








Los metales pesados en la historia de la humanidad, los efectos de la contaminación por metales pesados y los procesos biotecnológicos para su eliminación: el caso de *Bacillus* como bioherramienta para la recuperación de suelos

Carmelo Hernández-Caricio¹ , Verónica Ramírez² , Javier Martínez³ , Verónica Quintero-Hernández³ , Antonino Baez³ , José-Antonio Munive³ , Nora Rosas-Murrieta³ *

¹Licenciatura en Biología, Facultad de Ciencias Biológicas, Benemérita Universidad Autónoma de Puebla (BUAP), Puebla, México. ²Facultad de Ciencias Químicas, BUAP, Puebla, México. ³Instituto de Ciencias, BUAP, Blvd. Valsequillo y Av. San Claudio, Edificio IC-11, Ciudad Universitaria, C. P. 72570, Colonia San Manuel, Puebla, México.

*Email autor de correspondencia: nora.rosas@correo.buap.mx

Recibido: 19 febrero 2022. **Aceptado:** 30 agosto 2022

RESUMEN

El término “metales pesados” se refiere al grupo de metales con número atómico superior a 20 y caracterizados por una densidad atómica mayor a $5 \text{ g}\cdot\text{cm}^{-3}$. Los metales pesados son elementos naturales de la corteza terrestre, y su distribución es dada por fuentes geogénicas. Los metales pesados son de suma importancia para el mundo moderno, y requeridos en grandes cantidades por la sociedad actual; sin embargo, se caracterizan por sus efectos tóxicos, y son peligrosos porque tienden a bioacumularse, lo que significa un aumento en la concentración de éstos en los organismos. La contaminación del ambiente por metales pesados involucra actividades antropogénicas como la agricultura, minería, fundiciones, plantas de energía y diversas industrias (petroquímica, textil o de componentes electrónicos). Esta problemática se ha intentado resolver por medio de tecnologías que no han logrado el objetivo deseado. La aplicación de herramientas biotecnológicas abre una gran posibilidad de encontrar soluciones plausibles a problemas de contaminación. El género *Bacillus* es un grupo bacteriano de relevancia en diferentes áreas como la medicina, la agricultura y la industria; y en el área biotecnológica se ha utilizado para la biorremediación. Diferentes estudios han mostrado el gran potencial de este grupo microbiano para resolver, de una manera amigable para el ambiente y efectiva, los problemas de contaminación del ambiente por metales pesados. En la presente revisión se aborda la temática de los metales pesados en la historia de la humanidad, los efectos de la contaminación por metales pesados y los procesos biotecnológicos para su eliminación; considerando el caso de *Bacillus* como bioherramienta para la recuperación de suelos contaminados con metales pesados.

Palabras clave: Biorremediación; Contaminación Ambiental; Metales Pesados; Suelo; Toxicidad; *Bacillus*.

ABSTRACT

Heavy metals are defined as metals having an atomic number greater than 20 and characterized by an atomic density above $5 \text{ g}\cdot\text{cm}^{-3}$. Heavy metals are naturally found in the Earth's crust, but they are present in many aspects of modern life. Heavy metals are toxic to all different life forms if their concentration is high in organisms. Heavy metals exhibit toxic effects because they tend to accumulate in tissues. Most environmental contamination to heavy metals results from anthropogenic activities such as mining and smelting operations, industrial production and use, and domestic and agricultural use of metals and metal-containing compounds. Many technologies have been implemented to solve heavy metal contamination problems, but they have not been successful so far. Biotechnological technologies are natural processes that can be used to solve these environmental problems. *Bacillus* is a very relevant group due to its impact on medicine, agriculture, and industry; and for its potential biotechnological applications, including its use in bioremediation processes. Different studies have shown the potential of this bacterial group to solve actual environmental problems caused by heavy metals, in an effective and safety way. This review is aimed at providing information about heavy metals in human history, heavy metal contamination effects, and biotechnological processes for their elimination, providing information about the use of *Bacillus* as a biotool for the recovery of heavy metal contaminated soils.

Keywords: Biorremediation; Environmental Contamination; Heavy Metals; Soil; Toxicity; *Bacillus*.

INTRODUCCIÓN

Los metales pesados se encuentran de manera natural en la materia parental del suelo [1], y son categorizados como contaminantes ambientales por los efectos tóxicos en la flora y fauna [2]. La contaminación del ambiente por metales pesados se ha incrementado a nivel mundial debido al uso desmedido de éstos para la fabricación de diversos utensilios y a los procesos de extracción del suelo, causando alteraciones geoquímicas y bioquímicas [3]. 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, y

cuya detección requiere de técnicas sofisticadas de detección de estos metales [4].

La contaminación del suelo con metales pesados influye en su fertilidad, reduce la producción de cultivos y provoca daño metabólico en plantas [5]. Este tipo de contaminación también afecta las redes tróficas debido a la translocación de metales pesados a las plantas [6] las cuales, posteriormente son ingeridas por animales, lo que convierte a los sectores agrícola [7,8] y ganadero [9] en potenciales fuentes 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 aún con años de cese de actividades, pueden generar enfermedades debido a la ingesta de pequeñas partículas de suelo contaminado [10].

Las altas concentraciones de metales pesados alteran la salud; el arsénico se relaciona con riesgo de cáncer en vejiga, riñón, hígado, pulmones, piel y próstata, además de enfermedades cardiovasculares [11, 12, 13, 14]; el cadmio provoca daños renales, hepáticos y en huesos, aumento del riesgo de cáncer de pulmón y riñón [15, 16, 17]; o el plomo, con efectos en sistema nerviosos, óseo y hematológico [18, 19].

La biorremediación es un proceso eficaz y confiable de índole ecológica [20], consiste en el uso de técnicas biológicas para el tratamiento de compuestos y medios de desechos, y para la desintoxicación de ambientes contaminados [21], por medio de la degradación de contaminantes a formas menos tóxicas [22]. La utilización de microorganismos en procesos biotecnológicos, y en particular de biorremediación, ha demostrado ser de gran importancia en agricultura, industria y medicina; entre los microorganismos empleados en este tipo de tecnologías, el género *Bacillus* ha tenido un papel predominante [23], como bacteria promotora del crecimiento [24], en biocontrol [25], en la producción de probióticos [26], y en la producción de vitaminas [27]. Además, este género presenta la capacidad para degradar petroquímicos [28], desechos de la industria papelera [29] y eliminar metales pesados del ambiente [30] al tiempo que

produce una variedad de metabolitos secundarios.

LOS METALES PESADOS

El término “metales pesados” es comúnmente utilizado para referirse al grupo de metales y metaloides con una masa atómica relativamente alta, mayor a $5 \text{ g}\cdot\text{cm}^{-3}$ [2, 31, 32]; algunos 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; no obstante, varios de estos metales son esenciales para plantas y animales. En este grupo encontramos elementos como el arsénico (As), cadmio (Cd), cromo (Cr), cobalto (Co), cobre (Cu), mercurio (Hg), plomo (Pb), manganeso (Mn), níquel (Ni), selenio (Se), y zinc (Zn). Otros elementos menos abordados, pero igualmente importantes en el ambiente son el antimonio (Sb), oro (Au), molibdeno (Mo), plata (Ag), talio (Tl), estaño (Sn), tungsteno (W), uranio (U) y vanadio (V) (Tabla 1). Se resalta que elementos como As, Sb y Se, los cuales, aunque en apariencia o en propiedades son similares a los metales, químicamente no lo son y son llamados metaloides. Aquellos elementos que son requeridos por los organismos en concentraciones muy bajas (menor que 100 mg/kg) son llamados oligoelementos o elementos traza, en cuya clasificación podemos encontrar a varios de los metales pesados mencionados [32, 33].

Tabla 1. Características de los metales pesados y concentraciones encontradas en suelo, a nivel agrícola y niveles tóxicos en plantas.

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	F	26	7.87	*	500	*

^a [34], ^b [35], ^c En 1964 se propuso la inclusión de metales pesados con densidad mayor a 4 [36]. *No deben estar presentes.

