contaminantes son moderadamente hidrófobos, presentan la capacidad de difundirse a través de barreras hidrófobas como la cutina en la epidermis o la suberina en los tejidos dérmicos leñosos. La fitovolatilización directa requiere la absorción, translocación y volatilización del contaminante, la volatilización de compuestos producidos o transformados por la planta, no son considerados como volatilizados directamente. La fitovolatilización indirecta, es el aumento del flujo de contaminantes volátiles del subsuelo como resultado de actividades de las raíces de las plantas, la actividad de estas raíces puede aumentar el flujo de contaminantes volátiles del subsuelo (Limmer & Burken, 2016). La fitovolatilización ha sido utilizada para el tratamiento de suelos halófilos (Arya *et al.*,

2017), eliminación de hidrocarburos alifáticos clorados como 1,1,1-tricloroetano y tricloroetileno fitovolatilizados por *Medicago sativa* L. (Narayanan *et al.*, 1995). Se ha comprobado que hay especies de plantas con la capacidad de utilizar este proceso para la eliminación de metales pesados, como *Pteris vittata* L., quien fue capaz de fitovolatilizar As (Sakakibara *et al.*, 2010), inclusive se han modificado por ingeniería genética plantas hiperacumuladoras con genes bacterianos para la eliminación de metales contaminantes, *O. sativa* L. presenta la capacidad de absorber As (III) de manera eficiente en comparación con otros cultivos, por su vía de absorción de Si que permite la absorción de As (III), debido a esta capacidad se modificó con el gen *arsM* de *Rhodopseudomonas palustris*, para la fitovolatilización de As (Jia *et al.*, 2012).

La fitorremediación ha sido utilizada para la remoción de productos farmacéuticos como paracetamol y metilparabeno por la planta ornamental *Alternanthera* sp. (Mohammed *et al.*, 2021), remoción de aceite lubricante usado de auto por *Crotalaria retusa* L. e *Impatiens balsamina* L. (Gamage *et al.*, 2021), para la remoción de Cr (VI) han sido utilizadas algas filamentosas (Singh *et al.*, 2021), *Chrysopogon zizanioides* L., para la remoción de Cr de lodos residuales (Torres *et al.*, 2010). Se ha reportado la capacidad de *Pinus sylvestris* L., *Picea abies* L. y *Quercus robur* L., para la acumulación de Cd, Zn y Pb (Placek *et al.*, 2016) mientras que *E. crassipes* es capaz de extraer y acumular Al, As, Cd, Co, Fe, Ni, Pb, Sb, Ti, V y Zn en los tejidos sumergidos, así como Cu y Mn en las estructuras aéreas en la remediación de los canales de Xochimilco (Carrión *et al.*, 2012). *E. crassipes* es capaz de absorber Cd y Hg, con un porcentaje de absorción de 16.56 % de Cd y 15.6 % de Hg (Poma & Valderrama, 2014). Algunas áreas de Albania presentan Cd, Co, Cr, Cu, Ni, Pb y Zn en altas concentraciones en el suelo; *Dittrichia graveolens* L. se reportó como acumuladora de Cd, *Alyssum murale* reportó la acumulación de Co, *Herniaria hirsuta* L. presentó acumulación de Cr, *D. graveolens* L. presentó acumulación de Cu y *Alyssum markgrafii* presentó acumulación de Ni (Shallari *et al.*, 1998).

CAPÍTULO VI

VI.1 El género *Bacillus*

Este apartado tiene como finalidad el describir al género *Bacillus*, los cambios en su taxonomía a través del tiempo, así como las diferentes aplicaciones en las que se han visto involucradas especies de este género, de manera introductoria para posteriormente abordar los temas referentes al género *Bacillus* en el proceso de biorremediación de metales pesados en el suelo.

La sistemática bacteriana surge con las descripciones de “animálculos” por Antonie Van Leeuwenhoek en el siglo XVII; posteriormente, en el siglo XIX, se describieron los primeros géneros de bacterias, bajo el término *Bacterium*, para clasificar células en forma de bastón (Carro *et al.*, 2021). La sistemática podría ser considerada como el estudio científico de la diversidad de organismos, en donde se incluye la descripción de los organismos, su historia y filogenia, el estudio de los mecanismos evolutivos. La taxonomía es el estudio científico para la clasificación, ordenando los organismos en grupos en base a sus relaciones por descendientes, similitudes o ambos (Sokal, 1963).

El concepto de especie en la taxonomía procariota ha generado controversia entre investigadores. Las primeras definiciones de especie bacteriana incluían características como semejanza cercana o características esenciales con base en su morfología, fuente de aislamiento o patogenicidad, las cuales son imprecisas y subjetivas. Los principios de la caracterización, clasificación e identificación bacterianas fueron propuestos en la segunda mitad del siglo XX; en ese momento se determinó que un solo carácter era suficiente para la definición de especie, llevando a la taxonomía numérica propuesta por Sokal y Sneath en 1964, donde se propusieron una gran lista de pruebas bioquímicas, más de 100, y coeficientes para calcular la similitud entre cepas y especies (Carro *et al.*, 2021). Caracteres de índole fisiológico, bioquímico y comportamiento se han incluido para obtener una mejor clasificación (Sokal, 1963). El desarrollo de técnicas de extracción y renaturalización de ácidos nucleicos permitió análisis basados en homologías de ADN y comparaciones genéticas por hibridación de ADN-ADN y ADN-ARN, permitiendo el

desarrollo de perfiles de ARN estable de bajo peso molecular para la diferenciación de especies bacterianas. Posteriormente, con el desarrollo de la reacción en cadena de la polimerasa, se desarrollaron técnicas de “huellas dactilares” con base en la amplificación de ADN de ciertos fragmentos o genes (Carro *et al.*, 2021). El gen que codifica para el ARNr16S fue elegido marcador de la taxonomía procariota por su tamaño, su lenta tasa evolutiva y su ubicuidad en las bacterias. Estas características permiten proponer una clasificación filogenética de los procariotas basada en este gen (Winker & Woese, 1991). El desarrollo de la taxonomía polifásica permite el análisis combinado de características fenotípicas, ambientales y genotípicas, con la filogenia de las cepas, permitiendo una clasificación más robusta (Carro *et al.*, 2021).

El género *Bacillus* tiene como linaje al Dominio: Bacteria, Filo: Firmicutes, Clase: Bacilli, Orden: Bacillales, Familia: Bacillaceae (Ludwig *et al.*, 2011). El género está constituido por 179 especies, fue nombrado por Cohn en 1872 (ITIS, 2012). El género *Bacillus* agrupa bacterias Gram positivas, alargadas, positivas a catalasas, con metabolismo aerobio o anaerobio facultativo, formadoras de endosporas, pueden encontrarse en solitario o en conjunto (Gordon *et al.*, 1973; Guerra-Cantera & Raymundo, 2005; Logan & De Vos, 2009; Fira *et al.*, 2018). Las especies del género *Bacillus* poseen la capacidad de adaptarse a entornos rápidamente cambiantes o ausentes de nutrientes mediante el desarrollo de endosporas (Correa & Goodacre, 2011). La habilidad para formar endosporas en condiciones anaerobias fue definida como un carácter del género en la década de los 1920's (Logan & De Vos, 2009). Las endosporas son estructuras inactivas no reproductiva producida por bacterias Gram positivas; es un mecanismo de supervivencia para sobrevivir por un largo periodo de tiempo en condiciones hostiles (Correa & Goodacre, 2011), como altas temperaturas, radiación, desinfectantes y desecación (Cavaglieri *et al.*, 2005; Logan & De Vos, 2009). La formación de endosporas le permite sobrevivir en medio donde las células vegetativas no podrían, debido a que las endosporas son refractantes ópticos, lo cual les permite resistir altas condiciones de estrés químico y físico, condiciones letales para sus células vegetativas. Cuando se encuentran en condiciones óptimas con respecto a nutrientes, temperatura, pH

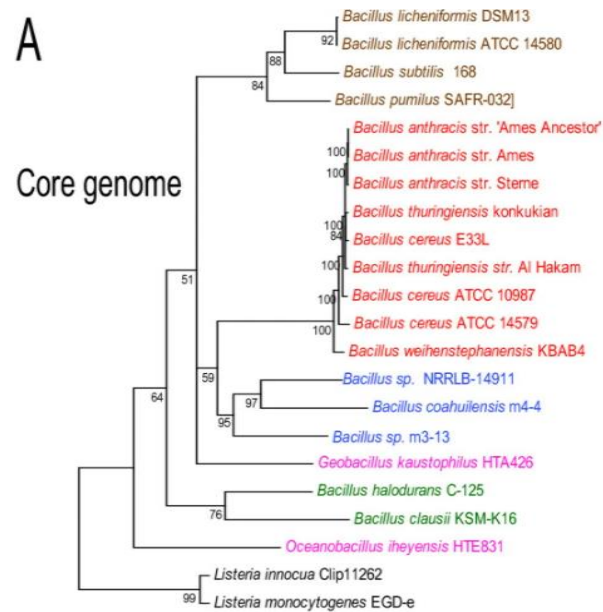
y demás condiciones, las células del género *Bacillus* pueden crecer y dividirse por fisión binaria (Logan & De Vos, 2009), estas condiciones varían en dependencia de la especie, como *Bacillus anthracis* quien ante la presencia de L-alanina puede inducir su germinación; *Bacillus cereus* a condiciones de alta presión hidrostática o la presencia de inosina y L-alanina; *Bacillus subtilis* con más de 90% de germinación en condiciones de presión hidrostática mayor a 500 MPa y a temperatura de 23 °C y 30 °C o presencia de L-valina o dodecilamina; *Bacillus megaterium* en presencia de L-alanina o inosina (Bressuire-Isoard *et al.*, 2018). En el género *Bacillus*, la esporulación puede provocar cambios moleculares y celulares, como la biosíntesis de dipicolinato de calcio en células esporuladas y no en células vegetativas (Correa & Goodacre, 2011).

Debido a la complejidad de la taxonomía bacteriana, se han realizado clasificaciones tomando a partir de diversos caracteres, como Logan & De Vos en 2009, con la construcción de un árbol filogenético del género *Bacillus* basándose en secuencias de ADN_r16S (**Figura 10**) en el cual incluyeron a 142 de las 179 especies conocidas hasta 2009. Jin *et al.*, en 2017, utilizaron secuencias del gen *gyrB* para profundizar en la clasificación de las especies de este género microbiano; Guo *et al.*, en 2014 utilizaron los genes *gyrB* y *phoR*; Correa & Goodacre (2011) propusieron el uso de un modelo de red bayesiana a partir de datos de espectrometría de masa por pirolisis de Curie (Py-MS) y un algoritmo genético; Guerra-Cantera & Raymundo (2005), con un enfoque polifásico, reevaluaron la identificación de 58 aislamientos de *Bacillus* productores de enzimas y antibióticos identificados parcialmente, pertenecientes a “Philippine National Collection of Microorganisms (PNCM) del National Institute of Molecular Biology and Biotechnology (BIOTECH)”. Para confirmar la clasificación, estos mismos autores implementaron el uso del análisis de la composición de ésteres metílico de ácidos grasos de la pared celular en estos microorganismos; de esta manera, el uso de análisis quimiotaxonómicos, moleculares y fenotípicos, confirmó la clasificación de 45 especies, 17 nuevas especies. Alcaraz *et al.*, en 2010, utilizaron la información del genoma completo de 20 individuos del género *Bacillus* aislados de una amplia gama de entornos, con la finalidad de describir la relación dentro del género, recons-

truyendo su historia evolutiva por alineamiento concatenado de 814 genes (**Figura 11**). La filogenia reveló cuatro agrupaciones: *Bacillus clausii-halodurans*, caracterizados por cepas halotolerantes; *B. subtilis-licheniformis*, con un mayor número de genes involucrados con el transporte y metabolismo de carbohidratos; *Bacillus anthracis-thuringiensis-cereus*, con genes relacionados a defensas mayores al promedio y con el mayor repertorio de genes de resistencia a antibióticos y los plásmidos pX01 y pX02 quienes son similares y tienen los genes para la toxina Cry de *Bacillus thuringiensis* y la toxina ántrax de *Bacillus anthracis*; y el grupo de *Bacillus* sp. NRRLB-14911-*coahuilensis*-m3-13, los cuales tiene el mayor número de genes de transducción de señales, utilizan estos genes para responder a cambios repentinos en el ambiente.

Figura 11.

Clasificación genómica del género Bacillus y denotación de grupos.



Nota. La filogenia no se encuentra resuelta, como se puede notar por la posición de *Geobacillus kaustophilus*. Adaptado de “Phylogenetic reconstruction for *Bacillus*” por L. Alcaraz, G. Moreno-Hagelsieb, L. Eguiarte, V. Souza, L. Herrera-Estrella y G. Olmedo, 2010, *BMC genomics*, 11(1). doi: 10.1186/1471-2164-11-332

Organismos pertenecientes al género *Bacillus* los podemos encontrar en alimentos, agua y muestras clínicas (Logan & De Vos, 2009). Este grupo de bacterias son ubicuas, debido a que pueden habitar una gran variedad de nichos, desde el suelo, agua y aire, la superficie y rizósfera de diversas plantas, en el tracto digestivo de animales, hasta algunos ambientes extremos (Fira *et al.*, 2018).

VI.II Aplicaciones biotecnológicas de las bacterias del género *Bacillus*.

El género *Bacillus* ha sido de gran interés en la medicina, agricultura e industria, en parte debido a su capacidad para formar endosporas, resistentes a la desecación y choque térmico (Cavaglieri *et al.*, 2005; Logan & de Vos, 2009; Celandroni *et al.*, 2019), y por producir una amplia variedad de metabolitos secundarios. Se estima que entre el 4 al 5% de su genoma está dedicado a la síntesis de metabolitos secundarios (Fira *et al.*, 2018) entre los que encontramos sustancias antagonistas contra patógenos (Fira *et al.*, 2018; Villareal-Delgado *et al.*, 2018), moléculas como potencial tratamiento a enfermedades (Tanaka *et al.*, 2014), fines industriales (Almeida & Leal, 2006; Mohammed *et al.*, 2014) o por su potencial para dañar la salud humana (Tewari & Adhullah, 2014).

Las rizobacterias promotoras de crecimiento son quienes promueven el crecimiento vegetal por la implementación de mecanismos directos o indirectos. Los indirectos se refieren a aquellos relacionados con la eliminación de organismos fitopatógenos, por la producción de sustancias antibióticas o líticas, o por competir con estos por nutrientes o espacio, otro mecanismo indirecto es la estimulación de la resistencia sistémica inducida. Los mecanismos directos son quienes incrementan la disponibilidad de nutrientes en la rizósfera por su influencia en el metabolismo de la planta, como la fijación de nitrógeno, producción de fitohormonas, vitaminas, enzimas, solubilización de fosforo inorgánico, oxidación de sulfuros o reducción de la toxicidad de metales pesados (Esquivel-Cote *et al.*, 2013). Especies del género *Bacillus*, producen distintas sustancias (antibióticos, sideróforos, lipopéptidos, exopolisacaridos) que influyen en la regulación de rutas de biosíntesis de

fitohormonas, modulan niveles de etileno, emiten compuestos orgánicos volátiles no adversos para la planta hospedera, el medio o la salud humana, brindando protección y estimulando el desarrollo de su hospedero. Estos organismos pueden ser epifitos o endófitos, presentan la capacidad para formar colonias en la rizósfera (Lastochkina *et al.*, 2019), siendo la rizósfera la primera línea de defensa de la planta contra organismos fitopatógenos edáficos, evitando el establecimiento de estos en la raíz (Villareal-Delgado *et al.*, 2018). La implementación de sideróforos permite la quelación de iones metálicos, reduciendo los efectos tóxicos sobre el organismo, como el estrés oxidativo causado por ROS, se resalta la importancia de evaluar los efectos entre dosis, puesto que, en concentraciones superiores a las óptimas, los sideróforos pueden quelar nutrientes esenciales (Khan *et al.*, 2020).

La enzima ACC desaminasa es la responsable de la hidrólisis de ACC (1-aminociclopropano-1-carboxílico), lo cual permite utilizar a ACC como fuente de nitrógeno para la planta (Esquivel-Cote *et al.*, 2013; Singh *et al.*, 2016). El IAA es una auxina, las cuales son fitohormonas participes en procesos de desarrollo de la planta, interviniendo en procesos de división, elongación y diferenciación celular (Garay-Arroyo *et al.*, 2014) el ácido indol acético está involucrado con la elongación de raíces e incrementa el número de pelos radiculares quienes se involucran en la captura de nutrientes (Mohite, 2013), el ácido indol acético es producido por plantas, pero también hay bacterias con la capacidad para sintetizarlo entre los que encontramos a los géneros *Pseudomonas*, *Rhizobium*, *Azospirillum*, *Enterobacter*, *Azotobacter*, *Klebsiella*, *Alcaligenes*, *Rubrivias*, *Gluconacetobacter*, *Agrobacterium*, *Streptomyces*, *Pantoea* y *Streptomyces* (Duca *et al.*, 2014), también hay cepas pertenecientes al género *Bacillus* capaces de sintetizarlo como las expuestas por Mazhar *et al.*, en 2019.

El P es uno de los más importantes macronutrientes esenciales para el desarrollo de los seres vivos, el suelo suele presentar reservas de P, pero estas se encuentran en forma de P inorgánico lo cual lo hace inviable para la captura por plantas. Ciertas bacterias presentan la capacidad de solubilizar el P inorgánico, algunos de los géneros bacterianos con cepas con esta capacidad son *Achromobacter*,

Burkholderia, *Agrobacterium*, *Micrococcus*, *Pseudomonas*, *Rhizobium* y *Bacillus* (Rodríguez & Fraga, 1999).

La deficiencia de Fe es un problema común en las tierras de cultivo, destacando que el pH es un factor que influye en la disponibilidad de hierro, pues en suelos con pH básico los iones de Fe no se encuentran solubles y por ende no disponibles para plantas, entre los efectos por la deficiencia de Fe encontramos a la clorosis (Ishimaru *et al.*, 2011), la clorosis por deficiencia de Fe se debe a que el Fe activa al ácido δ -aminolevulínico durante la síntesis de clorofila (Marsh *et al.*, 1963). *Bacillus pumilus* y *Bacillus licheniformis*, presentan actividad promotora de crecimiento en plantas con la producción de giberelinas, capaces de promover la elongación de tallos, incrementar el área de foliar en *Alnus glutinosa* L. (Gutiérrez-Mañero *et al.*, 2001).

Especies pertenecientes al género *Bacillus* han sido utilizadas en procesos de biocontrol de fitopatógenos, por antibiosis (producción de metabolitos secundarios con actividad antibiótica o antifúngica), o indirectamente induciendo la resistencia sistémica del hospedero estimulando su crecimiento y defensas (Azeem *et al.*, 2019; Bóka *et al.*, 2019; Buisson *et al.*, 2019; Caulier *et al.*, 2018). El uso de este género como herramienta de biocontrol remonta a mediados de 1930, con *Bacillus thuringiensis*, debido su capacidad para producir cristales con actividad insecticida (Caulier *et al.*, 2018). *B. thuringiensis* ha sido de gran importancia en el mercado de los insecticidas debido a la producción de toxinas insecticidas en forma de cristales con inclusiones de proteínas Cry, las cuales presentan actividad insecticida en contra de un amplio número de especies; se han clasificado más de 500 secuencias de genes *cry* diferentes (Bravo *et al.*, 2011).

En pruebas de cultivo doble de *B. subtilis* y *Fusarium verticillioides*, la cepa de *B. subtilis* mostró un 60% de antibiosis y una reducción en la producción de fumonina B1 (una micotoxina) del 50% por parte de *F. verticillioides* (Cavaglieri *et al.*, 2005). Una cepa de *B. subtilis*, aislada a partir de la rizósfera de algodón, presentó la capacidad de inhibir el crecimiento de *Botrytis cinerea* (moho gris del tomate) *in vitro* (Guo *et al.*, 2014). Pruebas de antagonismo por co-cultivo entre *Heterobasidion*

parviporum y *Heterobasidion annosum* contra *B. subtilis*, la cepa de *B. subtilis* presentó actividad inhibitoria contra los hongos del género *Heterobasidion* (Azeem *et al.*, 2019). Compuestos volátiles emitidos por las cepas *B. subtilis* y *Bacillus cereus* inhibieron el crecimiento de *Phytophthora infestans* (Bruisson *et al.*, 2019). *Bacillus velezensis* fue capaz de controlar por antibiosis el crecimiento micelar de *B. cinerea*, y promover el crecimiento de la planta de pepino colonizando eficientemente el suelo de la rizósfera (Jin *et al.*, 2017). También han sido utilizadas las sustancias producidas por bacterias del género *Bacillus*, como es el caso de Ariza & Sánchez (2012), quienes inhibieron el crecimiento de *Fusarium* sp., de un 70% a 100%, utilizando Iturina A obtenida a partir de una cepa de *B. subtilis*. Ajaz *et al.* (2021) utilizaron una cepa de *Bacillus* para la producción de nanopartículas de plata (Zero-valent nanoparticles, ZV-AgNPs), las cuales presentan actividad antifúngica contra *Colletotrichum falcatum*.