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 frecuentemente relacionados con fenómenos como meteorización o erupciones volcánicas [37]. La contaminación por metales puede ocurrir en áreas extensas o localizadas [1]. Para que se produzca la contaminación del suelo por metales pesados, éstos deben ser transportados por diferentes mecanismos desde su fuente de origen hasta el suelo, algunos son

transportados a través de corrientes de aire capaces de movilizar partículas de polvo (partículas del tamaño de aerosoles menores a 30 µm), otros se transportan en forma gaseosa, como el mercurio. Las corrientes de agua arrastran metales pesados en pendientes, suelos aluviales [1], y en ambientes costeros como manglares y océanos [38]. Los metales pesados también pueden movilizarse 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 [1]. Los cambios en las condiciones físicas y químicas del suelo pueden modificar la disponibilidad de los metales pesados presentes en éstos debido al cambio en su especiación química y su distribución, haciéndolos disponibles hasta alcanzar niveles tóxicos [39]. La disponibilidad de los metales es influenciada por procesos químicos y bioquímicos, entre los que encontramos los niveles de pH, precipitación-disolución, adsorción-desorción, complejación-disociación, y oxidación-reducción [33].

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:

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

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 [1].

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 el metal [2, 40]. 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:

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

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. El índice de geoacumulación permite la clasificación de los suelos en siete grados de contaminación (Tabla 2) [41].

EL SUELO

El suelo es una mezcla de fragmentos de rocas, parcial o completamente meteorizadas, minerales, materia orgánica, agua y aire, en diversas proporciones; tiene distintas capas y horizontes desarrollados por la influencia del clima y de los organismos vivos [42]. El suelo es comúnmente una mezcla porosa y suelta de materiales, partículas orgánicas e inorgánicas,

Tabla 2. 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 [47].
$0 < I_{geo} < 1$	No contaminado o moderadamente contaminado	Sedimentos del río Tigris en la región de Bagdad levemente contaminados con Pb, I_{geo} 0.28 a 0.67, y Cd, I_{geo} 0.63 a 0.74 [48].
$1 < I_{geo} < 2$	Moderadamente contaminado	Sedimentos en costas de Namibia, moderadamente contaminados con Cd, I_{geo} 1.15 [49].
$2 < I_{geo} < 3$	Moderadamente a altamente contaminado	Sedimentos de zona industrial y residencial-agrícola de Grecia, contaminados con Pb, I_{geo} 2 a 3 [41].
$3 < I_{geo} < 4$	Altamente contaminado	Sedimentos de zonas cercanas a mina de Cu en China, altamente contaminados a extremadamente contaminado con Cd, I_{geo} 3.55 a 4.43, y Cu, I_{geo} 3.89 a 4.73 [50].
$4 < I_{geo} < 5$	Altamente a extremadamente contaminado	
$5 \leq I_{geo}$	Extremadamente contaminado	Suelos cercanos a refinerías en Arabia Saudita extremadamente contaminados con Cd, I_{geo} 35.2 [51].

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 constituida por aluminosilicatos, hidróxidos de hierro y carbonatos; (II) materia orgánica, viva o muerta, compuesta de biomasa y microorganismos; (III) una solución acuosa de complejos orgánicos e inorgánicos, con iones y moléculas, diluidos en agua, con una actividad termodinámica cercana a 1; y (IV) una fase gaseosa, que contiene los elementos

comúnmente encontrados en la atmósfera terrestre, aunque sus proporciones pueden modificarse por reacciones químicas, resultantes de las interacciones entre minerales y agua, respiración o descomposición orgánica [43]. El perfil del suelo se refiere a los horizontes que se encuentran entre la superficie y la materia parental [42], y está constituido por los llamados horizontes A, B y C (Tabla 3); A y B componen el solum, y C es la materia parental modificada por meteorización y disgregación [43].

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,

Tabla 3. 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		

Modificado de Gupta *et al.* [43]

expuesto a diversas condiciones [42]. La formación del suelo consiste en dos pasos, la acumulación de materia parental y la diferenciación de los horizontes en el perfil. La materia parental es el estado inicial del suelo [44] y se refiere a las rocas y minerales sobre las que se genera, influyendo en la formación de éste con sus propiedades físicas y químicas [45]. Esta primera etapa, experimenta cambios a través de la llamada meteorización, de la que existen dos tipos, la meteorización física que se refiere a la fragmentación de la materia parental, sin cambios químicos, por procesos como la fractura de rocas por expansión y contracción por cambios en la 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, liberando iones y minerales insolubles como silicatos de aluminio, hierro y magnesio. La topografía tiene fuerte influencia en las propiedades del

suelo debido a los gradientes de pendiente; esto influye en la incidencia de los rayos solares, la temperatura, la proporción de evapotranspiración y la humedad del suelo. En los procesos de erosión, los materiales pequeños tienden a ir cuesta abajo, depositándose en la parte baja de la pendiente formando suelos profundos con un mayor contenido de materia orgánica y mayor estabilidad física. En la segunda etapa de formación del suelo, la llamada 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 promueven la diferenciación del suelo [46]. Los factores formadores del suelo (Tabla 4) pueden definirse como “los agentes naturales interrelacionados responsables de la formación del suelo” [45], éstos son independientes y cada uno modifica la efectividad del otro [42].

Tabla 4. 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

Modificado de García *et al.* [45] y de Simonson [46].

La entrada de materia al suelo puede darse a partir de la precipitación pluvial, inundaciones, cambios en la marea, o por el viento, que transportan iones y partículas de materia que se depositan en el suelo. Los seres vivos agregan materia orgánica y nitrógeno al suelo como materia muerta, que será transformada en materia orgánica mediante su descomposición. La transferencia de materiales a través de los horizontes genera cambios en el perfil del suelo que ocurren principalmente por lixiviación, en la que iones solubles son agregados por precipitación o mineralización en las capas superiores del suelo y son transportados hacia horizontes inferiores, donde se transforman en productos insolubles formando nuevos minerales entre horizontes bajo las condiciones diferentes de pH y contenido iónico. Los materiales se transforman por las interacciones de procesos físicos, químicos, como la

meteorización y erosión, y de tipo biológicos que involucran la producción de materia orgánica o la descomposición de ésta. Las plantas y animales son fuentes de carbono orgánico para el suelo. Diferentes tipos de plantas redistribuyen carbono y nutrientes en el suelo a diferentes profundidades, remueven elementos esenciales (fósforo, calcio, potasio o silicio) de horizontes inferiores, a través de sus raíces y los almacenan en sus tejidos; los cuales son regresados a la superficie del suelo a través de desechos o materia muerta. Algunos 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 al mismo tiempo, se movilizan 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 estimulación de la descomposición de materia orgánica. Por ser un sistema dinámico, en diferentes periodos de tiempo, el suelo presentará características diferentes, con cambios constantes en el material parental debido a procesos como la meteorización, o la acumulación de materia en valles por erosión de laderas. De igual manera, los procesos biológicos son diferentes; los suelos “jóvenes” cuentan con altas concentraciones de fósforo y bajas de nitrógeno; en suelos “viejos”, el fósforo se fija en minerales no biodisponibles o se reduce por transporte de materia; en cambio, la concentración de nitrógeno aumenta por la colonización de plantas y bacterias fijadoras de nitrógeno en suelos ricos de fósforo [46].

FUENTES DE METALES PESADOS EN EL SUELO

Los diez elementos principales que componen el suelo son oxígeno (O), silicio (Si), aluminio (Al), hierro (Fe), calcio (Ca), sodio (Na), potasio (K), magnesio (Mg), fósforo (P) y titanio (Ti), los cuales 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 los 1000 mg·kg⁻¹, excepto cuando se encuentran en menas minerales [1, 52], y que, por encontrarse en bajas concentraciones, son considerados elementos traza [33]. Existen diferentes fuentes de metales pesados en los

suelos como 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 [53] (Tabla 5).

La corteza terrestre está compuesta en un 95% por rocas ígneas y un 5% de rocas sedimentarias; cerca del 80% de las últimas son lutitas, 15% areniscas y 5% limo [33]. En dependencia del tipo de roca existen diferentes metales pesados en los suelos; las rocas ígneas basálticas contienen altas concentraciones Cu, Zn, Cr, Co y Ni. En rocas ígneas como augita y hornblenda se encuentran Cu, Zn, Co y Mn [33]. Las rocas ultramáficas son rocas ígneas con alto contenido de minerales máficos como olivino y piroxenos y un contenido de sílice menor al 45% [54]. 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 [1].

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, tejidos blandos mineralizados, así como partes duras de los organismos [55]. Las lutitas también se encuentran enriquecidas con diversos elementos como Ag, As, Au, Ba, Cd, Cr, Cu, Hg, Mo, Ni, Pb, Sb, Se, Th, Tl, U, V, W, Zn, tierras raras y elementos del grupo de platino (Pt, Ru, Rh, Pd, Os e Ir). Las lutitas negras se forman en agua de mar poco

Tabla 5. Contenido de metales y metaloides en rocas ígneas y sedimentarias, expresado en $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ [33].

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

profunda, en un entorno reductor, lo cual favorece la acumulación de metales pesados [1].

Las piedras calizas son rocas sedimentarias constituidas principalmente por carbonato de calcio, carbonato de calcio y magnesio, o la combinación de estos compuestos [54] y suelen formarse en cuencas marinas en las que se acumulan organismos marinos microscópicos; siendo estos, fuente de granos de calcita (CaCO_3). Las piedras calizas pueden contener concentraciones elevadas de metales pesados, en ocasiones los granos de calcita se mezclan con precipitados químicos que son 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 a partir 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 pueden lixiviar en aguas subterráneas [1].

Las fosforitas son rocas sedimentarias que contienen más del 19.5% de P_2O_5 [54] que 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 [56]. 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, reaccionan para formar los depósitos de fosforitas. Estas rocas se han utilizado como materia prima para la fabricación de fertilizantes fosfatados. Generalmente, las fosforitas se encuentran

enriquecidas por diversos metales pesados, incluso en mayor medida que las lutitas negras [1].

En sedimentos ricos en óxido de hierro, podemos encontrar “piedras de hierro”, las cuales están constituidas por un alto porcentaje de Fe [54]. En éstas es posible encontrar concentraciones relativamente altas de As, Ba, Cu, Mn, Mo, Ni, Pb, V y Zn [1].

EL PAPEL DE LOS METALES PESADOS EN LA HISTORIA DE LA HUMANIDAD

Los seres humanos, a lo largo de su historia, han hecho uso de los recursos naturales para su supervivencia. Las primeras evidencias de la obtención de minerales por el hombre se han encontrado en África, hace aproximadamente 300,000 años, en forma de sílex también llamado pedernal que fue usado como herramienta, esta roca puede obtenerse a nivel superficial o encontrarse hasta 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 cobre, oro, plata por las grandes civilizaciones de la edad de Bronce en el mediterráneo y China [57]. El cobre ha sido utilizado desde hace aproximadamente 7000 años en China central, hecho demostrado mediante la prueba de C^{14} , en metales derivados de sedimentos del lago Liangzhi, en la provincia de Hubei en China [58]. Se considera que fue el primer metal utilizado, aunque sus concentraciones en la corteza terrestre son bajas

(0.006%) en comparación con hierro (6%) o aluminio (8%) pero debido a su maleabilidad, el cobre era utilizado en la forma nativa para transformarse en ornamento o herramienta primitiva como cuchillos o hachas. Se estima que la invención de la fundición fue resultado del contacto de un contenedor de cobre con fuego que promovió su transformación en metal líquido, separándose de las impurezas. De manera similar surgirían las aleaciones, al fundir menas minerales que contenían cobre y estaño, dando lugar a un metal más duro conocido como bronce. Desde aproximadamente 5000 a. C. se crearon armas, herramientas, pesos, medidas, tuberías, y utensilios del hogar como vasijas, espejos pulidos, navajas y decoraciones artísticas hechas de cobre y bronce [59]

La plata ha sido conocida desde el año 4000 a. C. por los caldeos; es el tercer metal en ser utilizado ancestralmente, después del oro y cobre [60]. Otro metal utilizado entre los años 4000-3000 a. C. fue el mercurio, utilizado en la forma mineral conocida como cinabrio (HgS) en los territorios que actualmente ocupan Italia y España. El mercurio fue empleado en la preservación de huesos humanos, con fines religiosos o rituales mágicos y debido a su color característico, en años posteriores fue utilizado para elaborar pigmentos [61].

Desde hace 4000 años se desarrollaron técnicas de fundición a mayores temperaturas, lo cual permitió la extracción de hierro a partir de menas minerales, lo que llevaría a la “Edad del hierro”, y al surgimiento de grandes imperios como el Romano. La creación de redes de

minería permitió extraer hierro en el norte de Italia, Francia y Alemania; oro, plata, cobre y estaño en España; y plomo de las minas británicas [57]. Debido a propiedades como un peso menor y mayor dureza, se favoreció el uso de hierro para la fabricación de herramientas y armas y, al mismo tiempo, el desarrollo de mejores técnicas de fundición redujo el costo para la obtención de piezas de hierro [59].

En la antigua ciudad de Menfis en Egipto (3050-2690 a. C.), se fundía oro mediante la formación de capas de carbón y oro intercaladas, las cuales se sometían al fuego durante 3-4 días (Figura 1A). Cuando el oro derretido caía en el centro del horno, el fuego era apagado y se recogía el trozo de metal, de aproximadamente 1 kg de peso.

Aproximadamente entre el año 2690-2420 a. C., los egipcios comenzaron a utilizar cerbatanas para aumentar la temperatura, y facilitar la fundición del oro (Figura 1B). Posteriormente, se desarrollaron hornos de mayor tamaño, y fuelles con piel de cabra que eran manipulados con los pies. Los fuelles estaban atados con cables; cuando se hacía presión sobre uno de ellos con un pie, el otro era jalado con el cable para que llenarse de aire, luego se presionaba y se hacía lo mismo con el otro fuelle (Figura 1C); de esta manera se logró aumentar la cantidad de oro fundido [62]. Hace aproximadamente 2500 años, en el territorio que actualmente es ocupado por Turquía e Iraq, se utilizaron monedas de oro, plata y cobre a partir de la mejora en las técnicas de extracción de metales y la refinación [59].

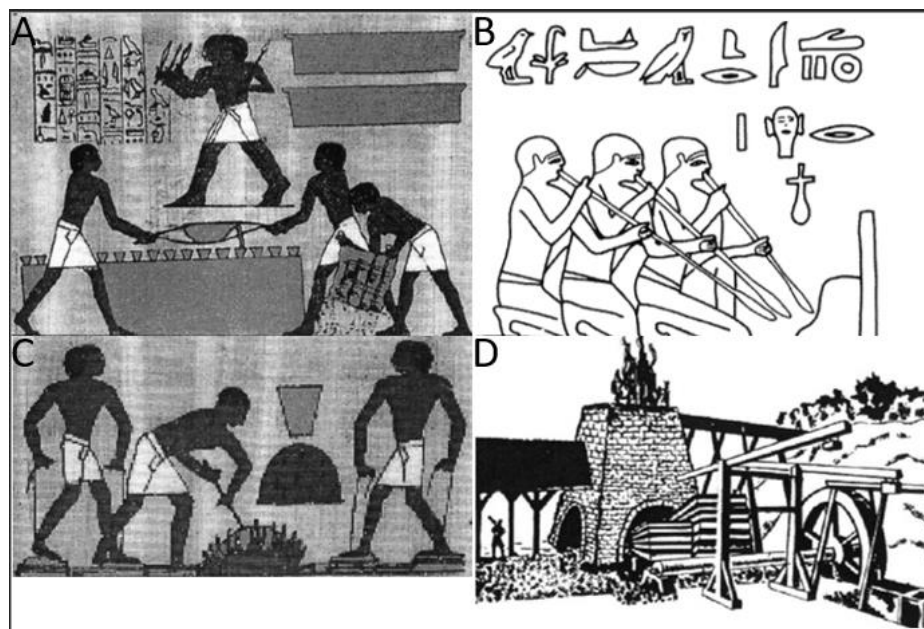


Figura 1. Evolución de las técnicas de fundición. (A) Mural de la ciudad de Menfis en el cual se ilustran las primeras técnicas de fundición de oro por egipcios mediante el uso de capas de carbón y oro. (B) Mural egipcio ilustrando el uso de cerbatanas que permitía una mayor temperatura. (C) Mural egipcio que muestra el mecanismo de fuelles desarrollado para aumentar la temperatura del horno mediante corrientes de aire. (D) Ilustración de los hornos de fundición del siglo XVIII utilizando ruedas de agua para el funcionamiento de fuelles [62].