Las especies del género *Bacillus* han sido utilizadas con distintivos fines comerciales, utilizando el propio organismo, como es el caso de las cepas de *B. cereus* que ha sido utilizada como probióticos ya sea para humanos o animales gracias a su capacidad para producir esporas; las cepas utilizadas como probióticos deben ser reconocidas como seguro bajo las directrices de la FAO y OMS (Celandroni *et al.*, 2019). También pueden ser utilizadas como productoras de sustancias de interés, como el caso de *B. subtilis*, que se ha reportado posee la capacidad de producir *Scyllo*-inositol, un agente terapéutico poco común prometedor utilizado contra Alzheimer, a partir del isómero *myo*-inositol, el cual es más barato y abundante en la naturaleza (Tanaka *et al.*, 2014). *Bacillus megaterium* cuenta con la maquinaria molecular para la producción de carotenoides, los cuales tienen una actividad antioxidante, protegiendo a las células de daño fotooxidativo, eliminando especies reactivas producidas por estímulos lumínicos (Takano, 2016); *B. megaterium* es capaz de producir vitamina B12, la cual es una vitamina soluble en agua, funciona como cofactor en la síntesis y regularización de ADN, síntesis de ácidos grasos, metabolismo de proteínas y síntesis de hemoglobina; la producción industrial de esta vitamina por síntesis química, requiere hasta 60 pasos, lo cual es

caro, por ello el uso de *B. megaterium* para la producción de vitamina B12 por fermentación es más accesible (Mohammed *et al.*, 2014).

El género *Bacillus* también ha sido reconocido por su potencial de degenerar la salud; siendo la especie *B. cereus* la que provoca el síndrome diarreico en el hospedero, provocando calambres abdominales y diarrea por la producción de una tiroxina emética (dodecadepsipéptido cerulida), que es una toxina altamente resistente al calor, a la proteólisis, a los ácidos y a los álcalis. Esta especie también produce tres enterotoxinas, las cuales son la hemolisina BL (Hbl), enterotoxina no hemolítica (Nhe) y la citotoxina K (CytK), que son enterotoxinas formadoras de poros (Tewari & Abdullah, 2014). Cepas de *B. cereus* han sido reconocidas como patógenos en ganado capaces de causar mastitis y aborto en vacas (Logan & Vos, 2009). *Bacillus anthracis* es el organismo que causante del ántrax, ha sido investigada por su potencial como arma biológica desde la primera guerra mundial; esta especie puede expresar toxinas que causan hemorragia, edema y necrosis; también es capaz de sintetizar una capsula de poliglutamilo, la cual inhibe la fagocitosis del huésped de la forma vegetativa; la infección por parte de este organismo por la introducción a través de rupturas cutáneas (ántrax cutáneo) o a través de la mucosa (ántrax gastrointestinal), produce grandes cantidades de exotoxinas y puede causar una septicemia severa (Spencer, 2003). Las esporas de la cepa *B. anthracis* Ames fueron utilizadas durante un atentado terrorista en 2001 en Estados Unidos. *B. licheniformis*, produce toxinas que se encuentran relacionadas con septicemia, peritonitis, oftalmatitis e intoxicación por alimentos, entre los que se encuentra la leche (Nieminen *et al.*, 2007), fórmulas de alimentación infantil, helado, pastel de carne molida, entre otros, siendo capaz de provoca calambres estomacales, vomito, diarrea, náuseas, dolor abdominal o ardor oral (Salkinoja-Salonen *et al.*, 1999).

VI.III Aplicación del género *Bacillus* en biorremediación.

El proceso de biorremediación involucra el uso de microorganismos para la detoxificación y degradación de contaminantes ambientales (Guo *et al.*, 2010). El género *Bacillus* ha sido utilizado para le biorremediación de residuos petroquímicos

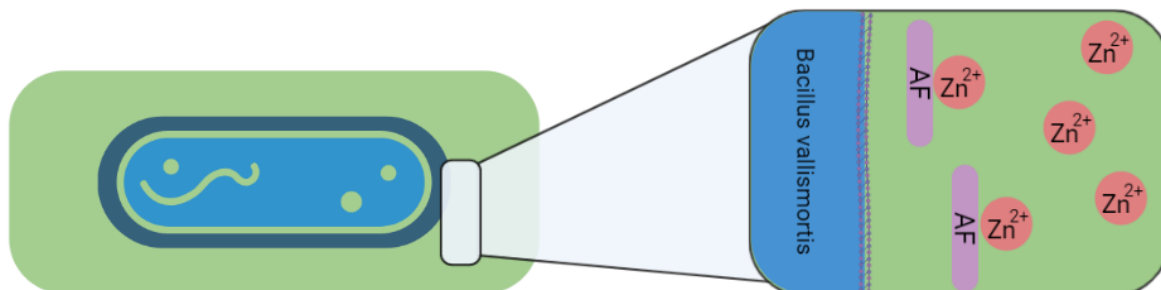
(El-Sheshtawy et al., 2017; Granzotto et al., 2012; Joo & Kim, 2013; Kim, 2014), desechos de la industria de pulpa y papel (Salem et al., 2014; Aslam et al., 2019), remoción de desechos nitrogenados (Zhao et al., 2009; Kara et al., 2021), degradación de ésteres de ácido oftálico presentes en plastificantes (Surhio et al., 2017), decoloración de efluentes de industria de curtiduría (Tripathi & Garg, 2014), entre otros.

VI.III.I Mecanismos de biorremediación de metales pesados implementados por organismos pertenecientes al género *Bacillus*.

Bacterias pertenecientes a este género presentan diversos mecanismos para la tolerancia de metales pesados entre los que podemos encontrar exclusión, biosorción, bioacumulación, entre otros (Ontañón et al., 2018). Se ha reportado la capacidad de remoción de metales pesados por biosorción debido a la afinidad de estos elementos con ácido teicurónico y peptidoglucanos presentes en la pared celular de organismos pertenecientes al género *Bacillus* (Beveridge et al., 1982; McLean et al., 1994). La producción de sustancias poliméricas extracelulares (EPS) es un mecanismo implementado para evitar la toxicidad de metales pesados en las células, como *Bacillus vallismortis* quien al exponerse a Zn (II), aumenta la producción EPS, como sustancias similares al ácido fúlvico, proteínas con tirosina y mayor cantidad de grupos carboxilo, hidroxilo y carbonilo. Se ha establecido que los grupos con cargas negativas son importantes para una unión eficiente entre EPS y metales pesados; de esta manera, por ejemplo (**Figura 12**), la toxicidad del Zn (II) se ve reducida para *B. vallismortis* (Ding et al., 2018). Otra cepa con la capacidad de capturar metales pesados por la producción de EPS es *B. licheniformis*, en la que los EPS producidos pueden capturar Pb (Girisha, 2015). *B. subtilis* tiene la capacidad de lixiviar de 22 a 30 ng de V a partir de rocas de basalto olivino (Cockell et al., 2021).

Figura 12.

Ácido fúlvico como EPS ante Zn (II).



Nota. AF: Ácido fúlvico. Adaptado de Ding *et al.*, 2018.

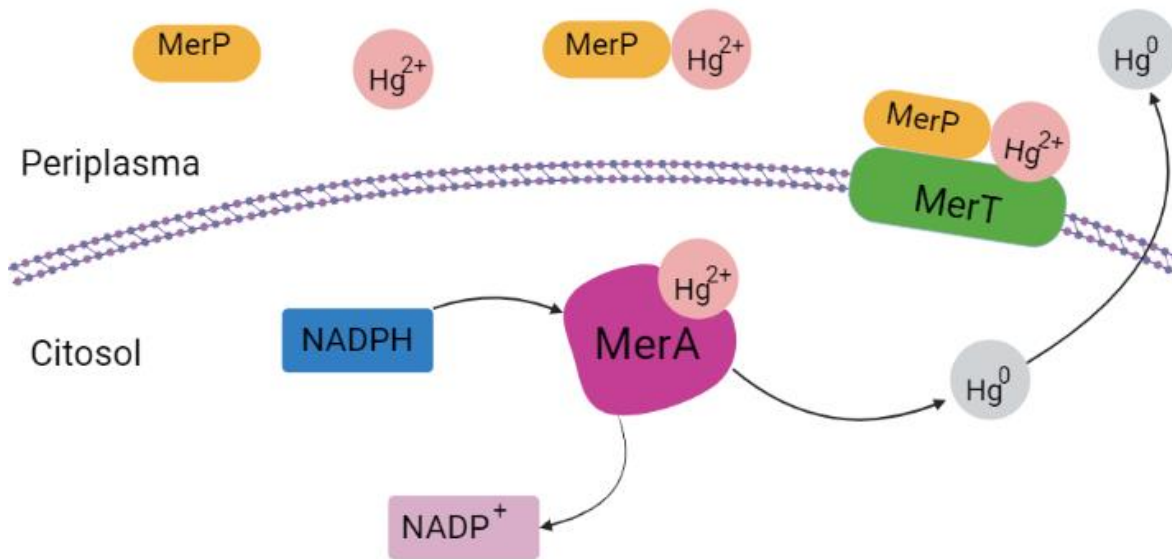
La expresión de diversos genes en los organismos pertenecientes al género *Bacillus* le permiten tolerar altas concentraciones de metales pesados e incluso transformarlos en formas menos tóxicas. *B. megaterium* posee diversos genes que participan en la tolerancia a metales pesados, como el gen *nccA* (resistencia a Ni-Co-Cd), el gen *hant* (transportador de alta afinidad a Ni), el gen *van2* (resistencia a V), o el gen *smtAB* (proteína de unión a metales) como lo exponen Fierros-Romero *et al.*, en 2016. *B. megaterium* presenta un aumento en la expresión del factor de elongación de la transcripción, GreA, el cual potencia la resistencia de la célula hospedera a las perturbaciones del medio, como respuesta a la exposición a Cu (Rivas-Castillo *et al.*, 2017).

El operón *mer* está organizado en un clúster de genes involucrados en la resistencia sistémica hacia la intoxicación por Hg (**Figura 13**). El operón está constituido por una región regulatoria *merR* que se activa ante la presencia de concentraciones inductoras de Hg, los genes *merP*, *merT* y *merC* codifican para tres proteínas de membrana (MerP, MerT y MerC respectivamente), que son las encargadas de reconocer y movilizar al mercurio (Ju-Liang *et al.*, 2009), *mer A* codifica para la enzima con actividad citosólica mercurio reductasa (Santos-Gandelman *et al.*, 2014), como se ejemplifica en la **Figura 13**, en donde el Hg²⁺ reconocido por MerP se une a esta, este compuesto se une a MerT quien reconoce al Hg²⁺ y lo moviliza

para su transformación a Hg^0 por MerA dependiente de nicotinamida adenina dinucleótido fosfato (NADPH), como Hg^0 es volatilizado al exterior de la célula.

Figura 13.

Actividad de proteínas producto del operon Mer en la resistencia sistémica a Hg.



Nota. Adaptado de Ju-Liang *et al.*, 2009.

Cepas de *B. megaterium* (Covarrubias & Piña, 2017) y de *B. thuringiensis* presentan el operón *mer* (Dash *et al.*, 2014). *B. cereus* expresa al operón *mer*, lo cual le brinda la capacidad de reducir Hg^{2+} a Hg^0 , por la enzima con actividad citosólica mercurio reductasa (MerA), también presenta la capacidad para cortar enlaces entre C-Hg de compuestos organomercuriales por la expresión de la liasa organomercurial (MerB) que se encuentra codificada por *merB* (Santos-Gandelman *et al.*, 2014)

Bacillus presenta el gen *chrR* lo cual codifica para la enzima con actividad citosólica reductasa cromato dependiente de nicotinamida adenina dinucleótida (NADH) para la reducción de Cr (VI) a Cr (III), capacidad que no todas las bacterias tolerantes a Cr (VI) presentan. (Ontañón *et al.*, 2018). *Bacillus methylotrophicus* es capaz de reducir las concentraciones de Cr (VI) por la expresión de la cromato reductasa con mayor actividad en el medio extracelular en comparación con el interior de la célula

con glutatión reducido como donador de electrones (Sandana *et al.*, 2015). *B. licheniformis* expresa a los operones *copC* el cual está asociado con el secuestro y transporte de Cu; *chrB* asociado a la resistencia a Cr; *nccA* relacionado con la resistencia a Ni, Co y Cd; *cnrA3* participe en la resistencia a Ni y Cd (Kamika & Momba, 2013). *Bacillus flexus* presenta el gen *arsC* el cual le permite la detoxificación de As (Marwa *et al.*, 2018). *B. megaterium* posee el gen *zosA* el cual codifica para una ATPasa tipo P transportadora de Zn, el gen *cadA* que codifica para una proteína ATPasa tipo P transportadora de Cd y el gen *cadC* que codifica para una proteína accesoria en el sistema de eflujo de Cd (Kumari *et al.*, 2021).

Se han realizado modificaciones genéticas para la optimización de biorremediación de metales; por ejemplo, *B. subtilis* expresa el gen *arsM* de *Cyanidioschyzon merolae* para la codificación de la As (III) S-adenosilmetionina metil transferasa (ArsM), lo cual le permite la metilación y volatilización de As a temperaturas de hasta 50 °C en la manufactura de compostaje (Huang *et al.*, 2015).

El género *Bacillus* ha sido utilizado para la optimización en procesos de fitorremediación de metales pesados (Sharma *et al.*, 2020a). Las bacterias mejoran este proceso mediante la producción de sustancias promotoras de crecimiento, solubilización de P o en apoyo a micorrizas (Mukherjee *et al.*, 2017). Se ha reportado que cepas de *Bacillus* aumenta el porcentaje de germinación, elongación relativa de la planta y raíz, actividad amilasa y proteasa, producción de sideróforos (Pandey *et al.*, 2013), aumento de la producción de biomasa y pigmentos fotosintéticos como carotenoides y clorofila α y β (Jan *et al.*, 2019), producción de IAA, ACC desaminasa, exopolisacáridos (Wani *et al.*, 2019; Nayak *et al.*, 2018).

VI.III.II Aplicación del género *Bacillus* en biorremediación: contaminación con metales pesados en suelo.

Los metales pesados tienen diversos efectos negativos en el suelo, como la reducción de su fertilidad; influyen en la eficiencia de la fitorremediación, reducen la producción de cultivos y desbalance en la presencia de nutrientes por la translocación a diferentes órganos de plantas, provocando daño metabólico, generación de especies reactivas de oxígeno, aumento de la actividad de

superóxido dismutasa y lipoxigenasa relacionadas con senescencia, síntesis de etileno por estrés, reducción en el secuestro de hierro, reducción del crecimiento (Sharma *et al.*, 2020a; Pandey *et al.*, 2013). Se ha buscado la implementación de técnicas para la remoción o transformación de estos metales a especies menos tóxicas (Sharma *et al.*, 2020b). Un amplio grupo de bacterias pertenecientes al género *Bacillus* presenta características para crecer en ambientes con altas concentraciones de metales pesados (Al Azad *et al.*, 2020).

Se han reportado cepas del género *Bacillus* con capacidad de biorremediación de metales pesados en depósitos de carbón (Ka-ot *et al.*, 2018), aguas residuales industriales (Kamika & Momba, 2013) o sedimentos de curtiduría (Ontañón *et al.*, 2018). Los aislados de ambientes contaminados podrían presentar funciones catabólicas especializadas que les permitan sobrevivir en condiciones ambientales extremas; siendo así mismo, de utilidad en procesos de biorremediación (da Silva & Álvarez, 2010). En la **Tabla 13** se presenta sintetizada la información referente a la remoción de metales pesados por cepas del género *Bacillus*.

Tabla 13.

Eficacia en la remoción de metales pesados por cepas del género Bacillus.

Bacteria	Metales	Mecanismo de biorremediación	Resultados	Autores
<i>Bacillus litoralis</i> y <i>Bacillus infantis</i>	As	Fitorremediación	Reducción en la acumulación de As en la planta de hasta 51%	Hare & Chowdhary, 2019
<i>Bacillus safensis</i>	As	Oxidación	Oxidación de As (III) a As (V) hasta en 37.54%	Mandal <i>et al.</i> , 2021
<i>B. flexus</i>	As	Oxidación	Oxidación de As (III) a As (V) en 70%	Mujawar <i>et al.</i> , 2021
<i>B. infantis</i>	As	Oxidación	Oxida en 96% As (III) a As (V)	Sher <i>et al.</i> , 2021
<i>B. subtilis</i>	Cd	Biosorción	Captura de Cd hasta 5.22 veces mayor	Khan <i>et al.</i> , 2020

Bacteria	Metales	Mecanismo de biorremediación	Resultados	Autores
<i>Bacillus</i> sp.	Cd y Pb	Producción de EPS apoyando biorremediación con hongos	Aumento en la captura de Cd del 26.5%	Cao <i>et al.</i> , 2012
<i>B. cereus</i>	Cd y Pb	Fitorremediación	Efectos adversos en el desarrollo de la planta	Nath <i>et al.</i> , 2018
<i>Bacillus</i> sp.	Cd, Pb y As	Fitorremediación	Aumento en el porcentaje de germinación y biomasa.	Pandey <i>et al.</i> , 2013
<i>B. thuringiensis</i>	Co	Captura	Remoción de hasta 40% de Co.	Kummar <i>et al.</i> , 2016
<i>B. licheniformis</i>	Co	Reducción	Reducción del 100% de [Co (III)-EDTA]- a [Co (II)-EDTA]-2	Paraneesiswaran <i>et al.</i> , 2015
<i>Bacillus dabaoshanensis</i>	Cr	Reducción	Reducción total de Cr (VI) a Cr (III)	Cui <i>et al.</i> , 2015
<i>B. safensis</i>	Cr	Reducción	Reducción del 72% de Cr (VI) a Cr (III)	Kalaimurugan <i>et al.</i> , 2020
<i>B. subtilis</i>	Cr	Producción de EPS	Reducción de Cr (VI) a Cr (III) hasta en un 93.5%	Liu <i>et al.</i> , 2020
<i>Bacillus</i> sp.	Cr	Reducción	Reducción total de Cr (VI) a Cr (III)	Masood & Malik, 2011
<i>Bacillus aryabhatai</i> , <i>Bacillus stratosphericus</i> , <i>Bacillus zhangzhouensis</i> , <i>B. cereus</i> y <i>B. flexus</i>	Cr	Fitorremediación	Reducción en la concentración de Cr en trigo	Mazhar <i>et al.</i> , 2019
<i>B. subtilis</i>	Cr	Reducción	Reducción de Cr (VI) a Cr (III) de hasta 84%.	Rehman & Faisal, 2015

Bacteria	Metales	Mecanismo de biorremediación	Resultados	Autores
<i>B. cereus</i> y <i>B. subtilis</i>	Cr	Reducción	Reducción de Cr (VI) a Cr (III) de hasta 82.5%	Roychowdhury <i>et al.</i> , 2016
<i>Bacillus</i> sp.	Cr	Reducción	Reducción de Cr (VI) a Cr (III) de hasta 89%.	Shah & Archana, 2021
<i>Bacillus</i> sp.	Cr	Fitorremediación	Biosorción del 95% de Cr (VI).	Ramirez <i>et al.</i> , 2019
<i>B. licheniformis</i>	Cu y Zn	Producción de EPS	Reducción de Cu de hasta 34.5% y Zn hasta 54.4%	Biswas <i>et al.</i> , 2018
<i>Bacillus</i> sp.	Hg	Reducción	Remoción del 60% de Hg del medio	Giri <i>et al.</i> , 2014
<i>B. cereus</i>	Mn	Biosorción	Captura de hasta 99% de Mn (II)	Xu <i>et al.</i> , 2019
<i>Bacillus</i> sp.	Pb	Biosorción	Captura de Pb de hasta 95%	Cepheidian <i>et al.</i> , 2016
<i>B. thuringiensis</i>	Pb	Biosorción	Captura de Pb hasta concentraciones de 600 mg Pb·L ⁻¹	Chen <i>et al.</i> , 2015
<i>Bacillus</i> sp.	Pb y Ni	Captura	Reducción del 97.5% de Pb y 76% de Ni.	Diba <i>et al.</i> , 2021
<i>B. licheniformis</i> , <i>B. cereus</i> y <i>B. subtilis</i>	Pb, Cu y Cd	EPS	Reducción de Pb en 86%, Cd en 16% y Cu en 8%.	Shammer, 2016
<i>B. pumilus</i> y <i>Bacillus endophyticus</i>	Pb, Mn, Zn, Cr y Ni	Fitorremediación	Captura de Pb de hasta 278%, Mn de hasta 75, Zn de hasta 163%, Cr de hasta 226%, Ni de hasta 414% y Cd de hasta 237%.	Kumari & Singh, 2011
<i>Bacillus</i> sp.	Sb	Oxidación	Oxidación de Sb (III) a Sb (V).	Li <i>et al.</i> , 2018
<i>Bacillus mafeterium</i>	Se	Reducción	Reducción de Se (IV) a Se (0) en 90%	Mishra <i>et al.</i> , 2011

Diversos autores han implementado a cepas pertenecientes al género *Bacillus* en procesos de biorremediación de metales pesados. Hare & Chowdhary, 2019 estimaron la facultad de *B. litoralis* y *B. infantis* como promotoras de crecimiento para *O. sativa* L. en condiciones de contaminación con As. *B. litoralis* y *B. infantis* poseen tolerancia hasta 600 mg As (V)·L⁻¹. *B. litoralis* mostro incremento de la longitud de la raíz en 32%, longitud de brote en 22% y biomasa en 61% en concentración de 100 mg As (V)·L⁻¹, con la reducción en la acumulación de As en la planta del 51% a concentración de 7.4 mg As (III)·L⁻¹ y 40% a concentración de 3.7 mg As (III)·L⁻¹. *B. infantis* incremento la longitud de raíz en 23%, longitud del brote en 16% y biomasa en 48% en concentración de 300 mg As (V)·L⁻¹, redujo la acumulación de As (III) en la planta en 32% en 7.4 mg As (III)·L⁻¹ y 40% en As 3.7 mg As (III)·L⁻¹.