En Mesoamérica, 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 introdujeron las primeras técnicas de extracción y producción de metal. Para el año 1200, se habrían desarrollado técnicas de metalurgia de bronce (aleaciones de cobre-estaño y cobre-arsénico) y aleaciones de plata-cobre. Entre los productos realizados se encuentran campanas, anillos, colgantes, corazas de chapas, escudos ornamentales y coronas [65].

El mercurio obtenido a partir de cinabrio 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” (antiguo tratado indio acerca del arte de gobernar). Se cree que el mercurio fue importante para la antigua medicina de India. Se han encontrado pigmentos de cinabrio en estatuas griegas del siglo VI a. C. El mercurio aparece en textos chinos hasta el año 122 a. C., pero ya se usaba cinabrio 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 cinabrio fue usado como ingrediente en medicamentos para purgas y enemas, se cree que también fue el primer tratamiento contra la sífilis [61].

El mineral rejalgar (As_4S_4) que contenía arsénico fue descrito alrededor del siglo IV a. C. por Aristóteles, pero el arsénico elemental

fue identificado hasta 1649. A lo largo de su historia, el arsénico ha sido utilizado en cosméticos, alimentos, vidrios, insecticidas, medicamentos, pigmentos, pirotecnia, rodenticidas, preservativos de madera, embalsamientos, metalurgia, curtido y taxidermia [66].

En diferentes épocas de la historia, grandes figuras de la medicina utilizaron metales pesados para el tratamiento de malestares. Hipócrates (460-377 a. C.) empleó diferentes preparaciones de metales como plata para el tratamiento de úlceras y la recuperación de heridas [60], o pasta de rejalgar para el tratamiento de úlceras [66]. Rhazes (850-923) probó mercurio usando al mono como modelo de estudio y reportó la ocurrencia de dolor de estómago; y que la aplicación del metal en el oído podría producir lesiones [61]. Avicena (980-1037) usó limaduras de plata para purificar sangre [60]; también consideró al mercurio como tóxico y corrosivo [61]. En 1520, Paracelso (1493-1541) usó nitrato de plata para cauterizar heridas, una práctica que continua hasta nuestros días [60], y propuso el uso de mercurio para curar la sífilis; por ello, desde el siglo XVI hasta mediados del XX, fue usado en ungüentos, baños de vapor e ingerido [61]. Angelo Sala (1576-1637) usó nitrato de plata como contrairritante, purgativo, y en el tratamiento de infecciones en el cerebro [60]. En 1554, en la Nueva España, se desarrolló la amalgación, técnica que utilizaba al mercurio para la extracción de plata, debido a su capacidad de amalgamar metales; propiedad descrita por primera vez por Vitruvio en el siglo

I a. C. Se utilizó el mercurio en el desarrollo del barómetro por Torricelli en 1643, y del termómetro en 1714 por Fahrenheit [61].

En el siglo XVI, durante el periodo de la colonización de Norteamérica por británicos, la necesidad de transportar agua por largas distancias popularizó la colocación de una moneda de plata en las vasijas de agua para preservarla, práctica extendida a la preservación de la leche. Cabe resaltar que el origen de esta práctica surgió en el imperio persa con diferentes reyes, el rey Ciro II el grande (600-530 a. C.). Ciro II consumía agua de contenedores de plata, los cuales la mantenían fresca por años, debido a sus continuas campañas militares, que hacían difícil encontrar agua en buenas condiciones [60].

En el siglo XVIII se desarrollaron fuelles en los hornos de fundición movilizadas por ruedas de agua (Figura 1D); 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 [62]. Durante el siglo XVIII, el Dr. Fowler desarrolló la solución de Fowler, la cual empleaba arsenito de potasio, ésta fue utilizada durante el siglo XIX como “cura todo”. Durante este siglo los compuestos de arsénico fueron muy populares, no solo para tratar diferentes malestares, también se empleaban compuestos de arsénico en el cabello y cuero cabelludo para eliminar alimañas [66].

En 1804, Smithson Tennant describió al iridio (Ir) ante la Royal Society, procedente de

residuos negros insolubles resultado del uso de agua regia. El iridio es un miembro del grupo del platino (Pt), es el metal más resistente a la corrosión, insoluble en los ácidos minerales, 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 entre 1600 °C y hasta 2000 °C en aleaciones con rodio (Rh). Las características del Ir permiten su uso para encapsular el combustible en generadores de electricidad de radioisótopos, utilizados en misiones espaciales como la del Voyager, lanzado en 1977, el transbordador utilizó como combustible dióxido de plutonio-238 (^{238}Pu), en esferas encapsuladas en iridio [67]. Los catalizadores de platino-rodio son utilizados para la oxidación de amonio con aire durante la manufactura de ácido nítrico y a su vez de fertilizantes nitrados. Las aleaciones de platino son utilizadas en la manufactura de fibras de vidrio, y se utiliza equipo de platino altamente puro para el desarrollo de fibra óptica [68].

Desde inicios del siglo XX se han ido desarrollando diferentes tipos de aleaciones, con propiedades superiores de resistencia a la corrosión; éstas incluyen carbón (0.05-0.25%), manganeso (2%), pequeñas cantidades de cromo, níquel, molibdeno, cobre, nitrógeno, vanadio, niobio, titanio y zirconio, 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 [69]. En el mismo siglo XX, diversos metales como el mercurio han estado presentes en el uso de medicamentos para tratar malestares en forma de ungüentos, diuréticos, antisépticos y anticonceptivos [61]. Durante la primera guerra mundial, se utilizó sulfadiazina de plata para el tratamiento de quemaduras [70]. Los coloides eléctricos de plata 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 existían al menos 50 productos de plata en el mercado de Estados Unidos de América [60]. En 1985, la Administración de Medicamentos y Alimentos (FDA) de Estados Unidos de América, aprobó el uso del fármaco llamado Auranofin, el cual contiene oro en su estructura ($C_{20}H_{35}O_9PSAu$) y es utilizado en el tratamiento de artritis reumatoide [70].

Los metales también han sido utilizados con fines criminales; uno de los primeros casos documentados de envenenamiento con arsénico 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 arsénico en alimentos y bebidas para envenenar a enemigos políticos. Durante la primera guerra mundial, la lewisita (dicloruro de 2-clorovinilarsino), y otros componentes de arsénico fueron utilizados como gases venenosos [66]. 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): hierro 940, aluminio 43, cobre 18, zinc 11, plomo 4, níquel, estaño 0.3, molibdeno 0.2 y plata 0.02 [59].

METALES PESADOS EN EL AMBIENTE: SU IMPACTO EN LA AGRICULTURA

Los seres humanos han utilizado los metales pesados durante miles de años [32]; siendo actividades antropogénicas como la industrialización, la minería, la agricultura o la fundición, las causantes de incrementar la concentración de metales pesados en la biósfera a niveles muy peligrosos [1, 2]. En la biósfera podemos encontrar metales pesados de manera natural, generados por la actividad geológica, pero que han sido propagados a diferentes entornos por actividades antropogénicas [71] como la industria petroquímica [72], el tráfico de vehículos, la agricultura [73], la extracción minera intensa [73, 74, 75], las refinерías de metales, la quema de carbón en centrales eléctricas, la combustión de petróleo, las centrales nucleares y las líneas de alta tensión, plásticos, textiles, microelectrónica, preservación de madera y plantas de procesamiento de papel [37].

La contaminación de metales pesados en zonas rurales tiene su origen más frecuente en el uso de fertilizantes fosfatados [1, 76]. El empleo de productos que contienen metales traza en la agricultura como fertilizantes, fungicidas, pesticidas, y herbicidas ha generado un

aumento de metales pesados como Cu, Zn, Fe, Mn, As, Cd y Pb en los cultivos [33]; por ello, diferentes países han implementado estándares de concentración de metales pesados en los suelos dedicados a la agricultura (Tabla 6) [77]. La contaminación por metales pesados en la agricultura también afecta al sector ganadero, se han reportado elevadas concentraciones de Pb en el ganado bovino [9, 78].

Ante el desequilibrio nutricional del suelo debido a su uso intensivo, surge la necesidad de dar seguimiento a los niveles de micronutrientes en los suelos con actividad agrícola [7, 8]. El uso de fertilizantes para el suministro de nutrientes al suelo puede disminuir el pH del suelo y producir la desorción de metales pesados de la matriz del suelo [79, 80], o a la reducción de materia orgánica [79]; este tipo de factores tienen como resultado el aumento de metales tóxicos en el suelo, y su acumulación en los cultivos. El

empleo de fertilizantes para el suministro de Zn ha aumentado los niveles de Pb y Cr en plantas de trigo (*Triticum aestivum*) [7], o una mayor biodisponibilidad de Cd, Cr y Pb en el suelo para maíz (*Zea mays*), con un aumento significativo en la concentración de sus hojas [8]. 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 [80]. 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), aumentó el contenido de Zn, Cd y Cr en el suelo [79]. El uso de estiércol de cerdo como fertilizante orgánico, aumentó las concentraciones de Cu, Zn y Cd en suelo, ocasionando la presencia de estos metales en granos de cacahuate (*Arachis hypogaea* L.) [81].

Tabla 6. 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	

Valores en “mg metal pesado·kg⁻¹ suelo”. ^aTomado de Hei *et al.* [82], ^bTomado de SEMARNAT [83].



Una fuente importante de contaminación por metales pesados 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 [1]; así como el uso de lodos de depuración, los cuales deben ser tratados para evitar el aumento en las concentraciones de metales pesados en el suelo y cultivos [82]. 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 tenemos al Fe, Zn, Mn, Cu, Pb, Cr, Ni, As, Co, Cd y Hg, con concentraciones altas de Pb, As, Cd, Co, Cu, Zn, Mn, Ni, Fe y Cr [84]. Vegetales cultivados a partir de suelos irrigados con aguas residuales desde mediados de 1960, presentaron altas concentraciones de Cd, Ni y Pb [85].

Suelos de cultivo cercanos a una zona minera en la ciudad de Fandong, en el sur de China, presentaron concentraciones altas de Cu, Zn y Cd, mayores a las permitidas, lo cual provocó la presencia de altas concentraciones de Cd y Pb en granos de arroz [86]. Suelos de la región de Hunan, en el sur de China, contaminados con metales pesados debido al colapso de una presa de relaves, y tratados para remoción de lodos tóxicos, presentaron concentraciones altas de

Zn, Cd y Pb, aun después de 17 años de haber llevado a cabo la limpieza [87]. Suelos de cultivo cercanos a fundiciones en Australia, presentaron vegetales con concentraciones de Cd y Pb superiores a lo permitido por la “Australian and New Zeland Food Authority” (ANZFA), la “Commission of the European Communities” y el “Codex Alimentarius Commission”. También se registraron altas concentraciones de Zn y Cu [88].

EL EFECTO DE LOS METALES PESADOS EN LOS SERES VIVOS

La contaminación por metales pesados en suelos en zonas industriales varía dependiendo del tipo de industria [32]; en México, la concentración de metales pesados en suelo de uso industrial se encuentra regulada (Tabla 7). Los principales metales pesados encontrados en los desechos de la industria textil son Al, As, Cd, Co, Cr, Cu, Fe, Hg, Mn, Ni, Pb, Tl y Zn [89]; en la industria del papel son Fe, Cu, Mn, Zn, Ni y Cd [90]; en la industria de cerámica encontramos Ni, V, Al, Co, Cr, As, Sr, Zr, Ce, Th, Fe, Cu, Zn y Pb [91]; en la industria de pinturas se han detectado elementos como Cr, Cd, Ni, Zn y Pb [92]; en la industria petroquímica aparecen Zn, Cu, Pb, Cd, Hg y As [93]; en la industria farmacéutica figuran elementos como Fe, Zn, Cu, Mn, Pb, Cr [94]; en la industria de baterías se utiliza As, Cr, Cu, Mn, Ni, Cd, Pb y Zn [95]; y en la industria de componentes electrónicos se desechan elementos como Cr, Zn, Pb, As, Cd, Ni, Cu [96].

Tabla 7. 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

Tomado de SEMARNAT [83].

Los metales pesados juegan un papel muy importante en los seres vivos, puesto que algunos son indispensables para diversas funciones biológicas. Los metales pesados participan en el metabolismo de proteínas, y en el transporte de moléculas en células u órganos [73]; algunos metales pesados actúan como cofactores de enzimas, teniendo un papel estructural o participando en reacciones químicas. El cobre, por ejemplo, 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 níquel, siendo la enzima ureasa dependiente de este metal, y es encontrada en una amplia variedad de organismos; esta enzima juega un papel

importante en el ciclo del nitrógeno, catalizando la descomposición hidrolítica de la urea para la producción de amonio y carbamato [97]. Entre otros metales con actividad biológica tenemos al molibdeno, presente en la nitrato-reductasa [98] y en la nitrogenasa [99]; al cobalto, encontrado en la vitamina B12 [100]; al magnesio, el cual 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 hierro es esencial en diversos procesos metabólicos, siendo indispensable para todos los organismos, es un componente de proteínas como hemoglobina, mioglobina, nitrogenasa y citocromos [2].

Los metales pesados pueden ser muy tóxicos si estos se acumulan en tejidos; pueden persistir en el suelo por siglos e influir en las redes

tróficas [101]. Los metales pesados no solo afectan la calidad de los productos agrícolas y del agua, sino también al ecosistema, pudiendo dañar a diversos organismos [102]. La agencia de Protección Ambiental de Estados Unidos de América (EPA) ha publicado valores de concentraciones máximas de metales pesados para el agua (Tabla 8) y dosis orales de referencia (Tabla 9) de los niveles permitidos, entiéndase esto como la dosis ante la cual no se tienen efectos marcados en la salud, pero no como dosis recomendables [103, 104, 105].

Los metales pesados pueden ingresar al cuerpo humano mediante la inhalación de aire o ingesta de agua contaminada, y por la transferencia de éstos por las rutas suelo-planta-humano o suelo-planta-animal-humano [85, 129]. Los metales

pesados, pueden entrar en pequeñas dosis por un largo periodo de tiempo, y ser acumulados en órganos y tejidos. El almacenamiento 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 [130].

La presencia de metales pesados induce el estrés oxidativo celular, lo cual lleva a la sobreproducción de especies reactivas que alteran el estado de óxido-reducción, e inclusive, puede llevar a la muerte celular [72]. El absorber y acumular metales pesados causa efectos nocivos para la salud entre los que se encuentran cáncer, daño en órganos y sistema nervioso o la muerte [131, 132].

Tabla 8. 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

^aTomado de US EPA [104], ^bTomado de SEMARNAT [105].



Tabla 9. 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	[11, 12, 13,14,106,107, 108, 109, 110].
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	[15, 16, 17, 110].
Cr (VI)	5·10 ⁻³	Cáncer de pulmón, dermatitis, alergias, erupciones cutáneas, sangrado nasal, úlceras estomacales, debilitamiento del sistema inmune	[110, 111].
Hg	3·10 ⁻⁴	Aumento de glutatión oxidado/disminución de glutatión reducido, 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 miocardiom disfunción coronaria, aterosclerosis, anemia, fibrosis pulmonar, síndrome de Young	[110, 112, 113, 114, 115].
Pb	2·10 ⁻²	Cáncer, deficiencia intelectual, hiperactividad, deficiencia en funciones motrices finas, deficiencia en coordinación mano-ojo, eficiencia en tiempo de reacción, hipertensión, enfermedad coronaria, enfermedad arterial periférica, hipertrofia del ventrículo izquierdo, alteraciones al ritmo cardiaco, anemia, neurotoxicidad (central y periférica), daños a la matriz ósea, hipocalcemia, hipofosfatemia, defectos en el desarrollo de la línea roja hepática, efectos en el desarrollo del sistema nervioso	[19, 18, 110, 111, 116, 117].
Se	5·10 ⁻³	Reducción de actividad antioxidante, daño hepático, diarrea, pérdida de cabello, fatiga, decoloración y fragilidad de uñas, dolor de articulaciones	[118, 119].
Zn	3·10 ⁻¹	Fallas cardiovasculares, fallas respiratorias, fallas renales, fallas hepatobiliares, orina roja, anemia, úlceras en piel, letargo, aturdimiento, ansiedad, depresión, somnolencia, comatosa, deficiencia de cobre, leucopenia, neutropenia, daño a células gliales	[110, 120].
Sb	4·10 ⁻⁴	Cáncer, neumoconiosis, manchas en piel, cardiotoxicidad, malestares gastrointestinales, aumento en riesgo a abortos espontáneos, alteración en la menstruación	[121, 122].
Ag	5·10 ⁻³	Argiria, argirrosis, convulsiones, coma, edema pleural, hemolisis	[123, 124].
Tl		Neurodegeneración, malestares gastrointestinales, alopecia, hipertensión, taquicardia, polineuritis, encefalopatía, hemorragia subaracnoidea, depresión de médula ósea, reducción de visión/ceguera	[125, 126].
V	7·10 ⁻³	Rinitis, bronquitis, neumonía, asma, esputo, hipertensión, hepatomegalia, lengua verde	[127, 128].