Mandal *et al.*, 2021 utilizaron dos cepas bacterianas para la oxidación de As (III) a As (V). *Lysinibacillus* sp. puede tolerar 5768 mg As (III)·L⁻¹ y 42022 mg As (V)·L⁻¹, *B. safensis* tolera 6592 mg As (III)·L⁻¹ y 54028 mg As (V)·L⁻¹. *Lysinibacillus* sp. es capaz de oxidar 32% en concentración de 2 mg As (III)·L⁻¹, 31% en 10 mg As (III)·L⁻¹ y 31% en 50 mg As (III)·L⁻¹. *B. safensis* fue capaz de reducir 37% en concentraciones de 2 mg As (III)·L⁻¹, 35% de 10 mg As (III)·L⁻¹ y 35% en 50 mg As (III)·L⁻¹ después de 24 horas.

En 2021, Mujewar *et al.* implementaron para la biorremediación de As (III) a *B. flexus* quien presenta tolerancia a 1872 mg As (III)·L⁻¹ en medio líquido y a 3071 mg As (III)·L⁻¹ en medio sólido. Con concentración inicial de 7491 mg As (III)·L⁻¹ puede oxidar e internalizar 524 As (V)·L⁻¹ en 24 horas. Esta cepa presenta el gen *aiOAB* que codifica para arsenito oxidasa, esta responsable de la oxidación de As (III) a As (V), se encuentra principalmente en el espacio periplásmico, también presenta diversos grupos funcionales en su membrana que interactúan con As (III) como carboxilos, proteínas, péptidos y ácidos grasos, aminas alifáticas y alquenos, que interactúan con el As (III) fungiendo como sitios de unión para su bioacumulación. Esta cepa forma agregados como mecanismo contra la toxicidad por As (III).

Sher *et al.*, 2021 plantearon el uso de una cepa de *Bacillus* y *Pseudomonas* para la oxidación de arsenito a arseniato. *Pseudomonas monteilii* es capaz de tolerar 2000 $\mu\text{g As (III)}\cdot\text{ml}^{-1}$, 22000 $\mu\text{g Cr/ml}$, 100 $\mu\text{g Hg}\cdot\text{ml}^{-1}$, 3000 $\mu\text{g Se}\cdot\text{ml}^{-1}$, 600 $\mu\text{g Pb}\cdot\text{ml}^{-1}$, 100 $\mu\text{g Co}\cdot\text{ml}^{-1}$, 50 $\mu\text{g Cd}\cdot\text{ml}^{-1}$ y 500 $\mu\text{g Zn}\cdot\text{ml}^{-1}$, con un porcentaje de oxidación de As (III) a As (V) del 92% a 37 °C, pH7 con concentración inicial de 100 $\mu\text{g As (III)}\cdot\text{ml}^{-1}$ después de 96 horas. *B. infantis* es tolerante a 2500 $\mu\text{g As (III)}\cdot\text{ml}^{-1}$, 150 $\mu\text{g Cr}\cdot\text{ml}^{-1}$, 50 $\mu\text{g Hg}\cdot\text{ml}^{-1}$, 3500 $\mu\text{g Se}\cdot\text{ml}^{-1}$, 2000 $\mu\text{g Pb}\cdot\text{ml}^{-1}$, 100 $\mu\text{g Co}\cdot\text{ml}^{-1}$, 50 $\mu\text{g Cd}\cdot\text{ml}^{-1}$ y 600 $\mu\text{g Zn}\cdot\text{ml}^{-1}$, oxida en 96% As (III) a As (V) en concentración inicial de 100 $\mu\text{g As (III)}\cdot\text{ml}^{-1}$ a 37 °C y pH7 después de 96 horas.

Khan *et al.*, 2020 implementaron sideróforos producidos por *Aspergillus nidulans* para potenciar la biorremediación de Cd por parte de *B. subtilis*. Expusieron a *B. subtilis* a 0.5 mM Cd con 50 unidades de sideróforos (SU) $\cdot\text{ml}^{-1}$, teniendo como resultado 5.22 (620.8 $\text{mg}\cdot\text{ml}^{-1}$) veces mayor captura de Cd en comparación con el tratamiento sin sideróforos después de 24 horas. La exposición a sideróforos sobre *B. subtilis* reduce la tasa de crecimiento, el contenido de carbohidratos dentro de la célula se reduce, mientras que aumenta el contenido proteico, se estima que la reducción de carbohidratos se debe a la inhibición de la síntesis de estos por la captura de Cd, incrementando el contenido de proteínas en respuesta a estrés por Cd. El tratamiento con sideróforos presenta mayor daño celular debido a la mayor captura de Cd, su acumulación conlleva el incremento en radicales libres, causando la peroxidación lipídica de la membrana.

De manera similar, Cao *et al.* (2012) utilizaron sideróforos obtenidos de cepas de los generos *Bacillus*, *Pseudomonas* y *Serratia* para apoyar la biorremediación de Cd y Pb por el hongo *Oudemansiella radicata*. *Pseudomonas* sp. fue quien produjo una mayor cantidad de sideróforos (15.8 $\text{mg}\cdot\text{ml}^{-1}$), IAA (22.2 $\text{mg}\cdot\text{ml}^{-1}$), su solubilización de P fue la mayor (43.3 $\text{mg}\cdot\text{ml}^{-1}$). *Bacillus* sp. presento una menor producción de sideróforos (15.6 $\text{mg}\cdot\text{ml}^{-1}$), su síntesis de IAA (1.9 $\text{mg}\cdot\text{ml}^{-1}$) y solubilización de P (5.1 $\text{mg}\cdot\text{ml}^{-1}$) fueron mucho menores. La implementación de los sideróforos de *Bacillus* sp. aumentaron el peso seco de *O. radicata* en 32% en comparación con el control en concentraciones de 1 $\text{mg Cd}\cdot\text{L}^{-1}$; el aumento en el peso seco de *O. radicata* en

concentraciones de 100 mg Pb·L⁻¹ fue de 2% con los sideróforos de *Bacillus* sp. lo cual fue menor en comparación los de *Pseudomonas* sp. quienes aumentaron el peso seco en 20%. La implementación de sideróforos en el cultivo de *O. radicata* en presencia de metales pesados redujeron los niveles de peroxidación de lípidos, lo cual denota la capacidad de los sideróforos para mitigar el daño de metales pesados en la membrana celular, también se redujo la actividad de las enzimas superóxido dismutasa y peroxidasa lo cual indica la reducción del estrés producido por estos metales. Con lo que respecta a la potenciación en la captura de metales pesados por *O. radicata*, los sideróforos producidos por *Bacillus* sp. fueron quienes presentaron un mejor desempeño en la captura de Cd, con un aumento del 26%, en cambio, para la captura de Pb, fueron los sideróforos de *Pseudomonas* sp. quien brindo mejores resultados con un 158%.

Nath *et al.* (2018) valoraron el papel de dos cepas de *Pseudomonas* y una de *Bacillus* como promotoras de crecimiento para *O. sativa* L., en suelo contaminado con Cd y Pb. *B. cereus* puede tolerar 1700 µg Cd·ml⁻¹ y 150 µg Pb·ml⁻¹, las dos cepas pertenecientes a *Pseudomonas aeruginosa* toleran 1500 µg Cd·ml⁻¹ y 170 µg Pb·ml⁻¹. En suelo contaminado con una concentración de 20 y 50 mg Cd·Kg⁻¹ ambas cepas de *P. aeruginosa* aumentaron la longitud radicular en *O. sativa* L., mayor longitud de plántula, en cambio *B. cereus*, aunque puede resistir altas concentraciones de metales pesados, retraso la germinación y obtuvo menor longitud de plántula, lo cual podría ser resultado de la interacción negativa entre *B. cereus* con la rizósfera de *O. sativa* L.

Pandey *et al.* (2013) utilizaron inóculos de *Ochrobactrum* sp. tolerante a Cd, *Bacillus* sp. tolerante a As o *Bacillus* sp. tolerante a Pb como promotoras de crecimiento para *O. sativa* L. *Ochrobactrum* sp. tolera 100 µg Cd·ml⁻¹, es productora de sideróforos y ACC desaminasa. *Bacillus* sp. resistente a Pb con tolerancia a 400 µg Pb·ml⁻¹, productora de ACC desaminasa. *Bacillus* sp. resistente a As (V) con tolerancia a 180 µg As·ml⁻¹, productora de sideróforos y ACC desaminasa. Las tres cepas llegaron a porcentajes superiores a 60% de germinación, superando en 20% el control sin inóculo para As y en 10% los controles sin inóculo de Cd y Pb. Las tres

cepas aumentan la elongación de la raíz, reducen la concentración de superóxido dismutasa y de malondialdehído lo cual indica que se redujo el estrés por metales pesados sobre la planta. *Ochrobactrum* sp. *tolerante* a Cd obtuvo 600 mg en la biomasa de raíz y brote con concentración de 50 $\mu\text{g Cd}\cdot\text{ml}^{-1}$ en comparación del cultivo sin inóculo con 200 mg. *Bacillus* sp. *tolerante* a Pb presentó biomasa de raíz y brotes de 700 mg en 50 $\mu\text{g Pb}\cdot\text{ml}^{-1}$ en comparación a 200 mg sin inóculo. *Bacillus* sp. *tolerante* a As presentó una biomasa de 600 mg en raíz y brotes en concentración de 50 As (V) $\mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$ en comparación del cultivo sin inóculo con 200 mg.

Kummar *et al.* en 2016 implementó el uso de *B. thuringiensis* para la remoción de Co. Esta cepa, en medio líquido removió a 40% Co a concentración de 50 $\text{mg Co}\cdot\text{L}^{-1}$ y 22% Co a 100 $\text{mg Co}\cdot\text{L}^{-1}$ después de 48 horas, en medio sólido removió 28% Co a concentración de 50 $\text{mg Co}\cdot\text{L}^{-1}$ después de 48 horas.

Paraneeiswaran *et al.*, 2015 reducción de Co en desechos nucleares. *B. licheniformis* con la capacidad de reducir $[\text{Co (III)-EDTA}]^-$ a $[\text{Co (II)-EDTA}]^{2-}$. $[\text{Co (III)-EDTA}]^-$ es generado durante el manejo de desechos nucleares, es difícil de remover del medio debido a su estabilidad y solubilidad, en cambio $[\text{Co (II)-EDTA}]^{2-}$ es más fácil de disociar en Co (II) y EDTA en presencia de metales catiónicos, el Co (II) liberado puede ser inmovilizado por óxidos de Fe. *B. licheniformis* puede reducir 1 mM de $[\text{Co (III)-EDTA}]^-$ a $[\text{Co (II)-EDTA}]^{2-}$. $[\text{Co (III)-EDTA}]^-$ al 100% después de 216 horas.

Cui *et al.* (2015) evaluaron la capacidad de *B. dabaoshanensis* en la reducción de Cr (VI) a Cr (III). Esta cepa presenta tolerancia de 600 $\text{mg Cr (VI)}\cdot\text{L}^{-1}$. *B. dabaoshanensis* a concentración de 50 $\text{mg Cr (VI)}\cdot\text{L}^{-1}$, la redujo a Cr (III) completamente después de 48 horas, 75 $\text{mg Cr (VI)}\cdot\text{L}^{-1}$ fue reducida completamente después de 72 horas y 100 $\text{mg Cr (VI)}\cdot\text{L}^{-1}$ fue reducida después de 96 horas, la concentración de 125 $\text{mg Cr (VI)}\cdot\text{L}^{-1}$ se redujo en 85% y 150 $\text{mg Cr (VI)}\cdot\text{L}^{-1}$ fue reducida un 25%, ambas después de 144 horas.

Kalaimurugan *et al.*, 2020 utilizaron a *B. safensis* para la reducción de Cr (VI). Esta cepa es tolerante hasta 500 mg Cr (VI)·L⁻¹ y presenta la capacidad de reducir Cr (VI) a Cr (III), con una reducción del 72% de 100 mg Cr (VI)·L⁻¹.

Liu *et al.*, 2020 realizaron la optimización de la remoción de Cr (VI) por parte de *B. subtilis*, para ello implementaron el uso de diferentes variables, entre las que encontramos pH inicial, concentración inicial de Cr (VI), tiempo, porcentaje de inóculo. Los mejores resultados fueron con pH 5, tiempo 24 horas, porcentaje de inóculo 4.64% (v/v), concentración inicial de 55 mg Cr (VI)·L⁻¹, estas óptimas condiciones llevaron a valores de remoción del 93%. *B. subtilis* reduce Cr (VI) a Cr (III) de manera extracelular, debido a la producción de sustancias poliméricas extracelulares como polisacáridos, ácidos nucleicos y proteínas, estimuladas por las condiciones adversas.

Masood & Malik, 2011 emplearon una cepa de *Bacillus* para la reducción de Cr (VI) a Cr (III). La cepa utilizada presenta tolerancia a diferentes metales pesados, 1000 mg Cr (VI)·L⁻¹, 200 mg Cd·L⁻¹, 800 mg Cu·L⁻¹, 1600 mg Cr (III)·L⁻¹, 800 mg Co·L⁻¹ y Mg Ni·L⁻¹, 1000 mg Zn·L⁻¹. En concentración de 50 mg Cr (VI)·L⁻¹ en condiciones de pH 8, temperatura 37 °C lo redujo por completo tras 24 horas, en concentración de 50 mg Cr (VI)·L⁻¹ redujo por completo después de 48 horas y en concentración inicial de 200 mg Cr (VI)·L⁻¹ redujo el 73% en 48 horas.

Mazhar *et al.*, 2019 utilizaron un consorcio bacteriano para apoyar el crecimiento de plantas de trigo en suelo contaminado con Cr. El consorcio estaba compuesto por *B. aryabhatai* y *B. stratosphericus* con tolerancia a 29.3 mg Ni·L⁻¹, 1036 mg Pb·L⁻¹, 10.39 mg Cr·L⁻¹; *B. zhangzhouensis* con tolerancia a 29.34 mg Ni·L⁻¹, 1036 mg Pb·L⁻¹ y 51.99 mg Cr·L⁻¹; *B. cereus* con tolerancia a 5.8693 mg Ni·L⁻¹, 20.72 mg Pb·L⁻¹ y 10.39 mg Cr·L⁻¹; *B. flexus* con tolerancia a 58.60 mg Ni·L⁻¹, 1036 mg Pb·L⁻¹ y 10.39 mg Cr·L⁻¹; *Lysinibacillus fusiformis* con tolerancia a 5.8693 mg Ni·L⁻¹, 103.6 mg Pb·L⁻¹ y 10.39 mg Cr·L⁻¹. Las cepas presentan la capacidad para solubilizar Fe y P, son productoras de IAA. En trigo, el estrés inducido por Cr (2.5 mg·Kg⁻¹) reduce la longitud del brote en 34% y de la raíz en 48%, al utilizar el inóculo bacteriano se observó incremento en la longitud del brote en 22% y de la raíz en 23%, aumento

en la producción de clorofila del 28%, contenido de prolina en 20% y azúcar en 9%. La concentración de Cr en la planta se vio reducido por el inoculo y la implementación de biocarbón, de 0.31 mg·Kg⁻¹ a 0.28 mg·Kg⁻¹.

Rehman & Faisal, 2015 utilizaron tres cepas bacterianas diferentes para la reducción de Cr (VI) a Cr (III). *Cellulosimicrobium cellulans* y *Exigubacterium* sp. presentaron tolerancia a 8 mg Cr (VI)·ml⁻¹ mientras que *B. pumilus* a 5 mg Cr (VI)·ml⁻¹. *Exigubacterium* sp. fue capaz de reducir en 77% Cr (VI) a Cr (III) en concentración inicial de 200 µg Cr (VI)·ml⁻¹ y en 46% a concentración inicial de 400 µg Cr (VI)·ml⁻¹. *C. cellulans* redujo en 91% a concentración de 200 µg Cr (VI)·ml⁻¹ y en 55% en 400 µg Cr (VI)·ml⁻¹. *B. pumilus* redujo en 84% a concentración de 200 µg Cr (VI)·ml⁻¹ y en 55% a 400 µg Cr (VI)·ml⁻¹.

Roychowdhury *et al.* (2016) utilizaron 8 cepas diferentes para la remoción de Cr (VI). *Micrococcus luteus* con resistencia a 10 mM Cr (VI), pudo reducir en 90% a Cr (VI) a Cr (III) a concentración inicial de 10 mM Cr (VI). Tres cepas de *Straphylococcus pasteurii* fueron utilizadas con resistencia a 6, 8 y 10 mM Cr (VI), redujeron en 60% en concentración de 5 mM Cr (VI), 87.5% en concentración de 4 mM Cr (VI) y 85% en concentración de 10 mM Cr (VI) respectivamente. *B. cereus* es tolerante a 10 mM Cr (VI) y puede reducir en 82.5% en concentración de 10 mM Cr (VI). *B. subtilis* es tolerante a 8 mM Cr (VI) y puede reducir en 50% a concentración de 5 mM Cr (VI).

Shah & Archana, 2021 utilizaron bacterias encontradas a diferentes profundidades del suelo para la remoción de Cr (VI). *Bacillus* sp. encontrada entre 10.9 metros bajo el suelo con tolerancia de 5 mg Hg·L⁻¹, 50 mg Cd·L⁻¹, >440 mg Cr·L⁻¹, 100 mg Cu·L⁻¹ y 100 mg Ni·L⁻¹, con la capacidad de remover al 100% de Cr (VI) en concentración de 2 mg Cr (VI)·L⁻¹, redujo la concentración en lixiviados en 86% en medio con partículas con diámetro de 0.5-0.25 mm, 89% en medio con partículas con diámetro de 0.25-0.05 mm y 48% en medio con partículas con diámetro <0.5 mm, los tres con 5 mg Cr (VI)·L⁻¹.

Ramirez *et al.*, 2019, describieron la capacidad de fitorremediación por parte de mezquite (*Prosopis laevigata*) y la microbiota presente en nódulos de su raíz en

suelos de un sitio semiárido contaminado con metales pesados en Chietla, Puebla, México. *P. laevigata* es capaz de acumular 14000 mg Fe·Kg⁻¹, 1600 mg Ti·Kg⁻¹ y 2500 mg Zn·L⁻¹, pero no Cr. Al evaluar la tolerancia de 88 cepas bacterianas encontradas en nódulos de la raíz de *P. laevigata*, *Bacillus* sp. presentó tolerancia a 15000 mg Cr (VI)·L⁻¹ y 10000 mg Al·L⁻¹. Esta cepa se expuso a concentraciones de 5, 218, 664, 905, 968, 1094 y 1474 mg Cr (VI)·L⁻¹ durante 7 horas, presentó la capacidad de biosorción superior al 65% para todas las concentraciones, con hasta 95% de biosorción en concentración de 218 mg Cr (VI)·L⁻¹, en concentración de 1094 mg Cr (VI)·L⁻¹ exhibió biosorción superior a 90% de Cr (VI), a 1474 mg Cr (VI)·L⁻¹ se redujo drásticamente el porcentaje de biosorción. *Bacillus* sp. también muestra la capacidad para fijar nitrógeno en presencia de 0, 10 y 25 mg Cr (VI)·L⁻¹ apoyando el crecimiento de la planta.