^aTomado de US EPA [103]

Metales como el mercurio, cadmio, arsénico y níquel 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 [133]. La “Joint FAO/WHO Expert Comitee 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 reacción en el cuerpo. Para los cuatro metales más tóxicos el valor PTWI es el siguiente: Hg 0.005 mg·kg⁻¹ de peso corporal, Cd 0.007 mg·kg⁻¹, Pb 0.025 mg·kg⁻¹, y As 0.025 mg·kg⁻¹ [129]. El mercurio tiene sus fuentes naturales en las erupciones volcánicas terrestres o marítimas (con su posterior evaporación desde tierra o agua), por erosión de rocas conteniendo este metal, y procesos geotermales. Las emisiones naturales de mercurio son mayores a aquellas producidas por el hombre; la quema de carbón es uno de los principales medios de contaminación antropogénica. Las industrias de cal y hormigón, refinerías petroleras, producción de alquitrán y asfalto, son las principales fuentes industriales de mercurio. El mercurio es considerado uno de los metales pesados más peligrosos para la salud humana. El mercurio inorgánico y el mercurio metálico pueden ser absorbidos por la piel e ingresar por medio del tracto respiratorio como mercurio gaseoso. Este metal cruza la membrana de los alvéolos pulmonares hasta llegar al torrente sanguíneo y a diferentes tejidos provocando severos daños celulares. Algunos de los

órganos que acumulan el metal son riñones, hígado, bazo, sangre y cerebro; se conoce un efecto degenerativo en sistema nervioso central [129]. Se ha reportado que el mercurio se une al sitio activo de diversas enzimas, inhibiendo su actividad; Mirzoian & Luetje en 2002 [134] reportaron que el cloruro de mercurio inhibe a los receptores nicotínicos de acetilcolina neuronales de rata expresados en ovocitos de *Xenopus laevis* al interactuar con la subunidad $\alpha 4$, mientras que, si el cloruro de mercurio interactúa con la subunidad $\beta 4$, potencia su actividad.

El cadmio se encuentra en la naturaleza formando complejos con iones y quelatos orgánicos, en rocas sedimentarias; se ha encontrado en fosforitas procedentes de los océanos o en combustibles fósiles como el carbón. Las actividades humanas que son fuente de cadmio 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, y la producción de baterías de cadmio-níquel, entre otros usos. El cadmio 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 metal se acumula en riñones e hígado por mucho tiempo, daña a los pulmones y puede causar desmineralización de huesos debido al malfuncionamiento de los riñones [129]. El cadmio reduce la actividad de enzimas como la catalasa y la superóxido-dismutasa, con un efecto destructivo sobre las membranas

celulares y biopolímeros (proteínas y ácidos nucleicos). El cadmio es capaz de acumularse en eritrocitos, estimulando la formación de formas activas de óxidos y peróxidos, cuyo incremento en las membranas provoca la destrucción de la metahemoglobina. El cadmio reduce el contenido de selenio, formando complejos inertes con éste, lo cual previene la inactivación de la glutatión-transferasa y la glutatión-peroxidasa [130]. La actividad carcinogénica del cadmio se ha asociado a la inhibición de los mecanismos de la reparación de ADN, como 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 [133]. El cadmio reduce el crecimiento en plantas debido al incremento en la actividad de la ácido-indolacético-oxidasa [135]. El exceso de cadmio en suelo lleva a la deficiencia de hierro en plantas [136].

El plomo representa el 0.0013% de la corteza terrestre. Este metal es emitido a la atmósfera 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. La toxicidad del plomo en plantas es caracterizada por la inhibición de actividad de enzimas que posean grupos tiol (-SH). El plomo inhibe la germinación de semillas, retarda el crecimiento de plántulas y reduce el crecimiento de raíz y brotes. Este metal promueve la formación de especies reactivas de oxígeno (ocasionando un estrés

oxidativo), dañando la estructura de cloroplastos, y con ello reduce la tasa fotosintética, inhibiendo síntesis de clorofila, plastoquinonas y carotenoides, También produce la alteración en la permeabilidad de membrana debido a que el plomo se une fuertemente a los grupos carboxilo de los carbohidratos en la pared celular [137]. En animales, el plomo es capaz de bloquear o reemplazar la interacción del calcio con algunas proteínas, y afecta la síntesis del grupo hemo. Al entrar al cuerpo, 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 plomo 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 [129]. El plomo es un componente venenoso altamente acumulativo. Se ha reportado que, en cortos periodos de tiempo, las sales de plomo, aún 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 enzimas como la superóxido-dismutasa, la catalasa, la glutatión-peroxidasa y la glutatión-reductasa [130].

Elementos como el arsénico 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 arsénico encontramos la quema de combustibles fósiles, procesos metalúrgicos, producción de hormigón y cristal, y la agricultura. El arsénico es usado en la producción de herbicidas, preservación de madera, producción de cristal, tintes, armas químicas y purificación de gases industriales. El arsénico es comúnmente encontrado en el suelo de dos formas, arsenito As (III) y arseniato As (V); el arsenito actúa en los organismos uniéndose a grupos tiol (-SH) en enzimas y proteínas, lo cual provoca mal funcionamiento en funciones celulares; mientras que el arseniato es un análogo del fosfato por lo cual interfiere con la captura de fosfato y el metabolismo de la planta; ambos tipos de arsénico llevan a la generación de especies reactivas de oxígeno y estrés oxidativo [138]. El aumento en la concentración de arsénico en el suelo conlleva a la reducción de clorofila α y β en las hojas de *Oriza sativa*, lo cual se relaciona con la reducción del tamaño de la planta [139]. El arsénico es un elemento que puede causar cáncer en diversos órganos, siendo frecuentes el cáncer de tracto respiratorio y tumores en la piel. [129]. La actividad carcinogénica del arsénico se debe a la inhibición de la poli-(ADP-ribosa)-polimerasa-1 (PARP-1), importante en la reparación del ADN; origina la represión de proteínas como ERCC1, XPB y XPF [133]. La proteína de reparación por escisión de ADN, ERCC1 y la endonucleasa XPF, son proteínas 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 [140, 141]. La endonucleasa XPB es una de las 10 subunidades del factor de transcripción humana IIIH (TFIIH) que participa en el sistema de defensa celular para proteger el genoma por reparación por escisión de nucleótidos [142].

El cromo se puede encontrar en la corteza terrestre y en el agua de mar, como cromo metálico (0), trivalente [Cr (III)] y hexavalente [Cr (VI)]; este último es resultado de la oxidación del cromo trivalente y es altamente tóxico [143] debido a que el Cr (VI) puede ingresar a las células y reducirse a Cr (V), Cr (IV) hasta Cr (III), pero estos estados de oxidación dañan la integridad celular debido a sus propiedades fuertemente oxidativas [137, 144]. 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 cromo-ADN por la interacción del cromo con adenina y guanina [145, 146]. El cromo ha sido utilizado en la industria por más de 100 años, el cromo metálico es utilizado para la fabricación de acero y otras aleaciones. El cromo trivalente es encontrado en rocas, suelo, plantas, animales y emisiones volcánicas, y el cromo hexavalente se encuentra como resultado de los procesos industriales del cromo trivalente [145]. 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

[143]. La ingesta permitida de cromo es de 35 µg/día para hombres y 25 µg/día para mujeres jóvenes [147]. El cromo es un cofactor en la acción de la insulina; observándose síntomas de diabetes en personas expuestas a cromo, sugiriendo una relación entre los niveles de cromo y el metabolismo de glucosa y/o lípidos [143, 147]. Los órganos con mayores concentraciones de este metal son hígado, riñones, bazo y huesos [143, 144]. El Cr (VI) puede entrar al cuerpo a través de la respiración, comida o agua; es un agente 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 [145]. El Cr (VI) tiene la capacidad de entrar a los eritrocitos, unirse a hemoglobina y reducir su actividad [144]. El Cr en plantas influye en su crecimiento de éstas debido a daños a nivel de 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), o produciendo de especies reactivas de oxígeno y alterando la actividad enzimática [137].