Biswas *et al.*, 2018 caracterizaron a las bacterias intestinales del gusano de tierra *Metaphire posthuma* para explorar su potencial en la biorremediación de Cu y Zn. Determinaron a *B. licheniformis* KX657843 como parte de la microbiota intestinal. Esta cepa presenta tolerancia de hasta 523 mg Zn·L⁻¹ y 381.2 mg Cu·L⁻¹. *B. licheniformis* es capaz de remover el 35% de 25 mg Cu·L⁻¹, reducción de 23% a 50 mg Cu·L⁻¹ y 13% a 100 mg Cu·L⁻¹ después de 72 horas y 54% de 25 mg Zn·L⁻¹ después de 96 horas, 36% 50 mg Zn·L⁻¹ y 25% para 100 mg Zn·L⁻¹ después de 720 horas. Esta cepa puede fungir como bacteria promotora de crecimiento para *Vigna radiata*, con un aumento del porcentaje de germinación del 85% (sin inoculo) a 100% (inoculado), incrementa la longitud de brotes y raíz en medios no contaminados, es capaz de solubilizar P inorgánico y produce IAA.

Giri *et al.*, 2014 evaluaron la capacidad de *Bacillus* sp. para la remoción de Hg del medio. *Bacillus* sp. presentó resistencia a 100mg HgCl₂·L⁻¹, a 40 mg “metal pesado”·L para Zn, Cu y Fe, 20 mg Cd·L⁻¹. Removió 60 % de HgCl₂ del medio con concentración inicial de 100mg HgCl₂·L⁻¹ después de 48 horas. *Bacillus* sp. presenta una región del gen *merA* la cual codifica para la reductasa de iones de Hg, lo cual le permite la detoxificación de Hg inorgánico.

Xu *et al.*, 2019 utilizaron una cepa de *B. cereus* con la finalidad de biosorber Mn (II). Esta cepa presenta tolerancia hasta 1000 mg Mn (II)·L⁻¹. Esta cepa mostro la capacidad de biosorción de 99% a concentración de 600 mg Mn (II)·L⁻¹ y 67% a concentración de 800 mg Mn (II)·L⁻¹ después de 5 días. Se identifico que los grupos funcionales en la superficie de *B. cereus* relacionados con la biosorción de Mn (II) son hidroxilos, alquilos, amidas, fosforilo y ácido fosfórico.

Cephidian *et al.*, 2016 evaluaron la capacidad de *Bacillus* sp. (con 99.5% de similitud con *Bacillus sonorensis*) para la biosorción de Pb. Esta cepa mostro tolerancia hasta 3125 mg Pb·L⁻¹, presento una eficacia de remoción de 100 mg Pb·L⁻¹ del 95%, 87% a 500 mg Pb·L⁻¹ y 85% a 700 mg Pb·L⁻¹. La captura de Pb por parte de esta cepa se debe a la producción de grupos funcionales como fosfatos, hidroxilos, carbonilos, aminos de peptidoglicanos, ácido teicoico y lipopolisacáridos en su cubierta celular, los cuales fungen como trampas para Pb evitando que este toxico metal entre en la célula.

Chen *et al.*, 2015 determinaron la participación de grupos funcionales involucrados en la biosorción de Pb presentes en la pared celular de *B. thuringiensis*, cepa que presenta capacidad para capturar y transformar Pb (II) en nanocristales minerales hasta concentraciones de 400 mg Pb (II)·L⁻¹. Se evaluó la capacidad de esta cepa para la biosorción de Pb en concentraciones de 100 a 700 mg Pb·L⁻¹, con incremento en la biosorción de 100 a 600 mg Pb·L⁻¹, con la concentración de 600 mg Pb/L con biosorción de 164.7 mg Pb·(g peso seco *B. thuringiensis*)⁻¹, este como su valor máximo. A concentración de 700 mg Pb·L⁻¹ la biosorción se vio reducida. En células sin modificaciones en sus grupos funcionales a concentración de 100 mg Pb·L⁻¹ la biosorción fue de 71 mg Pb·(g peso seco *B. thuringiensis*)⁻¹, al eliminar el grupo carboxilo la biosorción fue de 4 mg Pb·g⁻¹ peso seco *B. thuringiensis*, la eliminación del grupo amida llevo a la biosorción de 9 mg Pb·(g peso seco *B. thuringiensis*)⁻¹ y la eliminación del grupo fosfato obtuvo resultados de biosorción de 14 mg Pb·(g peso seco *B. thuringiensis*)⁻¹, estos resultados denotan la importancia de los grupos carboxilo, amida y fosfato con lo que respecta a la biosorción de Pb por parte de *B. thuringiensis*.

Diba *et al.*, 2021 compararon la capacidad de cepas halófilas aisladas de un lago de sal para la biorremediación de Pb y Ni. Identificaron 3 cepas como *Bacillus* sp., *Oceanobacillus* sp. y *Salinococcus* sp. *Bacillus* sp. presento resistencia a 1491.8 mg Pb·L⁻¹ y a 211.2 mg Ni·L⁻¹, *Oceanobacillus* sp. tolera 849.5 mg Pb·L⁻¹ y 217.1 mg Ni·L⁻¹ y *Salinococcus* sp. con resistencia a 1388.2 mg Pb·L⁻¹ y 240 mg Ni·L⁻¹. En concentraciones de 207.2 mg Pb·L⁻¹ y 58.69 mg Ni·L⁻¹ *Bacillus* sp. redujo Pb del medio en 97.5% y Ni 76% en 30 horas; *Oceanobacillus* sp. redujo en 98.8% el Pb del medio y 73.5% para Ni en 30 horas; *Salinicoccus* sp. redujo 92% del Pb del medio y el 71.7% de Ni en 40 horas. Las cepas *Bacillus* sp y *Oceanobacillus* sp. presentan la cualidad de sintetizar nanopartículas de Pb mientras que *Salinicoccus* sp. puede sintetizar nanopartículas de Pb y Cd.

Shammer, 2016 utilizaron tres cepas diferentes de *Bacillus* para la remoción de Pb, Cd y Cu por la producción de sustancias poliméricas extracelulares. *B. licheniformis* puede producir 22.2 mg sustancias poliméricas extracelulares·(10 ml)⁻¹, de los cuales un 2.8 mg·(10 ml)⁻¹ son polisacáridos, 4.3 mg·(10 ml)⁻¹ son proteínas. Reduce en 79% Pb a concentración inicial de 1000 mg Pb·L⁻¹, en 2% Cd a concentración inicial de Cd y 6% de Cu a 1000 mg Cu·L⁻¹. *B. cereus* produce 21.2 mg sustancias poliméricas extracelulares·(10 ml)⁻¹, de los cuales 4.4 mg·(10 ml)⁻¹ son polisacáridos, 2.5 mg·(10 ml)⁻¹ proteínas. Reduce en 86% Pb a concentración de 1000 ppm Pb, 16% Cd en 1000 ppm Pb y en 6% Cu a concentraciones de 1000 ppm Cu. *B. subtilis* produce 19.3 mg sustancias poliméricas extracelulares·(10 ml)⁻¹ con 3 mg·(10 ml)⁻¹ polisacáridos, 3.5 mg·(10 ml)⁻¹ proteínas. Reduce en 85% Pb a concentración de 1000 ppm Pb, 8% Cd y Cu en concentraciones de 1000 ppm Cd y Cu.

Kumari & Singh, 2011 utilizaron diferentes consorcios bacterianos con la finalidad de realizar el proceso de fitorremediación con *Brassica juncea* de cenizas volantes con contenido de Pb, Mn, Zn, Cr y Ni. Las bacterias presentan capacidad de fijar N, solubilizar P y capturar micronutrientes, promoviendo el crecimiento y mayor acumulación de la planta en cuestión. La máxima acumulación de Pb fue de 278%, Mn en 75%, Zn en 163%, Cr en 226% y Ni en 414%, mayor biomasa, peso de la

raíz, peso del tallo, translocación de raíz a tallo de Zn y Mn con el consorcio compuesto por *Paenibacillus macerans* + *B. pumilus*. La mayor captura de Cd fue en 237%, mayor peso de hojas, mayor valor de translocación de raíz a tallo de Pb, Cr, Ni, Cd y Fe por el consorcio de *Bacillus endophyticus*+ *Micrococcus roseus*+ *B. pumilus*+ *P. macerans*. El mayor valor de translocación de tallo a hojas de Pb, Zn, Ni y Cd por el consorcio *B. endophyticus*+ *M. roseus*+ *B. pumilus*. Mayor valor de translocación de raíz a tallo de Cr y Zn *P. macerans*+ *B. endophyticus*+ *B. pumilus*. El mayor valor de translocación de raíz a tallo de Fe fue por el consorcio *M. roseus*+ *B. pumilus*. El factor de translocación se refiere a la concentración del metal en los órganos aéreos y la raíz de la planta.

Li *et al.*, 2018 utilizaron cepa de *Bacillus* sp. para la oxidación de Sb (III) a Sb (V). Cepa con tolerancia a 5.5 mM Sb (III), con una oxidación de 50 µM Sb (III) por día. De manera similar Mishra *et al.* (2011) implemento la reducción de Se (IV) a Se (0) mediante el uso de *B. mefaterium*. Reducción de 0.25 mM después de 40 horas, con reducción de 90% en concentración de 1mM Se después de 80 horas y casi 50% en concentración de 2 mM.

DISCUSIÓN

En la base de datos de Springer se encontraron reportes de la participación del género *Bacillus* en la biorremediación de metales pesados, manifestando los diversos mecanismos que el género presenta ante estos contaminantes.

Hare & Chowdhary (2019) utilizaron a *B. litoralis* y *B. infantis* como promotoras de crecimiento para *O. sativa* L., en el proceso de fitorremediación de As (III), la implementación de ambos tratamientos tuvo como resultado el aumento en la elongación de raíz, brote y aumento en la biomasa, al igual que la presencia de estas cepas redujeron la concentración de As (III) en la planta. Pandey *et al.*, en 2013 de manera similar implementaron cepas bacterianas del género *Bacillus* para apoyar el crecimiento de *O. sativa* L., en medio contaminado con As (V) y Pb, los tratamientos con estas cepas bacterianas presentaron mayor porcentaje de germinación, biomasa de raíz y brote, al igual que reportaron que son productoras de ACC desaminasa y sideróforos. Las cepas implementadas por Pandey *et al.*, (2013) y Hare & Chowdhary (2019) al ser rizobacterias promotoras de crecimiento por lo descrito por Esquivel-Cote *et al.*, en 2013, reducen el estrés por metales pesados, permitiendo a *O. sativa* L., mejor desarrollo reflejado en mayor crecimiento, porcentaje de germinación y aumento en su biomasa. La capacidad de las cepas de Pandey *et al.*, (2013) para producir sideróforos, reduce los efectos tóxicos de los metales (Khan *et al.*, 2020) al igual que la síntesis de ACC desaminasa (Esquivel-Cote *et al.*, 2013; Singh *et al.*, 2016) sobre *O. sativa* L.

El biocarbón es el resultado de la descomposición de material orgánico bajo un suministro limitado de oxígeno a temperaturas desde 350 hasta 700 °C, ha sido utilizado como un material absorbente debido a su porosidad, capacidad de intercambio iónico y su amplia área de superficie. Se ha reportado el uso de biocarbón para adsorción e inmovilización de metales pesados, como Cr, Mn, Cu, Zn, Cd y Pb, la temperatura de la pirolisis influye en el tamaño y distribución de los poros, grupos funcionales y pH, estas características influyen en la capacidad de adsorber diferentes metales pesados (Komkiene & Baltreinaite, 2016; Zhou *et al.*, 2017). Mazhar *et al.*, (2019) utilizaron consorcios bacterianos como apoyo para el

crecimiento de trigo en suelo contaminado con Cr, los consorcios presentaron la capacidad de solubilizar Fe y P, al igual que son promotoras de IAA, tuvieron como resultado el aumento en la longitud del brote, raíz, aumento en la concentración de clorofila, redujeron la concentración de Cr en la planta en conjunto con biocarbón. Debido a la importancia del Fe para la producción de clorofila (Marsh *et al.*, 1963; Ishimaru *et al.*, 2011), la capacidad para solubilizar Fe por parte de las bacterias que componen al consorcio reportado por Mazhar *et al.*, en 2019 se obtiene una mayor concentración de clorofila. Como nos expone Juwarkar *et al.*, (2010) podemos notar el acoplamiento de técnicas de tratamiento al implementar el uso de rizobacterias promotoras de crecimiento para apoyar el desarrollo del trigo y el uso de biocarbón como adsorbente de metales pesados reduciendo la concentración de Cr en trigo.

Las cenizas volantes son residuos resultado de la combustión de carbón por parte de la industria energética, estas son un contaminante ambiental debido a su contenido de elementos tóxicos como metales pesados y su acumulación en el suelo y cuerpos de agua (Ahmaruzzaman, 2010). Kumari & Singh (2011) tuvieron de igual forma obtuvieron mejores resultados con respecto a la biomasa y acumulación de metales pesados por parte de *B. juncea* en conjunto a consorcios bacterianos de rizobacterias promotoras de crecimiento durante el proceso de biorremediación de cenizas volantes con presencia de Pb, Mn, Zn, Cr, Cd y Ni.

Como expone Sharma *et al.* (2020^a), el Cr (VI) es nocivo para los organismos, *P. laevigata* no presenta tolerancia innata ante este metal pesado, mas Ramírez *et al.*, en 2019 reportaron a *Bacillus* sp. como rizobacteria promotora de crecimiento, quien puede fijar N, presenta alta tolerancia a Cr (VI) y capacidad biosorción de este metal, reduciendo el estrés generado por este sobre *P. laevigata*, aunado a esto, Ramírez *et al.*, 2020 reporto su capacidad para producir 29 compuestos volátiles orgánicos que inducen a la interrupción de dormancia en semillas expuestas a Cr (VI) y estimulan la elongación de raíz y brotes, se han reportado compuestos orgánicos volátiles con diversos efectos benéficos en plantas, como aquellos producidos por *Pseudomonas putida* con la capacidad de inhibir el crecimiento de patógenos como *Phytophthora capsici*, *Pythium myriotylum*, *Giberella moniliformis*, *Rhizoctonia*

solani, *Athelia rolfsii*, *Colletotrichum gloeosporioides* y nematodos fitopatógenos como *Radopholus similis* (Sheoran *et al.*, 2015), con la capacidad de incrementar la biomasa de la planta, contenido de clorofila producidos por especies del género *Trichoderma* (Lee *et al.*, 2016).

El As (III) provoca mal funcionamiento en enzimas y proteínas (Singh *et al.*, 2016), por ello resulta indispensable su oxidación a una forma menos dañina como As (V), Mujewar *et al.*, en 2021, analizo la capacidad de oxidar As (III) a As (V) por *B. flexus*, esta cepa oxido en 70% As (III) a As (V) y además puede acumular este último, el proceso de oxidación lo realiza gracias a la presencia del gen *aioAB*. Bhakat *et al.*, en 2019 reportó a *Microbacterium* sp. (15 mg As (III)·L⁻¹), *Shinella* sp. (45 mg As (III) ·L⁻¹), *Bacillus* sp. (113 mg As (III)·L⁻¹) y *Microccus* sp. (60 mg As (III)·L⁻¹) por su potencial para oxidar As (III), pero ninguna oxido a mayor concentración que la de *B. flexus* (7491.90 mg As (III) ·L⁻¹). El gen *aioAB* codifica para arsenito oxidasa, la cual permite oxidar arsenito a arseniato, este gen ha sido encontrado también en *Pseudomonas jessenii* (Hamamura *et al.*, 2020).

El Cd se encuentra en la naturaleza en rocas sedimentarias, fosforitas de los océanos o en combustibles fósiles como el carbón (Kosek-Hoehne *et al.*, 2017), este metal tiene diversos efectos negativos en los seres vivos como la reducción en el crecimiento de plantas por el incremento en la actividad de IAA oxidasa (Chaoui & El Ferjani, 2005) o la deficiencia de Fe (Siedlecka & BaszyńAski, 1993), reduce la actividad catalasa y superóxido dismutasa, destruye membranas celulares (Slivinska *et al.*, 2020). Khan *et al.*, (2020) utilizaron *A. nidulans* para producir sideróforos para favorecer la biorremediación de Cd por *B. subtilis*, con lo cual presento biosorción 5 veces mayor al control. Cabe resaltar que la exposición de sideróforos sobre esta cepa reduce la tasa de crecimiento, aumenta el contenido proteico en respuesta al estrés por Cd, Awwad & Salem en 2014, reportaron la afinidad de iones de Cd por grupos amino e hidroxilo en hojas de *Eriobotrya japonica*.

Nath *et al.* (2018) al evaluar el potencial de una cepa de *B. cereus* como promotora de crecimiento para *O. sativa* L., en el proceso de fitorremediación de Cd y Pb,

determinaron efectos negativos en el desarrollo de la planta mencionada aun cuando *B. cereus* mostro alta tolerancia a concentraciones de Cd y Pb, denotando la importancia del desarrollo del conocimiento referente a estos procesos, como lo expone Juwarkar *et al.*, (2010) quienes nos mencionan la importancia de reconocer los diferentes factores involucrados con el proceso de biorremediación a desempeñar, puesto que de lo contrario podría llevar a la producción a resultados negativos, como lo muestra Zhao *et al.* (2014) con la bioestimulación de *P. australis*, dando como resultado la volatilización de endosulfán a la atmósfera en lugar de su degradación.

CONCLUSIÓN

Los metales pesados son de gran importancia para el desarrollo continuo de los seres humanos como sociedad, mas no por ello se ha de restar importancia a los efectos que la contaminación con metales pesados provoca, resultado de las diversas actividades antropogénicas antes mencionadas, ya sea al ambiente o la salud.

Ante esta problemática se han desarrollado diversas técnicas para la eliminación de metales pesados bajo fundamentos físico-químicos, que aunque en muchos casos logran la remoción del contaminante del medio son altamente caras e inclusive pueden generar contaminantes de otro índole en el proceso, o simplemente no reducir la toxicidad del contaminante solo transportarlo de un punto a otro sin eliminar el problema, por estas cuestiones, surge la necesidad de la implementación de técnicas amigables con el ambiente y más económicas, como son las técnicas relacionadas a la biorremediación que se ha demostrado pueden desempeñar la tarea de detoxificación de manera óptima ante diferentes condiciones, cabe destacar la importancia de continuar con la investigación de los mecanismos empleados y características del medio al cual ha de implementarse con la finalidad de obtener óptimos resultados y no correr el riesgo de condiciones que influyan de manera negativa con el ambiente.

El género *Bacillus* ha sido de gran importancia en diversos campos, la biorremediación de metales pesados es uno de ellos, puesto que presenta diversas estrategias para tolerar los efectos tóxicos de los metales pesados e inclusive la reducción del impacto negativo de estos sobre el medio ambiente, denotando el potencial que este género presenta ante esta problemática inclusive de mejor manera que otras especies de diferentes géneros ante diferentes metales pesados en concentraciones varias.

Se lograron cumplir los objetivos de esta revisión bibliográfica, abordando temas como los escenarios en los cuales se genera la contaminación por metales, los efectos que estos contaminantes tienen sobre el ambiente y la salud, describiendo los diversos tipos de remediación ya sean de índole física, química o biológica y el

papel del género *Bacillus* en procesos de biorremediación de diferentes metales pesados.

REFERENCIAS

- Abdullahi, A., Ighalo, J., Ajala, O. & Ayika, S. (2020) Physicochemical analysis and heavy metals remediation of pharmaceutical industry effluents using bentonite clay modified by H₂SO₄ and HCL. *Journal of the Turkish chemical society section A: chemistry*, 7 (3). doi: 10.18596/jotcsa.703913.
- Abhay, S. & Haines, S. (1997) Repairing holes in the head: a history of cranioplasty. *Neurosurgery*, 40 (3). doi: 10.1097/0006123-199703000-00033
- Ahmaruzzaman, M. (2010) A review on the utilization of fly ash. *Progress in energy and combustion science*, 36. doi: 10.1016/j.pecs.2009.11.003
- Ajaz, S., Ahmed, T., Shahid, M., Noman, M., Shah, A., Mehmood, M., Abbas, A., Cheema, A., Iqbal, M. & Li, B. (2021) Bioinspired green synthesis of silver nanoparticles by using a native *Bacillus* sp. strain AW1-2: characterization and antifungal activity against *Colletotrichum falcatum* went. *Enzyme and microbial technology*, 144. doi: 10.1016/j.enzmictec.2021.109745
- Al Azad, S., Farjana, M., Mazumder, B., Abdullah-Al-Mamun, M. & Haque, A. (2020) Molecular identification of a *Bacillus cereus* strain from Murrah buffalo milk showed *in vitro* bioremediation properties on selective heavy metals. *Journal of advanced veterinary and animal research*, 7 (1). doi: 10.5455/javar.2020.g394
- Alcaraz, L., Moreno-Hagelsieb, G., Eguiarte, L., Souza, V., Herrera-Estrella, L., & Olmedo, G. (2010). Understanding the evolutionary relationships and major traits of *Bacillus* through comparative genomics. *BMC genomics*, 11(1). doi: 10.1186/1471-2164-11-332
- Alderete-Suarez, B., Valles-Aragón, M., Canales-Reyes, S., Peralta-Pérez, M. & Orrantia-Borunda, E. (2018) Bioconcentración de Pb, Cd y As en biomasa

- de *Eleocharis macrostachya* (Cyperaceae). *Revista internacional de contaminación ambiental*, 35. doi: 10.20937/RICA.2019.35.esp03.11
- Alexander, J. W. (2009) History of the medical use of silver. *Surgical infections*, 10 (3). doi: 10.1089/sur.2008.9941
- Alloway, B.J. (2013a) Sources of Heavy Metals and Metalloids in Soils. En: Alloway B. (eds) *Heavy Metals in Soils. Environmental Pollution*, 22. Dordrecht, Holanda Springer. https://doi-org.proxydgb.buap.mx/10.1007/978-94-007-4470-7_2
- Alloway, B.J. (2013b) Introduction. En: Alloway B. (eds) *Heavy Metals in Soils. Environmental Pollution*, 22. Dordrecht, Holanda, Springer. https://doi-org.proxydgb.buap.mx/10.1007/978-94-007-4470-7_1
- Almeida, W., & Leal, M. (2006) Studies on the stability of protease from *Bacillus* sp. and its compatibility with commercial detergent. *Brazilian journal of microbiology*, 37 (3). doi: 10.1590/S1517-83822006000300020
- Alshahri, F. & El-Taher, A. (2018) Assessment of heavy and trace metals in surface soil nearby an oil refinery, Saudi Arabia, using geoaccumulation and pollution indices. *Archives of environmental contamination and toxicology*, 75 (3). doi: 10.1007/s00244-018-0531-0
- Aragón Tobar, C. F. (2013). *Diseño a escalas laboratorio y piloto de un sistema de remediación electrocinética de suelos contaminados con metales pesados*. [Tesis de licenciatura]. Escuela politecnica nacional.
- Arivoli, A., Mohanraj, R. & Seenivasan, R. (2015) Application of vertical flow constructed wetland in treatment of heavy metals from pulp and paper industry wastewater. *Environmental science and pollution research*, 22 (17). doi: 10.1007/s11356-015-4594-4
- Ariza, Y., & Sánchez, MSc., L. (2012). Determinación de metabolitos secundarios a partir de *Bacillus subtilis* con efecto biocontrolador sobre *Fusarium* sp. *Nova*, 10 (18), 149-155. doi:10.22490/24629448.1003

- Arya, K., Devi, S., Angrish, R., Singal, I. & Rani, K. (2017) Soil reclamation through phytoextraction and phytovolatilization. En: Choudhary, D., Sharma, A., Agarwal, P., Varma, A., Tuteja, N. (Eds.) *Volatiles and food security*. Springer. doi: 10.1007/978-981-10-5553-9_3
- Aslam, S., Hussain, A. & Qazi, J. (2019) Production of cellulase by *Bacillus amyloliquefaciens*-ASK11 under high chromium stress. *Waste biomass valor*, 10. doi: 10.1007/s12649-017-0046-3
- Atagana, H., Haynes, R. & Wallis, F. (2006) Fungal bioremediation of creosote-contaminated soil: a laboratory scale bioremediation study using indigenous soil fungi. *Water, air, and soil pollution* 172. doi: 10.1007/s11270-005-9074-x
- Awwad, A. & Salem, N. (2014) Kinetics and thermodynamics of Cd (II) biosorption onto loquat (*Eriobotrya japonica*) leaves. *Journal of Saudi chemical society*, 18 (5). doi: 10.1016/j.jscs.2011.10.007
- Aytar, P., Gedikli, S., Çelikdemir, M., Uzuner, S., Farizoglu, B., Şam, M., Çabuk, A. & Sağlam, N. (2011) Dephenolization of olive mill wastewater by pellets of some white rot fungi. *Hacettepe journal of biology and chemistry*, 39 (4).
- Azeem, M., Barba-Aliaga, M., Borg-Karlson, A.K., Terenius, O., Broberg, A. & Kuttuva, G. (2019). *Heterobasidion*-growth inhibiting *Bacillus subtilis* A18 exhibits medium- and age-dependent production of lipopeptides. *Microbiological research*, 223-22 (2019), 129-136. doi: 10.1016/j.micres.2019.04.006
- Azubuike, C. C., Chikere, C. B. & Okpokwasili, G. C. (2016) Bioremediation techniques-classification based on site of application: principles, advantages, limitations and prospects. *World J Microbial Biotechnol*, 32. doi: <https://doi.org/10.1007/s11274-016-2137-x>
- Bajpai, P. (2018) *Biotechnology for Pulp and Paper Processing*. Springer, Singapore. doi: 10.1007/978-981-10-7853-8_

- Bakiyaraj, R., Baskaran, L., Chidambaram, A., Mahakavi, T. & Santhoshkumar, M. (2014) Bioremediation of chromium by *Bacillus subtilis* and *Pseudomonas aeruginosa*. *International journal of current microbiology and applied sciences*, 3 (9).
- Barakat, M. A. (2011) New trends in removing heavy metals from industrial wastewater. *Arabian Journal of Chemistry*, 4 (4), pp: 361-377. doi: <https://doi.org/10.1016/j.arabjc.2010.07.019>
- Baturin, G. N. (1971). Stages of phosphorite formation on the ocean floor. *Nature physical science*, 232 (29), pp. 61–62. doi:10.1038/physci232061a0
- Begonia, G. B., Miller, G. S., Begonia, M. T. & Burks, C. (2002) Chelate-enhanced phytoextraction of lead-contaminated soils using coffeeweed (*Sesbania exaltata* Raf.). *Bulletin of environmental contamination and toxicology*, 69. doi: 10.1007/s00128-002-0106-6
- Begonia, M. T., Begonia, G. B., Miller, G. S. & Gilliard, D. (2004) Effects of chelate application time on the phytoextraction of lead-contaminated soils. *Bulletin of environmental contamination and toxicology*, 73. doi: 10.1007/s00128-004-0529-3
- Bentley, R. & Chasteen, T. (2002) Arsenic curiosa and humanity. *Chemical educator*, 7 (2). doi: 10.1007/s00897020539a
- Beveridge, T., Forsberg, C. & Doyle, J. (1982) Major site of metal binding in *Bacillus licheniformis* walls. *Journal of bacteriology*, 150 (3).
- Bhakat, K., Chakraborty, A. & Islam, E. (2019) Characterization of arsenic oxidation and uranium bioremediation potential of arsenic resistant bacteria isolated from uranium ore. *Environmental science and pollution research*, 26 (13). doi: 10.1007/s11356-019-04827-6
- Biswas, J., Banerjee, A., Rai, M., Rinklebe, J., Shaheen, S., Sarkar, S., Dash, M., Kaviraj, A., Langer, U., Song, H., Vithanage, M., Mondal, M. & Niazi, N. (2018) Exploring potential applications of a novel extracellular polymeric substance

synthesizing bacterium (*Bacillus licheniformis*) isolated from gut contents of earthworm (*Metaphire posthuma*) in environmental remediation. *Biodegradation*, 29. doi: 10.1007/s10532-018-9835-z

Blandin, G., Verliefde, A., Tang, C. & Le-Clech, P. (2015) Opportunities to reach economic sustainability in forward osmosis-reverse osmosis hybrids for seawater desalination. *Desalination*, 363. doi: 10.1016/j.desal.2014.12.011

Bóka, B., Manczinger, L., Kocsubé, S., Shine, K., Alharbi, N. S., Khaled, J. M., Münsterkötter, M., Vágvölgyi, C. & Kredics, L. (2019). Genome analysis of a *Bacillus subtilis* strain reveals genetic mutations determining biocontrol properties. *World journal of microbiology and biotechnology*, 35 (3), 1-14. doi: 10.1007/s11274-019-2625-x

Bosso, S. & Enzweiler, J. (2008) Bioaccessible lead in soils, slag, and mine wastes from an abandoned mining district in Brazil. *Environmental geochemistry and health*, 30 (3).

Bour, M. (2016) Bioremediation. En: Kennish, M. (ed.) *Encyclopedia of estuaries. Encyclopedia of earth science series*. Springer. doi: 10.1007/978-94-017-8801-4_359

Bourg, A. C. M., & Loch, J. G. (1995). Mobilization of heavy metals as affected by pH and redox conditions. En: *Biogeochemistry of pollutants in soils and sediments* (pp. 87-102). Springer, Berlin, Heidelberg.

Boyd, E., Anbar, A., Miller, S., Hamilton, T., Lavin, M. & Peters, W. (2011) A late methanogen origin for molybdenum-dependent nitrogenase. *Geobiology*, 9. doi: 10.1111/j.1472-4669.2011.00278.x

Bradford, S. & Cowan, J. (2014) From traditional drug design to catalytic metallodrugs: a brief history of the use of metals in medicine. *Metallodrugs*, 1 (1). doi: 10.2478/medr-2014-0002

- Bradl, H. (2005) Sources and origins of heavy metals. En: Brandl, H. (ed.) *Heavy metals in the environment: origin, interaction and remediation*, 6, 1-27, Interface science and technology.
- Bravo, A., Likitvivatanavong, S., Gill, S. & Soberón, M. (2011) *Bacillus thuringiensis*: a story of a successful bioinsecticide. *Insect biochemistry and molecular biology*, 41 (7). doi: 10.1016/j.ibmb.2011.02.006
- Bressuire-Isoard, C., Broussolle, V. & Carlin, F. (2018) Sporulation environment influences spore properties in *Bacillus*: evidence and insights on underlying molecular and physiological mechanisms. *FEMS microbiology reviews*, 42 (5). doi: 10.1093/femsre/fuy021
- Bruisson, S., Zufferey, M., L'Haridon, F., Trutmann, E., Anand, A., Dutarte, A., De Vrieze M. & Weiskop. (2019). Endophytes and epiphytes from the grapevine leaf microbiome as potential biocontrol agents against phytopathogens. *Frontiers in microbiology*, 10 (November), 1-17. doi:10.3389/fmicb.2019.02726
- Byers, H., Kellogg, C., Anderson, M. & Thorp, J. (1938) *Formation of soil*. USDA.
- Cambrollé, J., Mateos-Naranjo, E., Redondo-Gómez, S., Luque, T. & Figueroa, M. (2011) The role of two *Spartina* species in phytostabilization and bioaccumulation of Co, Cr, and Ni in the Tinto-Odiel estuary (SW Spain). *Hydrobiologia*, 671. doi: 10.1007/s10750-011-0706-4
- Campbell, A., Williams, E. & Barltrop, D. (1970) Motor neurone disease and exposure to lead. *Journal of neurology, neurosurgery and psychiatry*, 33.
- Cao, Y., Zhang, X., Deng, J., Zhao, Q. & Xu, H. (2012) Lead and cadmium-induced oxidative stress impacting mycelial growth of *Oudemansiella radicata* in liquid medium alleviated by microbial siderophores. *World journal of microbiology and biotechnology*, 28. doi: 10.1007/s11274-011-0983-0

- Carrión, C, Ponce-de Leon, S. C., Sommer, I., Hernández, M. & Venegas, C. (2012). Aprovechamiento potencial del lirio acuático (*Eichhornia crassipes*) En Xochimilco para fitorremediación de metales. *Agrociencia*, 46 (6).
- Carro, L., Peix, A. & Velázquez, E. (2021) The taxonomy of bacteria in the genomic era. En: Villa, T. G., de Miguel, T. (eds.) *Developmental biology in prokaryotes and lower eukaryotes*. Springer. doi: 10.1007/978-3-030-77595-7_12
- Caulier, S., Gillis, A., Colau, G., Licciardi, F., Liépin, M., Desoignies, N., Modrie, P., Legrève, A., Mahillon, J. & Bragard, C. (2018). Versatile antagonistic activities of soil-borne *Bacillus* spp. and *Pseudomonas* spp. against *Phytophthora infestans* and other potato pathogens. *Frontiers in microbiology*, 9 (February), 1-15. doi:10.3389/fmicb.2018.00143
- Cavaglieri, L., Orlando, J., Rodríguez, M. I., Chulze, S. & Etcheverry, M. (2005). Biocontrol of *Bacillus subtilis* against *Fusarium verticillioides* *in vitro* and at the maize root level. *Research in microbiology*, 156 (2005), 748-754. doi: 10.1016/j.resmic.2005.03.001
- Cefalu, W. & Hu, F. (2004) Role of chromium in human health and diabetes. *Diabetes care* 27, (11). doi: 10.2337/diacare.27.11.2741
- Celandroni, F., Vechione, A., Cara, A., Mazzantini, D., Lupetti, A. & Ghelardi, E. (2019) Identification of *Bacillus* species: implication on the quality of probiotic formulations. *Plosone*, 14 (5).
- Cephidian, A., Makhdoumi, A., Mashregui, M. & Gharaie, M. (2016) Removal of anthropogenic lead lead pollutions by a potent *Bacillus* species AS2 isolated from geogenic contaminated site. *International journal of environmental science and technology*, 13. doi: 10.1007/s13762-016-1023-2
- Chang, T. & Yen, J. (2006) On-site mercury-contaminated soils remediation by using thermal desorption technology. *Journal of hazardous materials*, B128. doi: 10.1016/j.jhazmat.2005.07.053

- Chaoui, A. & El Ferjani, E. (2005) Effects of cadmium and copper on antioxidant capacities, lignification and auxin degradation in leaves of pea (*Pisum sativum* L.) seedlings. *Comptes rendus biologies*, 328 (1). doi: 10.1016/j.crv.2004.10.001
- Chapin, F., Matson, P. & Vitousek, P. (2011) Geology, soil, and sediments. En: *Principles of terrestrial ecosystem ecology*. Springer. doi: 10.1007/978-1-4419-9504-9_3
- Chaston, J. (1982) The growing industrial use of the platinum metals a quarter century of technological progress. *Platinum metals rev.*, 26 (1).
- Chen, C., Hsu, L., Chiu, H., Hsueh, Y., Chen, S., Wu, M. & Chen, C. (2004) Ingested arsenic, cigarette smoking, and lung cancer risk: a follow-up study in arseniasis-endemic areas in Taiwan. *Jama*, 292 (24).
- Chen, S. Y. & Lin, J. G. (2001). Bioleaching of heavy metals from sediment: significance of pH. *Chemosphere*, 44 (5).
- Chen, Y., Guo, Y., Su, H., Hsueh, Y., Smith, T., Ryan, L., Lee, M., Chao, S., Lee, J. & Christiani, D. (2003a) Arsenic methylation and skin cancer risk in southwestern Taiwan. *Journal of occupational and environmental medicine*, 45 (3).
- Chen, Y., Su, H., Guo, Y., Hsueh, Y., Smith, T., Ryan, L., Lee, M. & Christiani, D. (2003b) Arsenic methylation and bladder cancer risk in Taiwan. *Cancer causes & control*, 14 (4).
- Chen, Z., Pan, X., Chen, H., Lin, Z. & Guan, X. (2015) Investigation of lead (II) uptake by *Bacillus thuringiensis* 016. *World journal of microbiology and biotechnology*, 31. doi: 10.1007/s11274-015-1923-1
- Cholanians, A., Phan, A., Ditzel, E., Camenisch, T., Lau, S. & Monks T. (2016) From the cover: arsenic induces accumulation of α -synuclein: implications for synucleinopathies and neurodegeneration. *Toxicological science*, 153 (2). doi: 10.1093/toxsci/kfw117

- Cockell, C., Santomartino, R., Finster, K., Waajen, A., Nicholson, N., Loudon, C., Eades, L., Moeller, R., Rettberg, P., Fuchs, F., Houdt, R., Leys, N., Coninx, I., Hatton, J., Parmitano, L., Krause, J., Koehler, A., Caplin, N., Zuijderduijn, L., Mariani, A., Pellari, S., Carubia, F., Luciani, G., Balsamo, M., Zolesi, V., Ochoa, J., Sen, P., Watt, J., Doswald-Winkler, J., Herová, M., Rattenbacher, B., Wadsworth, J., Everroad, R. & Demets, R. (2021) Microbially-enhanced vanadium mining and bioremediation under micro- and mars gravity on the international space station. *Frontiers in microbiology*, 12. doi: 10.3389/fmicb.2021.641387
- Coin, F., Oksenysh, V. & Egly, J. (2007) Distinct roles for the XPB7p52 and XPD/p44 subcomplexes of TFIIH in damaged DNA opening during nucleotide excision repair. *Molecular cell*, 26 (2). doi: 10.1016/j.molcel.2007.03.009
- Conceição, G., M. A., Hauser-Davis, R. A., Nunes de Souza, A. & Pierre, V., A. (2016) Metal phytoextraction: general strategies, genetically modified plants and applications in metal nanoparticle contamination. *Ecotoxicology and environmental safety*, 134.
- Cooke, C., Abbott, M., Wolfe, A. & Kittleson, J. (2007) A millennium of metallurgy recorded by lake sediments from Morococha, Peruvian Andes. *Environmental science & technology*, 41 (10). doi: 10.1021/es062930
- Cooper, R. & Harrison, A. (2009) the exposure to and health effects of antimony. *Indian journal of occupational & environmental medicine*, 13 (1). doi: 10.4103/0019-5278.50716
- Correa, E. & Goodacre, R. (2011) A genetic algorithm-Bayesian network approach for the analysis of metabolomics and spectroscopic data: application to the rapid identification of *Bacillus* spores and classification of *Bacillus* species. *BMC bioinformatics*, 12 (33). doi: 10.1186/1471-2105-12-33
- Covarrubias, S. A. & Peña, J. J. (2017) Contaminación ambiental por metales pesados en México: problemática y estrategias de fitorremediación. *Revista*

internacional de contaminación ambiental, 33, 7-21. doi: 10.20937/RICA.2017.33.esp01.01

Cui, X., Wang, Y., Liu, J., Chang, M., Zhao, Y., Zhou, S. & Zhuang, L. (2015) *Bacillus dabaoshanensis* sp. nov., a Cr (VI)-tolerant bacterium isolated from heavy-metal-contaminated soil. *Archives of microbiology*, 197. doi: 10.1007/s00203-015-1082-7

Cvjetko, P., Cvjetko, I. & Pavlica, M. (2010) Thallium toxicity in humans. *Arhiv za higijenu rada I toksikologiju*, 61 (1).

da Costa, M., Kehrig, H. & da Silva, I. (2016) Bioaccumulation. En: *Kennish, M. J. (ed.) Encyclopedia of estuaries. Encyclopaedia of earth sciences series*. Springer. doi: 10.1007/978-94-017-8801-4_132

da Silva M. & Álvarez, P. (2010) Bioaugmentation. En: Timmis, K. N. (ed.) *Handbook of hydrocarbon and lipid microbiology*. Springer. doi: https://doi-org.proxydgb.buap.mx/10.1007/978-3-540-77587-4_356

Dash, H., Mangwani, N. & Das, S. (2014) Characterization and potential application in mercury bioremediation of highly mercury-resistant marine bacterium *Bacillus thuringiensis* PW-05. *Environmental science and pollution research*, 21. doi: 10.1007/s11356-013-2206-8

Dermont, G., Bergeron, M., Mercier, G. & Richer-Lafèche. (2008) Metal-Contaminated Soils: Remediation Practices and Treatment Technologies. *Practice periodical of hazardous, toxic, and radioactive waste management*, 12 (3). doi: 10.1061/(ASCE)1090-025X(2008)12:3(188)

Dias, R. L., Ruberto, L., Calabró, A., Lo Balbo, A., del Panno, M. T. & MacCormack, W. P. (2015) Hydrocarbon removal and bacterial community structure in on-site biostimulated biopile systems designed for bioremediation of diesel-contaminated Antarctic soil. *Polar Biology*, 38. doi: 10.1007/s00300-014-1630-7