MÉTODOS CONVENCIONALES PARA LA ELIMINACIÓN 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 [148]. Existen diversas técnicas para eliminar estos contaminantes, conocidas como técnicas de remediación, y 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 [132, 148]. La desorción térmica, es una técnica utilizada para la remediación de suelos con mercurio; este elemento que es encontrado como Hg (0) o Hg (II) en el suelo, 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 mercurio; puede reducir la concentración del mercurio residual de suelos a menos de $2 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$, y el mercurio volátil puede ser capturado con hasta un 99% de pureza [149].

Las técnicas electrocinéticas usan procesos electroquímicos para la remoción de metales pesados a partir de suelos saturados, parcialmente saturados, arcillas y arcillas de limo; su eficiencia se reduce en sitios contaminados con múltiples metales [148]. 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 [132].

Existen técnicas de separación de metales pesados que involucran mecanismos de coagulación-floculación, basados en el potencial zeta (ζ), que es una medida para definir la interacción electrostática entre contaminantes y agentes coagulante-floculantes [132]. 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 por otros métodos. La floculación es un proceso que permite la asociación de partículas coloidales, y con ello la formación de partículas más grandes, que son

más fáciles de separar por sedimentación o filtración [150]. 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 aluminio o hierro, o polímeros orgánicos sintéticos, conocidos como polielectrolitos [132, 150]. 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 [150].

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 [132]. Este proceso elimina 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 [151].

Una técnica muy empleada para la remoción de contaminantes es el uso de membranas de filtración, las cuales son capaces de remover sólidos suspendidos, componentes orgánicos y contaminantes inorgánicos [132]. 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 [152], la ósmosis inversa [153], la microfiltración, la ultrafiltración y la nanofiltración [154].

MÉTODOS BIOLÓGICOS PARA LA ELIMINACIÓN DE METALES PESADOS: LA BIORREMEDIACIÓN

La biorremediación se refiere al empleo de organismos vivos para eliminar desechos, sustancias peligrosas u otros contaminantes del ambiente [155]. La biorremediación permite la eliminación de compuestos de desecho, degradando los contaminantes; permitiendo así

la desintoxicación de ambientes contaminados [20]. La naturaleza de los contaminantes a tratar por este método considera agroquímicos, compuestos clorados, colorantes, gases de efecto invernadero, metales pesados, hidrocarburos, residuos nucleares, plásticos y aguas residuales [22]. La biorremediación es un proceso económico (Tabla 10) que presenta la posibilidad de poder ser acoplada con otras técnicas de tratamiento, estableciendo una cadena de tratamiento para desechos mixtos y complejos [20].

La contaminación por metales pesados impacta en la dinámica de los ecosistemas. En ambientes contaminados existen comunidades microbianas menos diversas [20]; estas comunidades muestran una estrategia colectiva de cambio de una población nativa a una aclimatada [156]. 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 [157]. 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 [22]. Las técnicas de

Tabla 10. Comparación en costos en procesos de remediación.

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

Tomado de Juwarkar et al. [20]. Costo estimado en libras esterilinas por tonelada de suelo.

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 [20]. Un claro ejemplo es el del bioaumentación del suelo con *Phragmites australis* (carrizo) y su bioestimulación con fósforo 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 [158]. Las técnicas de biorremediación más utilizadas son fitorremediación, bioblanqueamiento, biorreactores, compostaje, rizofiltración y bioestimulación [155].

BIOLIXIVIACIÓN

La biolixiviación 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 cobre, cobalto, níquel, zinc y uranio, los cuales son extraídos de sulfuros insolubles [159]. 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* [160]. La actividad microbiana es la causante de la disolución del mineral mediante la generación

de agentes oxidantes 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 hierro (II). Los géneros de bacterias lixiviantes pertenecen a los géneros *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 hierro (II) y azufre extremadamente termófilas [159].

BIOSORCIÓN

La biosorción es un proceso fisicoquímico natural, utilizado principalmente en la eliminación de contaminantes como metales pesados, sustancias radioactivas, colorantes, compuestos fenólicos y pesticidas, presentes en efluentes en bajas concentraciones [161]. La biosorción utiliza material de origen biológico, y se basa en mecanismos como absorción, adsorción, intercambio iónico, complejación superficial y precipitación [162]. La biosorción utiliza biomasa residual inactiva para eliminar los contaminantes de la solución acuosa mediante un proceso no metabólico, en el cual, esta biomasa se une pasivamente el

contaminante debido a la presencia de diversos grupos funcionales y/o metabolitos presentes en su superficie [163].

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 instrumento eficaz para 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 [164]. 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 tienen la capacidad para unirse a los contaminantes. Se ha comprobado que los sitios de biosorción en el material pueden variar para diferentes contaminantes, maximizando la reutilización del biosorbente [161]. Se ha reportado el proceso de biosorción para Pb (II) y Zn (II) por *Oceanobacillus profundus* (bacteria aerobia), aislada de sedimentos de una mina en Zambia, África. *O. profundus* mostró un porcentaje de remoción del 97% de Pb (II) a partir de una concentración de $50 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$, y una remoción del 54% de Zn (II) a partir de una concentración inicial de $2 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ [163].

BIOAUMENTACIÓN

La bioaumentación consiste en introducir microorganismos exógenos con capacidades biodegradadoras con el objetivo de asegurar el proceso de biodegradación y reducir los tiempos de tratamiento [157, 158]. Existen dos enfoques de bioaumentación; uno de ellos 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 [157]; aunque existe la posibilidad de que los microorganismos se conviertan en invasores e impacten negativamente el ambiente [158]. 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 [157]. Como se ha sido mencionado, se ha utilizado a *Phragmites australis* (carrizo) para la degradación de endosulfán en el tratamiento de suelo contaminado; la estimulación de la actividad con sacarosa favoreció la reducción de 76-77% de endosulfán; sin embargo, la incorporación de un consorcio bacteriano constituido por bacterias de los géneros *Alcaligenes*, *Labrays* y *Serratia* mostró ser una estrategia entre el 5.91-7.60% más eficiente para la remoción de este contaminante; además, la actividad microbiana

no genera el problema de la volatilización del contaminante a través de las hojas; problemática que se presenta en el caso de la actividad vegetal [158].

BIOESTIMULACIÓN

La bioestimulación consiste en la adición de uno o más nutrientes al sitio contaminado, y la optimización de las condiciones, como la disponibilidad de oxígeno, temperatura, pH y potencial redox, de manera que se incremente la velocidad de la tasa de biodegradación de los contaminantes [157, 158, 165]. Las variables por optimizar dependen del sistema de origen. En la biorremediación de ambientes marinos, la ausencia de nitrógeno y fósforo es una limitante [165]. En la biorremediación de sitios contaminados con hidrocarburos, los microorganismos son capaces de utilizar estos contaminantes como fuente de carbono y energía, pero requieren la adición de nitrógeno y fósforo al entorno [166, 167].

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. Esta técnica de remediación consiste en la estimulación de la actividad microbiana mediante la aireación, adición de nutrientes y humedad. Se compone de varias etapas como aireación, riego, sistemas de recolección de nutrientes y lixiviado. La técnica permite tratar un gran volumen de suelo

contaminado en un espacio limitado [22, 168]. 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 [168]. A pesar de las de bajas temperaturas y baja disponibilidad de nutrientes en el suelo, la biorremediación por biopila en conjunto de la bioestimulación es factible aún 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 *Rhodoferrax* 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 [167].

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 [169]. 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 [163]. 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 plomo, vanadio, cadmio, cromo, zinc, níquel y manganeso [169].