- Diba, H., Cohan, R., Salimian, M., Mirjani, R., Soleimani, M. & Khodabakhsh, F. (2021) Isolation and characterization of halophilic bacteria with the ability of heavy metal bioremediation and nanoparticle synthesis from Khara salt lake in Iran. *Archives of microbiology*, 203. doi: 10.1007/s00203-021-02380-w
- Ding, P., Song, W., Yang, Z. & Jian, J. (2018). Influence of Zn (II) stress-induction on component variation and sorption performance of extracellular polymeric substances (EPS) from *Bacillus vallismortis*. *Bioprocess and Biosystems Engineering*, 41 (6), 781-791. doi: 10.1007/s00449-018-1911-6
- Dixit, R., Malaviya, D., Pandiyan, K., Singh, U., Sahu, A., Shukla, R., Singh, B., Rai, J., Sharma, P., Lade, H. & Paul, D. (2015) Bioremediation of heavy metals from soil and aquatic environment: an overview of principles and criteria of fundamental processes. *Sustainability*, 7 (2). doi: 10.3390/su7022189
- Duca, D., Lorv, J., Patten, C., Rose, D. & Glick, B. (2014) Indole-3-acetic acid in plant-microbe interactions. *Antoine van Leeuwenhoek*, 106. doi: 10.1007/s10482-013-0095-y
- Ellouze, M. & Sayadi, S. (2016) White-rot fungi and their enzymes as a biotechnological tool for xenobiotics bioremediation. En: Saleh, M. & Rahman, R. (eds) *Management of hazardous wastes*, IntechOpen. doi: 10.5772/64145
- El-Sheshtawy, H. & Ahmed, W. (2017) Bioremediation of crude oil by *Bacillus licheniformis* in the presence of different concentration nanoparticles and produced biosurfactant. *International journal of environmental science and technology*, 14. doi: 10.1007/s13762-016-1190-1
- Esquivel-Cote, R., Gavilanes-Ruiz, M., Cruz-Ortega, R. & Huante, P. (2013) Importancia agrobiotecnológica de la enzima ACC desaminasa en rizobacterias, una revisión. *Revista fitotecnica mexicana*, 36 (3).
- Fernandes, B., Barros, L., Peçanha, F., Wiggers, G., Frizzera, P., Ronacher, M., Fiorim, J., Batista, P., Fiorese, M., Rossoni, L., Stefanon, I., Alonso, M., Saldaña, M. & Valentim, D. (2012) Toxic effects of mercury on the

- cardiovascular and central nervous system. *Journal of biomedicine and biotechnology*, (2012). doi: 10.1155/2012/949048
- Fierros-Romero, G., Gomez-Ramirez, M., Arenas-Isaac, G. E., Pless-Elling, R. C. & Rojas-Avelizapa, N. G. (2016). Identification of *Bacillus megaterium* and *Microbacterium liquefaciens* genes involved in metal resistance and metal removal. *Canadian Journal of Microbiology*, 62, 505-513. doi: <https://doi.org/10.1139/cjm-2015-0507>
- Fira, D., Dimkić, I., Berić, T., Lozo, J. & Stanković, S. (2018). Biological control of plant pathogens by *Bacillus* species. *Journal of Biotechnology*, 285 (July), 44-55. <https://doi.org/10.1016/j.jbiotec.2018.07.044>
- Fomina, M. & Gadd, G. (2014) Biosorption: current perspectives on concept, definition and application. *Biosource technology*, 160. doi: 10.1016/j.biortech.2013.12.102.
- Friedlova, M. (2010) The Influence of Heavy Metal on Soil Biological and Chemical Properties. *Soil & Water Res.*, 5 (1), (pp: 21-27)
- Galán, E. & Romero, A. (2008) Contaminación de suelos por metales pesados. *Revista de la sociedad española de minerología*, 10.
- Gamage, S., Masakorala, K., Brown, M. & Gamage, M. (2021) Comparative phytoremediation potentials of *Impatiens balsamina* L. and *Crotalaria retusa* L. for soil contaminated with used lubricating oil. *Environmental advances*, 5. doi: 10.1016/j.envadv.2021.100095
- Garay-Arroyo, A., Sánchez, M., García-Ponce, B., Álvarez-Buylla, E. & Gutiérrez, C. (2014) La homeostasis de las auxinas y su importancia en el desarrollo de *Arabidopsis thaliana*. *Revista de educación bioquímica*, 33 (1)
- García, C. & Taboada, T. (2008) Factors of soil formation. En: Chesworth, W. (ed.) *Encyclopedia of soil science. Encyclopedia of Earth sciences series*. Springer. doi: 10.1007/978-1-4020-3995-9_207

- Genchi, G., Sinicropi, M., Carocci, A., Lauria, G. & Catalano, A. (2017) Mercury exposure and heart diseases. *International journal of environmental research and public health*, 14 (1).
- Giri, S., Dash, H. & Das, S. (2014) Mercury resistant bacterial population and characterization of *Bacillus* sp., isolated from sediment of solid waste discharged point of steel industry. *National academy science letters*, 37. doi: 10.1007/s40009-014-0229-4
- Girisha, S. (2015) Utilization of exo polymers secreted by *Bacillus licheniformis* for the remediation of lead. *International research journal of biological sciences*, 4 (1).
- Gonçalves Jr., A., Nacke, H., Schwantes, D., Nava, I. & Strey, L. (2011) Phytoavailability of toxic metals and productivity in wheat cultivated under residual effect of fertilization in soybean culture. *Water air soil pollution*, 220. doi: 10.1007/s11270-011-0747-3
- Gooch J.W. (2011) Heavy Metals. En: Gooch J.W. (eds) *Encyclopedic Dictionary of Polymers*. New York, Estados Unidos de América, Springer. https://doi-org.proxydgb.buap.mx/10.1007/978-1-4419-6247-8_5872
- Gordon, R., Haynes, Q. & Pang, C. (1973) The genus *Bacillus*. En: Agriculture Handbook No. 427. US Dept. of Agriculture.
- Granzotto, G., Marcelino, P., Barbosa, A., Rodrigues, E., Rezende, M. & Oliveira, A. (2012). Culturable bacterial pool from aged petroleum-contaminated soil: identification of oil-eating *Bacillus* strains. *Annals of microbiology*, 62. doi: 10.1007/s13213-012-0425-8
- Guerra-Cantera, M. & Raymundo, A. (2005) Utilization of a polyphasic approach in the taxonomic reassessment of antibiotic-and enzyme- producing *Bacillus* spp. isolated from the Philippines. *World journal of microbiology and biotechnology*, 21. doi: 10.1007/s11274-004-3567-4

- Gunatilake, S. K. (2015) Methods of Removing Heavy Metals from Industrial Wastewater. *Journal of Multidisciplinary Engineering Science Studies*, 1 (1).
- Guo, H., Luo, S., Chen, L., Xiao, X., Xi, Q., Wei, W., Zeng, G., Liu, C., Wan, Y., Chen, J. & He, Y. (2010) Bioremediation of heavy metals by growing hyperaccumulaor endophytic bacterium *Bacillus* sp. L14. *Bioresource technology*, 101. doi: 10.1016/j.biortech.2010.06.085
- Guo, Q., Li, S., Lu., X., Zhang, X., Wang, P. & Ma. P. (2014). Complete Genome Sequence of *Bacillus subtilis* BAB-1, a Biocontrol Agent for Suppression of Tomato Gray Mold. *Genome Announcements* 2 (4). doi: 10.1128/genomeA.00744-14
- Gupta, R., Abrol, I., Finkl, C., Kirkham, M., Arbestain, M., Macías, F. & Chesworth, W. (2008) Soil. En: Chesworth, W. (ed.) *Encyclopedia of soil science. Encyclopedia of Earth sciences series*. Springer. doi: 10.1007/978-1-4020-3995-9_531
- Gutiérrez-Mañero, F., Ramos-Solano, B., Probanza, A., Meheouachi, J., Tadeo, F & Talon, M. (2001) The plant-growth-promoting rhizobacteria *Bacillus pumilus* and *Bacillus licheniformis* produce high amounts of physiologically active gibberellins. *Physiologia plantarum*, 111 (2). doi: 10.1034/j.1399-3054.2001.1110211.x
- Gzar, H., Abdul-Hameed, A. & Yahya, A. (2014) Extraction of lead, cadmium and nickel from contaminates soil using acetic acid. *Open journal of soil science*, 4. doi: 10.4236/ojss.2014.46023
- Habashi, F. (2005) Fire and the art of metals: a short history of pyrometallurgy. *Mineral processing and extractive metallurgy*, 114. doi: 10.1179/037195505X63358
- Hamamura, N., Nakajima, N. & Yamamura, S. (2020) Draft genoma sequence of the antimony-oxidizing *Pseudomonas* sp. strain SbOxS1, isolated from stibnite mine tailing soil. *Microbiology resource announcements*, 9 (49).

- Hare, V. & Chowdhary, P. (2019) Changes in growth responses in rice plants grown in the arsenic affected: implication of As resistant microbes in mineral content and translocation. *SN applied sciences*, 1 (8). doi: 10.1007/s42452-019-0945-y
- Hartwig, A. (2013) Cadmium and cancer. En: Sigel, A., Sigel, H. & Sigel, R. (eds.) *Cadmium: from toxicity to essentiality*. Springer. doi: 10.1007/978-94-007-5179-8
- He, Z., Shentu, J., Yang, X., Baligar, V., Zhang, T. & Stoffella, P. (2015) Heavy metal contamination of soils: sources, indicators, and assessment. *Journal of environmental indicators*, 9.
- He, Z., Yang, X. & Stoffella, P. (2005) Trace elements in agroecosystems and impacts on the environment. *Journal of trace elements in medicine and biology*, 19. doi: 10.1016/j.jtemb.2005.02.010
- Hei, L., Jin, P., Zhu, X., Ye, W. & Yang, Y. (2016) Characteristics of speciation of heavy metals in municipal sewage sludge of Guangzhou as fertilizer. *Procedia environmental sciences*, 31. doi: 10.1016/j.proenv.2016.02.031
- Hosler, D. (2014) Mesoamerican metallurgy: the perspective from the west. En: Roberts, B. & Thornton, C. (eds.) *Archaeometallurgy in global perspective*. Springer. doi: 10.1007/978-1-4614-9017-3_14
- Huang, K., Chen, C., Shen, Q., Rosen, B. & Zhao, F. (2015) Genetically engineering *Bacillus subtilis* with a heat-resistant arsenite methyltransferase for bioremediation of arsenic-contaminated organic waste. *Applied and environmental microbiology*, 81 (19). doi:10.1128/AEM.01535-15
- Hunt, L. (1987) A history of iridium. *Platinum metals rev.*, 31 (1).
- Hussain, I., Aleti, G., Naidu, R., Puschenreiter, M., Mahmood, Q., Rahman, M. M., Wang, F., Shaheen, S., Syed, J. H. & Reichenauer, T. G. (2018). Microbe and plant assisted-remediation of organic xenobiotics and its enhancement by

genetically modified organism and recombinant technology: A review.
Science of the total environment, 628-629

Hyder, O., Chung, M., Cosgrove, D., Herman, J., Li, Z., Firoozmand, A., Gurakatar, A., Koteish, A. & Pawlik, T. (2013) Cadmium exposure and liver disease among US adults. *Journal of gastrointestinal surgery*, 17 (7). doi: 10.1007/s11605-013-2210-9

Ignatus, A., Arunbabu, V. & Ramsamy, E. (2014) Rhizofiltration of lead using an aromatic medicinal plant *Plectranthus amboinicus* cultured in a hydroponic nutrient film technique (NFT) system. *Environmental science pollution research*, 21. doi: 10.1007/s11356-014-3204-1

Inaba, T., Kobayashi, E., Suwazono, Y., Uetani, M., Oishi, M., Nakagawa, H. & Nogawa, K. (2005) Estimation of cumulative cadmium intake causing Itai-itai disease. *Toxicology letters*, 159. doi: 10.1016/j.toxlet.2005.05.011

Institute of Medicine US. (2001) *Dietary Reference Intakes for Vitamin A, Vitamin K, Arsenic, Boron, Chromium, Copper, Iodine, Iron, Manganese, Molybdenum, Nickel, Silicon, Vanadium, and Zinc*. National Academies Press (US)

Ishimaru, Y., Kakei, Y., Shimo, H., Bashir, K., Sato, Y., Sato, Y., Uozumi, N., Nakanishi, H. & Nishizawa, N. (2011) A rice phenolic efflux transporter is essential for solubilizing precipitated apoplasmic iron in the plant stele. *Journal of biological chemistry*, 286 (28). doi: 10.1074/jbc.M111.221168

ITIS (2012). *Bacillus* Cohn, 1872. Recuperado de: https://www.itis.gov/servlet/SingleRpt/SingleRpt?search_topic=TSN&search_value=407#null

Iturbe-Arquüelles, R., Flores-Torres, C., Chávez-López, C. & Roldán-Martín, A. (2002) Saneamiento de suelos contaminados con hidrocarburos mediante biopilas. *Ingeniería investigación y tecnología III*, 1.

- Jabeen, R., Ahmad, A. & Iqbal, M. (2009) Phytoremediation of heavy metals: physiological and molecular mechanisms. *The botanical review*, 75. doi: 10.1007/s12229-009-9036-x
- Jain, C. K., Malik, D. S. & Yadav, A. K. (2016) Applicability of plant based biosorbents in the removal of heavy metals: a review. *Enviromental process*, 3. doi: <https://doi-org.proxydgb.buap.mx/10.1007/s40710-016-0143-5>
- Jan, M., Shah, G., Masood, S., Shinwari, K., Hameed, R., Rha, E. & Jamil, M. (2019) *Bacillus cereus* enhanced phytoremediationability of rice seedlings under cadmium toxicity. *Biomed research international*, 2019. doi: 10.1155/2019/8134651
- Jena, V., Gupta, S., Dhundhel, R. S., Matic, N., Bilinski, S. F. & Devic, N. (2013) Determination of total heavy metal by sequential extraction from soil. *International Journal of Research in Environmental Science and Technology*, 3 (1), pp: 35-38.
- Jia, Y., Huang, H., Sun, G., Zhao, F. & Zhu, Y. (2012) Pathways and relative contributions to arsenic volatilization from rice plants and paddy soil. *Environmental science & technology*, 46 (15). doi: 10.1021/es300499a
- Jiménez, F., Lavado, C. & Bendezú, S. (2015) Biosorcion de Pb (II) de aguas residuales de mina usando el marlo de maíz (Zae mays). *Revista de la sociedad quimica del Perú*, 81 (2).
- Jin, Q., Jiang, Q., Zhao, L., Su, C., Li, S., Si, F., Li, S., Zhou, C., Mu, Y. & Xiao, M. (2017) Complete genome sequence of *Bacillus velezensis* S3-1, a potential biological pesticide with plant pathogen inhibiting and plant promoting capabilities. *Journal of biotechnology*, 259 (February), pp: 199-203. doi: 10.1016/j.jbiotec.2017.07.011
- Joo, M. & Kim, J. (2013) Characteristics of crude oil biodegradation by biosurfactant-producing bacterium *Bacillus subtilis* JK-1. *Journal of the Korean society for applied biological chemistry*, 56. doi: 10.1007/s13765-012-3269-9

- Ju-Liang, H., Ching-Yi, C., Meng-Hsue, C., Mei-Fang, C., Jo-Shu, C., Ginro, E. & Chieh-Chen, H. (2009). Expressing a bacterial mercuric ion binding protein in plant for phytoremediation of heavy metals. *Journal of Hazardous Materials*, 161 (2-3), 920-925. doi: <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2008.04.079>
- Juwarkar, A. A., Singh, S. K. & Mudhoo, A. (2010) A comprehensive overview of elements in bioremediation. *Reviews in Environmental Science and Bio/Technology*, 9. doi: 10.1007/s11157-010-9215-6
- Kabata-Pendias, A. (2001). *Trace elements in soils and plants*. CRC press.
- Kachenko, A. & Singh, B. (2006) Heavy metals contamination in vegetable grown in urban and metal smelter contaminated sites in Australia. *Water, air, and soil pollution*, 169 (1).
- Kalaimurugan, D., Balamuralikrishnan, B., Durairaj, K., Vasudhevan, P., Shivakumar, M., Kaul, T., Chang, S., Ravindran, B. & Venkatesan. S. (2020) Isolation and characterization of heavy-metal-resistant bacteria and their applications in environmental bioremediation. *International journal of environmental science and technology*, 17. doi: 10.1007/s13762-019-02563-5
- Kamika, I. & Momba, M. (2013). Assessing the resistance and bioremediation ability of selected bacterial and protozoan species to heavy metals in metal-rich industrial wastewater. *BMC Microbiology*, 13 (1), 1-14. doi: 10.1186/1471-2180-13-28
- Ka-ot, A. L., Banerjee, S., Haldar, G. & Joshi, S. R. (2018). Acid and Heavy Metal Tolerant *Bacillus* sp. from Rat-Hole Coal Mines of Meghalaya, India. *Proceedings of the National Academy of Sciences India Section B - Biological Sciences*, 88 (3), 1187-1198. doi: 10.1007/s40011-017-0856-x
- Kara, A., Fakioglu, Ö., Kotan, R., Atamanalp, M. & Alak, G. (2021) The investigation of bioremediation potential of *Bacillus subtilis* and *B. thuringensis* isolates under controlled conditions in freshwater. *Archives of microbiology*, 203. doi: 10.1007/s00203-021-02187-9

- Kartal, S., Munir, E., Kakitani, T. & Imamura, Y. (2004) Bioremediation of CCA-treated wood by brown-rot fungi *Fomitopsis palustrism*, *Coniophora puteana*, and *Laetiporus sulphureus*. *Journal of wood science*, 50. doi: 10.1007/s10086-003-0544-8
- Kennedy, D., Kennedy, S., Blanchflower, W., Scott, J., Weir, D., Molloy, A. & Young, P. (1994) Cobalt-vitamin B12 deficiency causes accumulation of odd-numbered, branched-chain fatty acids in the tissues of sheep. *British journal of nutrition*, 71.
- Khan, A., Gupta, A., Singh, P., Mishra, A., Ranjan, R. & Srivastava, A. (2020) Siderophore-assisted cadmium hyperaccumulation in *Bacillus subtilis*. *International microbiology*, 23. doi: 10.1007/s10123-019-00101-4
- Khan, S., Cao, Q., Zheng, Y., Huang, Y. & Zhu, Y. (2008) Health risks of heavy metals in contaminated soils and food crops irrigated with wastewater in Beijing, China. *Environmental pollution*, 152. doi: 10.1016/j.envpol.2007.06.056
- Kharazi, A., Leili, M., Khazei, M., Alikhani, M. & Shokoohi, R. (2021) Human health risk assessment of heavy metals in agricultural soil and food crops in Hamadan, Iran. *Journal of food composition and analysis*, 100. doi: 10.1016/j.jfca.2021.103890
- Kim, J. (2014) Isolation and characterization of a biosurfactant-producing bacterium *Bacillus pumilus* IJ-1 from contaminated crude oil collected in Taean, Korea. *Journal of the Korean society for applied biological chemistry*, 57. doi: 10.1007/s13765-013-4236-9
- Kobayashi, G., Bastos, M. & Tchounwou, P. (2010) Lead levels in human milk and children's health risk: a systematic review. *Reviews on environmental health*, 25 (3).
- Komkiene, J. & Baltreinaite, E. (2016) Biochar as adsorbent for removal of heavy metal ions [Cadmium (II), Copper (II), Lead (II), Zinc (II)] from aqueous phase.

International journal of environmental science and technology, 13. doi: 10.1007/s13762-015-0873-3

Koréneková, B., Skalická, M. & Nad, P. (2002) Concentration of some heavy metals in cattle reared in the vicinity of a metallurgic industry. *Veterinarski archiv*, 72 (5).

Kosek-Hoehne, K., Panocha, B. & Śliwa, A. (2017) Heavy metals- a silent threat to health. *Journal of Education, Health and Sport*, 7 (1), pp:121-132. doi: <http://dx.doi.org/10.5281/zenodo.233037>

Kumar, R & Agrawal, M. (2005) Biological effects of heavy metals: An overview. *Journal of Environmental Biology*, 26 (pp 301-313).

Kumari, B. & Singh, S. (2011) Phytoremediation of metals from fly ash through bacterial augmentation. *Ecotoxicology*, 20. doi: 10.1007/s10646-010-0568-y

Kumari, W., Thiruchittampalam, S., Weerasinghe, M., Chandrasekharan, N. & Wijayarathna, C. (2021) Characterization of a *Bacillus megaterium* strain with metal bioremediation potential and in silico discovery of novel cadmium binding motifs in the regulator, CadC. *Applied microbiology and biotechnology*, 105. doi: 10.1007/s00253-021-11193-2

Kummar, M., Kummar, V., Varma, A., Prasad, R., Kummar, A., Pal, A., Arshi, A. & Singh, J. (2016) An efficient approach towards the bioremediation of copper, cobalt and nickel contaminated field samples. *Journal of soils and sediments*, 16 (8). doi: 10.1007/s11368-016-1398-1

Lapan, O., Mikhyeyev, A. & Madzhd, S. (2019) Development of a new method of rhizofiltration purification of water objects of Zn (II) and Cd (II). *Journal of water chemistry and technology*, 41 (1). doi: 10.3103/S1063455X19010089

Lastochkina, O., Seifikalhor, M., Aliniaefard, S., Baymiev, A., Pusenkova, L., Garipova, S., Kulabuhova, D. & Maksimov, I. (2019). *Bacillus* Spp.: Efficient biotic strategy to control postharvest diseases of fruits and vegetables. *Plants*, 8 (97), 1-24. doi:10.3390/plants8040097

- Lee, C., Qi, S., Zhang, G., Luo, C., Zhao, L. & Li, X. (2008) Seven thousand years of records on the mining and utilization of metals from lake sediments in central China. *Environmental science & technology*, 42 (13). doi: 10.1021/es702990n
- Lee, S., Yap, M., Behringer, G., Hung, R. & Bennett, J. (2016) Volatile organic compounds emitted by *Trichoderma* species mediate plant growth. *Fungal biology and biotechnology*, 3. doi: 10.1186/s40694-016-0025-7
- Li, G., Sun, G., Williams, P., Nunes, L. & Zhu, Y. (2011) Inorganic arsenic in Chinese food and its cancer risk. *Environment international*, 37.
- Li, J., Lu, Y., Yin, W., Gan, H., Zhang, C., Deng, X. & Lian, J. (2009) Distribution of heavy metals in agricultural soils near a petrochemical complex in Guangzhou, China. *Environmental monitoring and assessment*, 153 (1). doi: 10.1007/s10661-008-0363-x
- Li, J., Yu, H., Wu, X., Shen, L., Liu, Y., Qiu, G., Zeng, W. & Yu, R. (2018) Novel hyper antimony-oxidizing bacteria isolated from contaminated mine soils in China. *Geomicrobiology journal*, 35 (8). doi: 10.1080/01490451.2018.1454556
- Li, S., Xiao, T. & Zheng, B. (2012) Medical geology of arsenic, selenium and thallium in China. *Science of total environment*, 421. doi: 10.1016/j.scitotenv.2011.02.040
- Limmer, M. & Burken, J. (2016) Phytovolatilization of organic contaminants. *Environmental science & technology*, 50 (13). doi: 10.1021/acs.est.5b04113
- Liu, G., Yu, Y., Hou, J., Xue, W., Liu, X., Liu, Y., Wang, W., Alsaedi, A., Hayat, T. & Liu, Z. (2014) An ecological risk assessment of heavy metals pollution of the agricultural ecosystem near a lead-acid battery factory. *Ecological indicators*, 47. doi: 10.1016/j.ecolind.2014.04.040

- Liu, H., Probst, A. & Liao, B. (2005) Metal contamination of soils and crops affected by the Chenzou lead/zinc mine spill (Hunan, China). *Science of the total environmental*, 339.
- Liu, J., Xue, J., Wei, X., Su, H. & Xu, R. (2020) Optimization of Cr⁶⁺ removal by *Bacillus subtilis* strain SZMC 6179J from chromium-containing soil. *Indian journal of microbiology*, 60 (4). doi: 10.1007/s12088-020-00886-3
- Logan, N. A. & De Vos, P. (2009). Genus I. *Bacillus* Cohn 1872, 174 AL. En De Vos, P., Garrity, G. M., Jones, D., Krieg, N. R., Ludwig, W., Rainey, F. A., Schleifer, K. H. & Whitman, W. B. (Eds.) *Bergey's manual of systematic bacteriology*. Volume Three. The Firmicutes. USA: Springer.
- Lokhande, R., Singare, P. & Pimple, D. (2011) Toxicity study of heavy metals pollutants in waste water effluent samples collected from Taloja industrial estate of Mumbai, India. *Resource and environment*, 1 (1). doi: 10.5923/j.re.20110101.02
- Ludwig, W., Schleifer, K. & Whitman, W. (2011) Taxonomic outline of the phylum Firmicutes. *Bergey's manual of systematic bacteriology*, 2.
- Ma, Y., Rajkumar, M., Zhang, C. & Freitas, H. (2016). Beneficial role of bacterial endophytes in heavy metal. *Journal of environmental management*, 174.
- MacFarquhar, J., Broussard, D., Melstrom, P., Hutchinson, R., Wolkin, A., Martin, C., Burk, R., Dunn, J., Green, A., Hammond, R., Schaffner, W. & Jones, T. (2010) Acute selenium toxicity, associated with a dietary supplement. *Archives of internal medicine*, 170 (3). doi: 10.1001/archinternmed.2009.495
- Mandal, D., Sonar, R., Saha, I., Ahmed, S. & Basu, A. (2021) Isolation and identification of arsenic resistant bacteria: a tool for bioremediation of arsenic toxicity. *International journal of environmental science and technology*, 2021. doi: 10.1007/s13762-021-03673-9
- Mann, J., Markham, J., Peiris, P., Nair, N., Spooner-Hart, R. & Holford, P. (2009) Screening and selection of fungi for bioremediation of olive mill wastewater.

World journal of microbiology and biotechnology, 26. doi: 10.1007/s11274-009-0200-6

Manutchehr-Danai, M. (ed.). (2009) *Dictionary of Gems and Gemology*. Berlin, Springer. doi: https://doi-org.proxydgb.buap.mx/10.1007/978-3-540-72816-0_13219

Marsh, H. Jr., Evans, H. & Matrone, G. (1963) Investigations of the role of iron in chlorophyll metabolism. II. Effect of iron deficiency on chlorophyll synthesis. *Plant physiology*, 38 (6).

Marwa, N., Singh, N., Srivastava, S., Saxena, G., Pandey, V. & Singh, N. (2018) Characterizing the the hypertolerance potential of two indigenous bacterial strains (*Bacillus flexus* and *Acinetobacter junii*) and their efficacy in arsenic bioremediation. *Journal of applied microbiology*, 126 (4). doi: 10.1111/jam.14179

Masood, F. & Malik, A. (2011) Hexavalent chromium reduction by *Bacillus* sp. Strain FM1 isolated from heavy-metal contaminated soil. *Bulletin of environmental contamination and toxicology*, 86. doi: 10.1007/s00128-010-0181-z

Massas, I., Kalivas, D., Ehaliotis, C. & Gasparatos, D. (2013) Total and available heavy metal concentrations in soils of the Thriassio plain (Greece) and assessment of soil pollution indexes. *Environ Monit Asses*, 185. doi: <https://doi.org/10.1007/s10661-013-3062-1>

Mazhar, R., Ilyas, N., Arshad, M., Khalid, A. & Hussain, M. (2019) Isolation of heavy metal-tolerance PGPR strains and amelioration of chromium effect in wheat in combination with biochar. *Iranian journal of science and technology, transactions a: science*, 44 (1). doi: 10.1007/s40995-019-00800-7

Mazzei, L., Musiani, F. & Ciurli, S. (2020) The structure-based reaction mechanism of urease, a nickel dependent enzyme: tale of a long debate. *Journal of biological inorganic chemistry*, 25. doi: 10.1007/s00775-020-01808-w

- McLean, R., Campbell, A., Khu, P., Persaud, A., Bickerton, L. & Beauchemin, D. (1994) Repeated use of *Bacillus subtilis* cell walls for copper binding. *World journal of microbiology and biotechnology*, 10 (4).
- Mehmood, S., Chaudhry, M., Tufail, M. & Irfan, N. (2009) Heavy metal pollution from phosphate rock used for the production of fertilizer in Pakistan. *Microchemical journal*, 91. doi: 10.1016/j.microc.2008.08.009
- Mézes, M. & Balogh, K. (2009) Prooxidant mechanisms of selenium toxicity- a review. *Acta biologica Szegediensis*, 53 (suppl.1)
- Mignorance, M., Valdés, B. & Oliva, S. (2007) Strategies of heavy metal uptake by plants growing under industrial emissions. *Environment international*, 33. doi: 10.1016/j.envint.2007.01.005
- Mirzoian, A. & Luetje, C. (2002) Modulation of neuronal nicotin acetylcholine receptors by mercury. *The journal of pharmacology and experimental therapeutics*, 302 (2).
- Mishra, R., Prajapati, S., Das, J., Dangar, T., Das, N. & Thatoi, H. (2011) Reduction of selenite to red elemental selenium by moderately halotolerant *Bacillus megaterium* strains isolated from Bhitarkanika mangrove soil and characterization of reduced product. *Chemosphere*, 84. doi: 10.1016/j.chemosphere.2011.05.025
- Mohammed, A., Mutar, Z. & Al-Baldawi, I. (2021) Alternanthera spp. based-phytoremediation for the removal of acetaminophen and methylparaben at mesocosm-scale constructed wetlands. *Heliyon*, 7 (11). doi: 10.1016/j.heliyon.2021.e08403
- Mohammed, Y., Lee, B., Kang, Z. & Du, G. (2014) Development of a two-step cultivation strategy for the production of vitamin B12 by *Bacillus megaterium*. *Microbial cell factories*, 13. doi: 10.1186/s12934-014-0102-7

- Moher, D., Liberati, A., Tetzlaff, J., Altman, D. G. & The PRISMA Group (2009). Preferred Reporting Items for Systematic Reviews and Meta-Analyses: The PRISMA Statement. *PLoS Med* 6 (7). doi:10.1371/journal.pmed1000097
- Mohite, B. (2013) Isolation and characterization of indole acetic acid (IAA) producing bacteria from rhizospheric soil and its effect on plant growth. *Journal of soil science and plant nutrition*, 13 (3).
- Molina, N., Aguilar, P. & Cordovez, C. (2010) Plomo, cromo III y cromo IV y sus efectos sobre la salud humana. *Ciencia & tecnología para la salud visual y ocular*, 8 (1).
- Monnot, A., Christian, W., Abramson, M. & Follansbee, M. (2015) An exposure and health risk assessment of lead (Pb) in lipstick. *Food and chemical toxicology*, 80.
- Moon, K., Guallar, E. & Navas-Acien, A. (2012) Arsenic exposure and cardiovascular disease: an update systematic review. *Current atherosclerosis reports*, 14 (6).
- Morales, M. E., Derbes, R. S., Ade, C. M., Ortego, J. C., Stark, J., Deininger, P. L. & Roy-Engel, A. M. (2016) Heavy Metal Exposure Influences Double Strand Break DNA Repair Outcomes. *PloS ONE*, 11 (3). doi: 10.1371/journal.pone.0151367
- Mujawar, S., Vaigankar, D. & Dubey, S. (2021) Biological characterization of *Bacillus flexus* strain SSA11 transforming highly toxic arsenite to less toxic arsenate mediated by periplasmic arsenite oxidase enzyme encoded by aioAB genes. *Biometals*, 34. doi: 10.1007/s10534-021-00316-x
- Mukherjee, P., Roychowdhury, R. & Roy, M. (2017) Phytoremediation potential of rhizobacterial isolates from kans grass (*Saccharum spontaneum*) of fly ash ponds. *Clean technologies and environmental policy*, 19. doi: 10.1007/s10098-017-1336-y
- Mwandira, W., Nakashima, K., Kawasaki, S., Arabelo, A., Banda, K., Nyambe, I., Chirwa, M., Ito, M., Sato, T., Igarashi, T., Nakata, H., Nakayama, S. &

- Ishizuka, M. (2020) Biosorption of Pb (II) and Zn (II) from aqueous solution by *Oceanobacillus profundus* isolated from an abandoned mine. *Scientific reports*, 10. doi: 10.1038/s41598-020-78187-4
- Nacke, H., Gonçalves, A., Schwantes, D., Nava, I., Strey, L. & Coelho, G. (2013) Availability of heavy metals (Cd, Pb, and Cr) in agriculture from commercial fertilizers. *Archives of environmental contamination and toxicology*, 64 (4). doi: 10.1007/s00244-012-9867-z
- Narayanan, M., Davis, L. & Erickson, L. (1995) Fate of volatile chlorinated organic compounds in a laboratory chamber with alfalfa plants. *Environmental science & technology*, 29 (9).
- Nath, S., Deb, B. & Sharma, I. (2018) Isolation of toxic metal-tolerant bacteria from soil and examination of their bioaugmentation potentiality by pot studies in cadmium- and lead-contaminated soil. *International microbiology*, 21. doi: 10.1007/s10123-018-0003-4
- Navas-Acien, A., Guallar, E., Silbergeld, E. & Rothenberg, S. (2007) Lead exposure and cardiovascular disease- a systematic review. *Environmental health perspectives*, 115 (3). doi: 10.1289/ehp.9785
- Nayak, A., Panda, S., Basu, A. & Dhal, N. (2018) Enhancement of toxic Cr (VI), Fe and other heavy metals phytoremediation by the synergistic combination of native *Bacillus cereus* strain and *Vetiveria zizanioides* L. *International journal of phytoremediation*, 20 (7). doi: 10.1080/15226514.2017.1413332
- Nicholas, D. & Nason, A. (1953) Molybdenum and nitrate reductase II. Molybdenum as a constituent of nitrate reductase. *Journal of biological chemistry*, 207 (1).
- Nieboer, E. & Richardson, D. (1980) The replace of the nondescript term heavy metals´ by a biologically and chemically significant classification of metal ions. *Environmental pollution (Series B)* 1.
- Niedernhofer, L., Odijk, H., Budzowska, M., van Drunen, E., Maas, A., Theil, A., de Wit, J., Jaspers, N., Beverloo, H., Hoeikmakers, J. & Kannar, R. (2004) The

structure-specific endonuclease Ercc1-Xpf is required to resolve DNA interstrand cross-link-induced double-strand breaks. *Molecular and cellular biology*, 24 (13). doi: 10.1128/MCB.24.13.5776-5787.2004

Nieminen, T., Rintaluoma, N., Andersson, M., Taimisto, A., Ali-Vehmas, T., Seppälä, A., Priha, O. & Salkinoja-Salonen, M. (2007) Toxinogenic *Bacillus pumilus* and *Bacillus licheniformis* from mastitic milk. *Veterinary microbiology*, 124 (3-4). doi: 10.1016/j.vetmic.2007.05.015

Nikolopoulou, M. & Kalogerakis, N. (2010) Biostimulation strategies for enhanced bioremediation of marine oil spills including chronic pollution. En: Timmis, K. N. (ed.) *Handbook of hydrocarbon and lipid microbiology*. Springer. doi: 10.1007/978-3-540-77587-4_187

Ning, C., Gao, P., Wang, B., Lin, W., Jiang, N. & Cai, K. (2017) Impacts of chemical fertilizer reduction and organic amendments supplementation on soil nutrient, enzymes activity and heavy metal content. *Journal of integrative agriculture*, 16 (8). doi: 10.1016/S2095-3119(16)61476-4

Nriagu, J. (2007) Zinc toxicity in humans. *School of public health, University of Michigan*.

Ogbeibu, A., Omoigberale, M., Ezenwa, I., Eziza, J. & Igwe, J. (2014) Using pollution load index and geoaccumulation index for the assessment of heavy metal pollution and sediment quality of the Benin river, Nigeria. *Natural environment*, 2.

Olaussen, K., Dunant, A., Fouret, P., Brambilla, E., André, F., Haddad, V., Taranchon, E., Filipits, M., Pirker, R., Popper, H., Stahel, R., Sabatier, L., Pignon, J., Tursz, T., Chevalier, T. & Soria, J. (2006) DNA repair by ERCC1 in non-small-cell lung cancer and cisplatin-based adjuvant chemotherapy. *The New England journal of medicine*, 355 (10). doi: 10.1056/NEJMoa060570

Onjefu, S., Kgabi, N. & Taole, S. (2016) Heavy metals seasonal distribution in shore sediment samples along the coastline of Erongo region, western Namibia. *European journal of scientific research*, 139 (1).

- Ontañón, O., Fernandez, M., Agostini, E. & González, P. (2018) Identification of the main mechanisms in the tolerance and bioremediation of Cr (VI) by *Bacillus* sp. SFC 500-1E. *Environmental science and pollution research*, 25. doi: 10.1007/s11356-018-1764-1
- Oschmann, W. (2011) Black Shales. En: Reitner, J. & Thiel, V. (eds.) *Encyclopedia of Geobiology. Encyclopedia of Earth Sciences Series*. Dordrecht, Springer. doi: https://doi-org.proxydgb.buap.mx/10.1007/978-1-4020-9212-1_37
- Paliwal, V., Puranik, S. & Purohit, H. (2012) Integrated perspective for effective bioremediation. *Applied biochemistry and biotechnology*, 166. doi: 10.1007/s12010-011-9479-5
- Pandey, S., Ghosh, P., Ghosh, S., De, T. & Maiti, T. (2013) Role of heavy metal resistant *Ochrobactrum* sp. and *Bacillus* spp. strains in bioremediation of a rice cultivar and their PGPR like activities. *Journal of microbiology*, 51 (1). doi: 10.1007/s12275-013-2330-7
- Paraneeiswaran, A., Shukla, S., Prashanth, K. & Rao, T. (2015) Microbial reduction of [Co (III)-EDTA]-by *Bacillus licheniformis* SPB-2 strain isolated from a solar salt pan. *Journal of hazardous materials*, 283. doi: 10.1016/j.jhazmat.2014.09.058
- Parsons, M. & Percival, J. (2005) Chapter 1: A brief history of mercury and its environmental impact. En: Parsons, M. & Percival, J. (eds.) *Mercury: sources, measures, cycles and effects*, vol. 34. Mineralogical association of Canada.
- Pellerin, C. & Booker, S. (2000) Reflection on hexavalent chrom health hazards of an industrial heavyweight. *Environmental health perspectives*, 108 (9).
- Placek, A., Grobelak, A. & Kacprzak, M. (2016) Improving the phytoremediation of heavy metals contaminated soil by use of sewage sludge. *International journal of phytoremediation*, 18 (6).

- Poma, R & Valderrama, A. (2014). Estudio de los parámetros fisicoquímicos para la fitorremediación de cadmio (II) y mercurio (II) con la especie *Eichhornia Crassipes* (jacinto de agua). *Revista de la sociedad química del Perú*, 80 (3).
- Quansah, R., Armah, F., Essumang, D., Luginaah, I., Clarke, E., Marfoh, K., Cobbina, S., Nketiah-Amponsah, E., Namujju, P., Obiri, S. & Dzodzomenyo, M. (2015). Association of arsenic with adverse pregnancy outcomes/infant mortality: a systematic review and meta-analysis. *Environmental health perspectives*, 123 (5). doi: 10.1289/ehp.1307894
- Rabee, A., Al-Fatlawy, Y. & Nameer, M. (2011). Using pollution load index (PLI) and geoaccumulation index (I-Geo) for the assessment of heavy metals pollution in Tigris river sediment in Baghdad region. *Al-Naharain journal of science*, 14 (4).
- Radetzki, M. (2009) Seven thousand years in the service of humanity- the history of copper, the red metal. *Resources policy*, 34. doi: 10.1016/j.resourpol.2009.03.003
- Rahman, M., Hasegawa, H., Rahman, M., Islam, M., Miah, M. & Tasmin, A. (2007) Effect of arsenic on photosynthesis, growth and yield of five cultivated rice (*Oryza sativa* L.) varieties in Bangladesh. *Chemosphere*, 67 (6).
- Ramana, S., Biswas, A., Ajay, Singh, A., Ahirwar, N. & Subba, A. (2013) Potential of rose for phytostabilization of chromium contaminated soils. *Indian journal of plant physiology*, 18. doi: 10.1007/s40502-013-0055-6
- Ramírez, V., Baez, A., López, P., Bustillos, R., Villalobos, M., Carreño, R., Contreras, J., Muñoz-Rojas, J., Fuentes, L., Martínez, J., & Munive, J. (2019) Chromium hyper-tolerant *Bacillus* sp. MH778713 assists phytoremediation of heavy metals by mesquite trees (*Prosopis laevigata*). *Frontiers in microbiology*, 10. doi: 10.3389/fmicb.2019.01833
- Ramírez, V., Munive, J., Cortes, L., Muñoz-Rojas, J., Portillo, R. & Baez, A. (2020) Long-chain hydrocarbons (C21, C24, and C31) released by *Bacillus* sp.

- MH778713 break dormancy of mesquite seeds subjected to chromium stress. *Frontiers in microbiology*, 11. doi: 10.3389/fmicb.2020.00741
- Ranjan, P, Rao, K., Kumar, A. & Ramanathan, A. (2018) Heavy Metal Distribution and Accumulation from Natural and Anthropogenic Sources in Tropical Mangroves of India and Bangladesh. En: Makowski, C. & Finkl, C. (eds.) *Threat to Mangrove Forests. Coastal Research Library*, 25. Cham, Springer. doi: https://doi-org.proxydgb.buap.mx/10.1007/978-3-319-73016-5_15
- Rascio, N. & Navari-Izzo, F. (2011) Heavy metal hyperaccumulating plants: how and why do they do it? and what makes them so interesting?. *Plant science*, 180.
- Ratte, H. (1998) Bioaccumulation and toxicity of silver compounds: a review. *Environmental toxicology and chemistry*, 18 (1).
- Rehder, D. (2013) Vanadium. Its role for humans. En: Sigel, A., Sigle, H. & Sigel, R. (eds.) Interrelations between essential metal ions and human diseases. *Metal ions in life science*, 13. Springer. doi: 10.1007/978-94-007-7500-8_5
- Rehman, F. & Faisal, M. (2015) Toxic hexavalent chromium reduction by *Bacillus pumilis*, *Cellulosimicrobium cellulans* and *Exiguobacterium*. *Chinese journal of oceanology and limnology*, 33 (3). doi: 10.1007/s00343-015-4155-1
- Rice, K., Walker, E., Wu, M., Gillette, C. & Blough, E. (2014) Environmental mercury and its toxic effects. *Journal preventive medicine & public health*, 47 (2). doi: 10.3961/jpmph.2014.47.2.74
- Rivas- Castillo, A., Orona- Tamayo, D., Gómez- Ramírez, M. & Rojas- Avelizapa, N. G. (2017). Diverse molecular resistance mechanisms of *Bacillus megaterium* during metal removal present in a spent catalyst. *Biotechnology and Bioprocess Engineering*, 22 (3), 296-307. doi: 10.1007/s12257-016-0019-6
- Rodríguez, H. & Fraga, R. (1999) Phosphate solubilizing bacteria and their role in plant growth promotion. *Biotechnology advances*, 17 (4-5). doi: 10.1016/S0734-9750(99)00014-2

- Rodríguez, J. & Mandalunis, P. (2018) A review of metal exposure and its effects on bone health. *Journal of toxicology*, 2018. doi: 10.1155/2018/4854152
- Rodríguez-Elizalde, M. A., Delgado-Alvarado, A., González-Chávez, M. C., Carrillo-González, R., Mejía-Muñoz, J. M. & Vargas-Hernández, M. (2010) Emergencia y crecimiento de plantas ornamentales en sustratos contaminados con residuos de mina. *Interciencia*, 35 (1).
- Ron, E. & Rosenberg, E. (2010) Role of Fertilizers: Biostimulation. En: Timmis, K. N. (ed.) *Handbook of hydrocarbon and lipid microbiology*. Springer. doi:10.1007/978-3-540-77587-4_184
- Royal Society of Chemistry. (s. f.) Periodic table. <https://www.rsc.org/periodic-table/trends>
- Roychowdhury, R., Mukherjee, P. & Roy, M. (2016) Identification of chromium resistant bacteria from dry fly ash sample of Mejia MTPS thermal power plant, West Bengal, India. *Bulletin of environmental contamination and toxicology*, 96. doi: 10.1007/s00128-015-1692-4
- Sabuwa, M., Salihu, M., Baba, M. & Bala, A. (2019) Determination of concentrations of some heavy metals in the blood of Holstein-Friesian cattle on a farm in Nasarawa State, Nigeria. *Sokoto journal of veterinary sciences*, 17 (3). doi: 10.4314/sokjvs.v17i3.3
- Sadrzadeh, M. & Mohammadi, T. (2008) Sea water desalination using electro dialysis. *Desalination*, 221 (1-3). doi: 10.1016/j.desal.2007.01.103
- Saglam, N., Say, R., Denizli, A., Patir, S. & Yakup, M. (1998) Biosorption of inorganic mercury and alkylmercury species on to *Phanerochaete chrysosporium* mycelium. *Process biochemistry*, 34.
- Saglam, N., Yesilada, O., Saglam, S., Apohan, E., Sam, M., Ilk, S., Emul, E. & Gurel, E. (2018) Bioremediation applications with fungi. En: Prasad, R. (ed.) *Mycoremediation and environmental sustainability. Fungal biology*. Springer. doi: 10.1007/978-3-319-77386-5_1

- Sakakibara, M., Aya, W., Sakae, S., Inoue, M. & Kaise, T. (2010) Phytoextraction and phytovolatilization of arsenic from As-contaminated soils by *Pteris vittata*. En: *Proceedings of the annual international conference of soils, sediments, water and energy*, 12 (1).
- Salem, M., Ahamd, S. & Ahmad, M. (2014). Potential of *Bacillus cereus* for bioremediation of pulp and paper industrial waste. *Annals of microbiology*, 64. doi: 10.1007/s13213-013-0721-y
- Salem, M., Bedade, D., Al-Ethawi, L. & Al-Waleed, S. (2020) Assessment of physiochemical properties and concentration of heavy metals in agricultural soils fertilized with chemical fertilizers. *Heliyon*, 6 (10). doi: 10.1016/j.heliyon.2020.e05224
- Salkinoja-Salonen, M., Vuorio, R., Andersson, M., Kämpfer, P., Andersson, M., Honkanen-Buzalski, T. & Scoging, A. (1999) Toxigenic strains of *Bacillus licheniformis* relate to food poisoning. *Applied and environmental microbiology*, 65 (10).
- Sánchez, A., de la Rosa, J., González-Castanedo, Y., Fernández-Camacho, R., Alastuey, A., Querol, X. & Pio, C. (2010) High concentrations of heavy metals in PM from ceramic factories of Southern Spain. *Atmospheric research*, 96 (4). doi: 10.1016/j.atmosres.2010.02.011
- Sandana, J., Sujatha, D. & Rose, C. (2015) Inducible chromate reductase exhibiting extracellular activity in *Bacillus methylotrophicus* for chromium bioremediation. *Microbiological research*, 170. doi: 10.1016/j.micres.2014.06.001
- Sanscartier, D., Zeeb, B., Koch, I. & Reimer, K. (2009) Bioremediation of diesel-contaminated soil by heated and humidified biopile system in cold climate. *Cold regions science and technology*, 55. doi: 10.1016/j.coldregions.2008.07.004
- Santos-Gandelman, J., Cruz, K., Crane, S., Muricy, G., Giambiahi-de Marval, Barkay, T. & Laport, M. (2014) Potential applications in mercury

- bioremediation of a marine sponge-isolated *Bacillus cereus* strain Pj1. *Current microbiology*, 69. doi: 10.1007/s00284-014-0597-5
- SEMARNAT (2003) Norma oficial Mexicana NOM-001-SEMARNAT-1996, que establece los límites máximos permisibles de contaminantes en las descargas de aguas residuales en aguas y bienes nacionales. *DOF*
- SEMARNAT (2007) Norma oficial Mexicana NOM-147-SEMARNAT/SSA1-2004, que establece criterios para determinar las concentraciones de remediación de suelos contaminados por arsénico, bario, berilio, cromo hexavalente, mercurio, níquel, plata, plomo, selenio, talio y/o vanadio. *DOF*
- Shah, A. & Archana, G. (2021) Evaluation of bacterial strains isolated from late quaternary alluvial sediments ~ 28 m in depth for heavy metal tolerance and Cr (VI) removal ability. *International microbiology*, 24. doi: 10.1007/s10123-021-00174-0
- Shallari, S., Schwartz, C., Hasko, A. & Morel, J. (1998) Heavy metals in soil and plants of serpentine and industrial sites of Albania. *The science of the total environment*, 209.
- Shameer, S. (2016) Biosorption of lead, copper and cadmium using the extracellular polysaccharides (EPS) of *Bacillus* sp., from solar salterns. *3 biotech*, 6. doi: 10.1007/s13205-016-0498-3
- Shammas, N. K. (2005) Coagulation and Flocculation. En: Wang, L. K., Hung, Y. & Shammas, N. (eds.) *Physicochemical Treatment Processes*. (Vol. 3, pp. 103-140) Humana Press.
- Sharma, A., Kapoor, D., Wang, J., Shahzad, B., Kumar, V., Bali, A., Jasrotia, S., Zheng, B., Yuan, H. & Yan, D. (2020a) Chromium bioaccumulation and its impacts on plants: an overview. *Plants*, 9 (100). doi:10.3390/plants9010100
- Sharma, P. & Shanker, R. (2005) Lead toxicity in plants. *Brazilian journal of plant physiology*, 17 (1). doi: 10.1590/S1677-04202005000100004

- Sharma, P., Bakshi, P., Kour, J., Singh, A., Dhiman, S., Kumar, P., Ibrahim, Sharma, A., Mir, B. & Bhardwak, R. (2020b) PGPR and Earthworm-assisted phytoremediation of heavy metals. En: Bhat, S., Vig, A., Li, F. & Ravindran, B. (eds.) *Earthworm assisted remediation of effluents and wastes*. Springer. doi: 10.1007/978-981-15-4522-1_14
- Shekhawat, K., Chatterjee, S. & Joshi, B. (2015) Chromium toxicity and its health hazards. *International journal of advanced research*, 3 (7).
- Sheoran, N., Nadakkakath, A., Munjal, V., Kundu, A., Subaharan, K., Venugopal, V., Rajamma, S., Eapen, S. & Kumar, A. (2015) Genetic analysis of plant endophytic *Pseudomonas putida* BP25 and chemoprofiling of its antimicrobial volatile organic compounds. *Microbiological research*, 173. doi: 10.1016/j.micres.2015.02.001
- Sher, S., Ghani, A., Sultan, S. & Rehman, A. (2021) Bacterial strains isolated from heavy metals contaminated soil and wastewater with potential to oxidize arsenite. *Environmental processes*, 8. doi: 10.1007/s40710-020-00488-7
- Siedlecka, A. & Baszyński, T. (1993) Inhibition of electron flow around photosystem I in chloroplasts of Cd-treated maize plants is due to Cd-induced iron deficiency. *Physiologia plantarum*, 87 (2). doi: 10.1111/j.1399-3054.1993.tb00142.x
- Simonson, R. (1959) Outline of a generalized theory of soil genesis. *Soil science society of America journal*, 23 (2).
- Singh, A., Pal, D., Kumar, S., Srivastva, N., Syed, A., Elgorban, A., Singh, R. & Gupta, V. (2021) Studies on zero-cost algae based phytoremediation of dye and heavy metal from simulated wastewater. *Bioresource technology*, 342. doi: 10.1016/j.biortech.2021.125971
- Singh, N., Marwa, N., Mishra, S., Mishra, J., Verma, P., Rathaur, S. & Singh, N. (2016) *Brevundimonas diminuta* mediated alleviation of arsenic toxicity and plant growth promotion in *Oryza sativa* L. *Ecotoxicology and environmental safety*, 125. doi: 10.1016/j.ecoenv.2015.11.020

- Slivinska L. G., Shcherbatyy, A. R., Lukashchuk, B. O. & Gutyj, B. V. (2020) The state of antioxidant protection system in cows under the influence of heavy metals. *Regulatory Mechanisms in Biosystems*, 11 (2), (pp: 237-242). doi: 10.15421/022035
- Sokal, R. (1963) The principles and practice of numerical taxonomy. *Taxon*, 12 (5).
- Spencer, R. (2003) *Bacillus anthracis*. *Journal of clinical pathology*, 56 (3). doi: 10.1136/jcp.56.3.182
- States, C., Srivastava, S., Chen, Y. & Barchowsky, A. (2008) Arsenic and cardiovascular disease. *Toxicological sciences*, 107 (2). doi: 10.1093/toxsci/kfn236
- Su, C., Jiang, L. & Zhang, W. (2014) A review on heavy metal contamination in the soil worldwide: situation, impact and remediation techniques. *Environmental skeptics and critics*, 3 (2).
- Sundar, S. & Chakravarty, J. (2010). Antimony toxicity. *International journal of environmental research and public health*, 7. doi: 10.3390/ijerph7124267
- Surhio, M., Talpur, F., Nizamani, S., Talpur, M., Amin, F., Khaskheli, A., Bhurgri, S., Afridi, H. & Rahman, S. (2017) Effective bioremediation of endocrine-disrupting phthalate esters, mediated by *Bacillus* strains. *Water, air, & soil pollution*, 228. doi: 10.1007/s11270-017-3567-2
- Sykes, J., Wright, J. & Trench, A. (2016) Discovery, supply and demand: from metals of antiquity to critical metals. *Applied earth science*, 125. doi: 10.1080/03717453.2015.1122274
- Takano, H. (2016) The regulatory mechanism underlying light-inducible production of carotenoids in nonphototrophic bacteria. *Bioscience, biotechnology and biochemistry*, 80 (7). doi: 10.1080/09168451.2016.1156478
- Tanaka, K., Takanaka, S. & Yoshida, K. (2014) A second-generation *Bacillus* cell factory for rare inositol production. *Bioengineered*, 5 (5). doi: 10.4161/bioe.29897

- Tangahu, B., Sheikh, S., Basri, H., Idris, M., Anuar, N. & Mukhlisin, M. (2011) A review on heavy metals (As, Pb and Hg) uptake by plants through phytoremediation. *International journal of chemical engineering*, 2011. doi: 10.1155/2011/939161
- Taufik, R., Budiawan & Ibrahim, E. (2017) Effects of chromium on human body. *Annual research & review in biology*, 13 (2), doi: 10.9734/ARRB/2017/33462
- Tchounwou, P., Yedjou, C., Patlolla, A. & Sutton, D. (2012) Heavy metals toxicity and the environment. *Experientia supplementum*, 101. doi: 10.1007/978-3-7643-8340-4_6
- Tekere, M. (2019) Microbial bioremediation and different bioreactors design applied. En: Jacob-Lopes, E. *Biotechnology and bioengineering. Intech open*. doi: 10.5772/intechopen.83661
- Tewari, A. & Abdullah, S. (2014) *Bacillus cereus* food poisoning: international and Indian perspective. *Journal of food science and technology*, 52 (5). doi: 10.1007/s13197-014-1344-4
- Torres, D., Cumana, A., Torrealba, O. & Posada, D. (2010). uso del vetiver para la fitorremediación de cromo en lodos residuales de una tenería. *Revista mexicana de ciencias agrícolas*, 1 (2).
- Tripathi, M. & Garg, S. (2014) Dechlorination of chloroorganics, decolorization, and simultaneous bioremediation of Cr⁶⁺ from real tannery effluent employing indigenous *Bacillus cereus* isolate. *Environmental science and pollution research*, 21. doi: 10.1007/s11356-013-2479-y
- Troiani, H., Prina, A., Muiño, W., Tamame, M. & Beinticinco, L. (2017) *Botánica, morfología, taxonomía y fitogeografía*. Universidad de la Pampa.
- US EPA (2002). Supplement guidance for developing soil screening levels for superfund sites.
- US EPA (2018). 2018 Edition of the drinking water standards and health advisories tables.

- Venkataraman, B. & Sudha, S. (2005) Vanadium toxicity. *Asian journal of experimental sciences*, 19 (2).
- Vera, M., Schippers, A. & Sand, W. (2013) Progress in bioleaching: fundamentals and mechanisms of bacterial metal sulfide oxidation- Part A. *Applied microbiology and biotechnology*, 97. doi: 10.1007/s00253-013-4954-2
- Vigneswaran, S., Ngo, H. H., Chaudhary, D. S. & Hung, Y. (2005) Physicochemical treatment processes for water reuse. En: Wang, L. K., Hung, Y. & Shammass, N. (eds.) *Physicochemical treatment processes*. (Vol. 3, pp. 635- 676) Humana Press.
- Villalobos, J., Del-Pozo, A., Campillo, B., Mayen, J. & Serna, S. (2018) Microalloyed steels through history until 2018: review of chemical composition, processing and hydrogen service. *Metals*, 8. doi: 10.3390/met8050351
- Villareal-Delgado, M., Villa-Rodríguez, E., Cira-Chávez, L., Estrada-Alvarado, M., Parra-Cota. F. & Santos-Villalobos, S. (2018) The genus *Bacillus* as biological control agent and its implications in the agricultural biosecurity. *Revista Mexicana de fitopatología*, 36 (1). doi: 10.18781/r.mex.fit.1706-5
- Viswanath, B., Rajesh, B., Janardhan, A., Kumar, A. & Narasimha, G. (2014) Fungal laccases and their applications in bioremediation. *Enzyme research*, 2014. doi: 10.1155/2014/163242
- Wadhera, A. & Fung, M. (2005) Systemic argyria associated with ingestion of colloidal silver. *Dermatology online journal*, 11 (1). doi: 10.5070/D30832g6d3
- Wang, B., Zhou, K., Liu, H. & Tang, W. Z. (2016) Biosorption behavior and reuse potential of waste biomass of *aspergillus fumigatus*, previously used in humic acid biosorption, in removal of reactive blue 49. *Environmental processes*, 3. doi: <https://doi-org.proxydgb.buap.mx/10.1007/s40710-016-0188-5>
- Wang, L. K., Vaccari, D. A., Li, Y. & Shammass, N. K. (2005) Chemical precipitation. En: Wang, L. K., Hung, Y. & Shammass, N. (eds.) *Physicochemical treatment processes*. (Vol. 3, pp. 141- 198) Humana Press.

- Wang, X., Liu, W., Li, Z., Teng, Y., Christie, P. & Luo, Y. (2020) Effects of long-term fertilizer applications on peanut yield and quality and plant and soil heavy metal accumulation. *Pedosphere*, 30 (4). doi: 10.1016/S1002-0160(17)60457-0
- Wani, P., Garba, S., Wahid, S., Hussaini, N. & Mashood, K. (2019) Prevention of oxidative damage and phytoremediation of Cr (VI) by Chromium (VI) reducing *Bacillus subtilis* PAW3 in cowpea plants. *Bulletin of environmental contamination and toxicology*, 103. doi: 10.1007/s00128-019-02683-1
- Wedepohl, K. H. (1995) The composition of the continental crust*. *Geochimica et cosmochimica acta*, 59 (7), pp: 1217-1232.
- Wei, Z., Gu, H., Van, Q., Peng, W., Lam, S., Yang, Y., Li, C. & Sonne, C. (2021) Perspectives on phytoremediation of zinc pollution in air, water and soil. *Sustainable chemistry and pharmacy*, 24. doi: 10.1016/j.scp.2021.100550
- Winker, S. & Woese, C. (1991) A definition of the domains Archea, Bacteria and Eucarya in terms of small subunit ribosomal RNA characteristics. *Systematic and applied microbiology*, 14 (4). doi: 10.1016/S0723-2020(11)80303-6
- Wu, W., Wu, P., Yang, F., Sun, D., Zhang, D. & Zhou, Y. (2018) Assessment of heavy metal pollution and human health risks in urban soils around an electronics manufacturing facility. *Science of the total environment*, 630. doi: 10.1016/j.scitotenv.2018.02.183
- Xu, Z., Yi, D., Huimin, H., Liang, W., Yunlin, Z. & Guiyan, Y. (2019) Biosorption characteristics of Mn (II) by *Bacillus cereus* strain HM-5 isolated from soil contaminated by manganese ore. *Polish journal of environmental studies*, 28 (1). doi: 10.15244/pjoes/84838
- Yin, S., Wang, L., Kabwe, E., Chen, X., Yan, R., An, K., Zhang, L. & Wu, A. (2018) Cooper bioleaching in China: review and prospect. *Minerals*, 8 (2). doi: <https://doi.org/10.3390/min8020032>

- Zapana-Huarache, S., Romero-Sánchez, C., Dueñas, A., Torres-Huaco, F. & Lazarte, A. (2020) Design and testing of a cost-efficient bioremediation system for tannery effluents using native chromium-resistant filamentous fungi. *International journal of environmental science and technology*, 17. doi: 10.1007/s13762-020-02726-9
- Zefferino, R., Piccoli, C., Ricciardi, N., Scrima, R. & Capitano, N. (2017) Possible mechanisms of mercury toxicity and cancer promotion: involvement of gap junction intercellular communications and inflammatory cytokines. *Oxidative medicine and cellular longevity*, 2017.
- Zeiner, M., Rezić, I. & Steffan, I. (2007) Analytical methods for the determination of heavy metals in the textile industry. *Kemija u industriji: Časopis kemičara i kemijskih inženjera Hrvatske*, 56 (11).
- Zhao, C., Xie, H., Mu, Y., Xu, X., Zhang, J., Liu, C., Liang, S., Ngo, H. H., Guo, W., Xu, J. & Wang, Q. (2014) Bioremediation of endosulfan in laboratory-scale constructed wetlands: effect of bioaugmentation and biostimulation. *Environmental science and pollution research*, 21. doi: 10.1007/s11356-014-3107-1
- Zhao, S., Hu, N., Chen, Z., Zhao, B. & Liang, Y. (2009) Bioremediation of reclaimed wastewater used as landscape water by using the denitrifying bacterium *Bacillus cereus*. *Bulletin of environmental contamination and toxicology*, 83. doi: 10.1007/s00128-009-9684-x
- Zhiyuan, W., Dengfeng, W., Huiping, Z. & Zhiping, Q. (2011) Assessment of soils heavy metal pollution with principal component analysis and geoaccumulation index. *Procedia environmental sciences*, 10.
- Zhou, D., Liu, D., Gao, F., Li, M. & Luo, X. (2017) Effects of biochar-derived sewage sludge on heavy metal adsorption and immobilization in soils. *International journal of environmental research and public health*, 14 (7). doi:10.3390/ijerph14070681

Zhuang, P., McBride, M., Xia, H., Li, N. & Li, Z. (2009) Health risk from heavy metals via consumption of food crops in the vicinity of Dabaoshan mine, South China. *Science of the total environmental*, 407. doi: 10.1016/j.scitotenv.2008.10.061