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 permite la eliminación de contaminantes, sin producir un daño ambiental, en comparación con los métodos químicos convencionales ([170]. 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 [171]. Las lacasas son enzimas del grupo de las oxidasas de cobre azul, que catalizan la oxidación monoelectrónica de diversas sustancias, siendo unos de los más importantes, los compuestos fenólicos. Estas enzimas son capaces de convertir en nutrientes productos

como madera, plásticos y pinturas, entre otros [172]. 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 [173]. Se han utilizado diferentes especies de hongos con la finalidad de reducir la presencia de diferentes contaminantes en el ambiente. La biomasa seca del hongo *Phanerochaete chrysosporium* (hongo degradador de lignina) tiene la capacidad de biosorber mercurio en la forma de mercurio inorgánico (HgCl_2), metil mercurio (CH_3HgCl) y etil mercurio ($\text{C}_2\text{H}_5\text{HgCl}$) [174]. Los llamados “hongos de pudrición blanca”, organismos que se alimentan de la lignina y de los polisacáridos que componen la madera, son más eficientes que las bacterias en la degradación de fenoles simples y complejos [175]. Por ejemplo, el hongo *Trametes versicolor* (seta medicinal en medicina china) es efectivo para la remoción de fenoles en aguas residuales de almazaras, la cual contiene compuestos fitotóxicos y componentes antimicrobianos, entre los que destacan compuestos fenólicos, ácidos volátiles, polialcoholes y componentes nitrogenados [176]. El hongo *Cerrena* sp. (habitante de madera muerta), es capaz de disminuir en un 75% los fenoles totales de las aguas residuales de almazaras [175]. También se han utilizado hongos como *Cladosporium* sp., *Fusarium* sp., *Penicillium* sp., *Aspergillus* sp. y *Pleurotus* sp. para la eliminación de creosota y de hidrocarburos aromáticos

policíclicos; obteniendo una reducción del 94.1% en el porcentaje de creosota (derivado del fraccionamiento de alquitranes. La misma mezcla fue capaz de degradar completamente naftalina, antraceno, fenantreno, pirrol y floureno; degradó pirineo, criseneno, fluoranteno y benzo(a)-pirineo [177]. Se ha reportado que *Penicillium citrinum* es capaz de reducir hasta en un 80% de la concentración de Cr (VI) de efluentes de la industria de curtiduría, mediante el uso de un biorreactor de columna de burbujas [178].

Algunas especies de hongos poseen la capacidad de producir ácido oxálico, agente quelante y reductor, capaz de aumentar la acidez del sustrato y con ello la solubilidad de los metales. Entre los hongos con la capacidad de producir ácido oxálico se encuentran *Formitopsis palustris*, *Laetiporus sulphureus* y *Coniphora puteanea*. Se ha reportado que el ácido oxálico producido por estas especies es capaz de lixiviar compuestos de arseniato de cobre cromado, el cual es utilizado en tratamientos para la conservación de madera. Al tratar aserrín conteniendo arseniato de cobre cromado, con ácido oxálico generado por *F. palustris*, se removió cerca del 72% de cobre, 87% de cromo y 100% de arsénico, el tratamiento con *L. sulphureus* removió 50% de cobre, 69% de cromo y 85% de arsénico, y tratamiento con *C. puteana* removió 67% de cobre, 19% de cromo y 18% de arsénico [179]

FITORREMEDIACIÓN

El término fitorremediación se refiere a una

serie de técnicas de eliminación del ambiente, de contaminantes orgánicos e inorgánicos, mediante el uso de plantas y de los 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 [73, 180]. La fitorremediación requiere abarcar dos procesos, el primero que consiste en el control y estabilización del contaminante, previniendo su difusión a otros sitios. El segundo se refiere a la “cosecha” de la planta acumuladora, con alto contenido de contaminantes, para la reducción de la concentración de éste 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 [181].

La fitoextracción involucra la captación de metales pesados por las raíces de la planta con la subsecuente acumulación de altas concentraciones de iones metálicos en sus diferentes órganos (Figura 2) [182, 183]. Los metales acumulados pueden ser recolectados y utilizados con propósitos no alimenticios, o ser tratados para el reciclaje de los metales en caso de ser económicamente factible, o ser eliminados en vertederos [184]. Ramana *et al.*, en 2013 [185], demostraron la capacidad de las rosas para crecer y absorber Cr (VI). El uso de agentes quelantes aumenta la biodisponibilidad del metal pesado para la planta, mediante la desorción del metal pesado desde la matriz del

suelo a una solución; lo cual puede potenciar la captura y translocación del contaminante [184, 186]. *Triticum aestivum* (trigo), es capaz de crecer en sitios con concentraciones de hasta 2000 mg Pb·kg⁻¹ de suelo seco, en presencia de EDTA (ácido etilendiamino tetraacético) y ácido acético como quelantes, siendo capaz de absorber plomo y translocarlo en su raíz y órganos aéreos, aunque presenta una reducción en el crecimiento de la biomasa de su raíz [184]. *Sesbania exaltata*, una planta fanerógama de la familia de las leguminosas es capaz de acumular plomo en sus raíces, aunque en este

caso, el uso de quelantes como EDTA y ácido acético producen una reducción en la biomasa por estrés debido a los altos niveles de fitotoxicidad ocasionada por estos quelantes [186]. Se ha demostrado la capacidad del ácido acético para la desorción de plomo, cadmio y níquel del suelo [187]. El aumento en la disponibilidad del metal puede conllevar a un riesgo de transportar el contaminante hacia otros sitios, y por ello debe ser optimizado el uso de quelantes al grado de reducir el volumen de lixiviados a la menor cantidad posible [184].

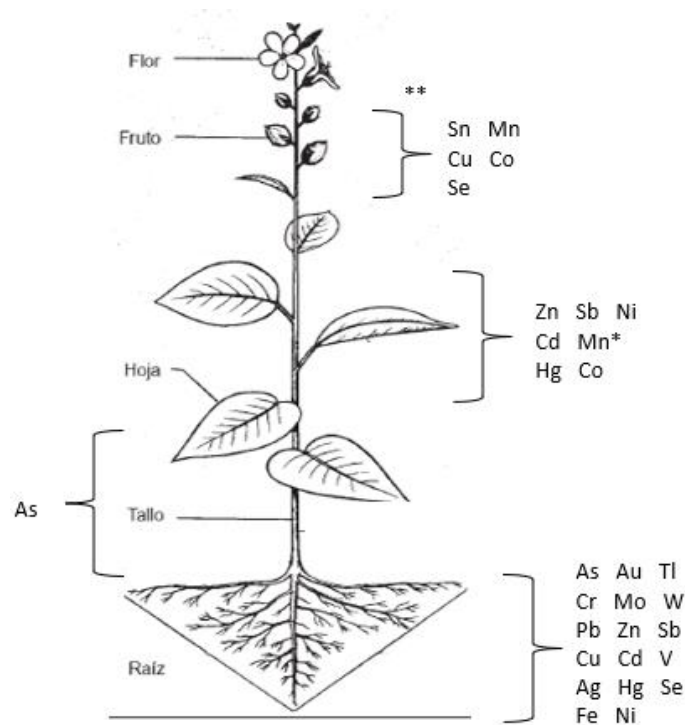


Figura 2. Principales órganos en los que se acumulan metales pesados en plantas. Mn* solo en hojas viejas. ** Sn, Cu, Se, Co en semillas; Mn en vainas. Información modificada de [35]. Imagen adaptada de Troiani *et al.* [188].

La rizofiltración utiliza la capacidad de las raíces de ciertas especies de plantas para la absorción, concentración y precipitación de contaminantes [182, 189]; siendo muy utilizada para la purificación de agua contaminada [190]. Diferentes especies de plantas poseen esta capacidad, por ejemplo, *Plectranthus amboinicus* (orégano francés), una planta herbácea de la familia de las lamiáceas que es utilizada como planta aromática y curativa, la cual puede acumular plomo en sus raíces, con reducciones de casi el 100% del plomo presente en el suelo, se ha reportado una translocación limitada hacia tallo y hojas, lo cual no influye en su uso como planta medicinal [189]. *Zea mays* (maíz) es capaz de absorber hasta un 58% de cationes de Zn (II); *Dactylis glomerata* (dátilo), una gramínea de importancia forrajera absorbe el 40%; y *Secale cereale*, otra planta de la familia de las gramíneas, un 39% de Zn (II); *Z. mays* y *D. glomerata* son capaces de absorber hasta 91% del total de zinc presente en el medio. Plantas como *Secale cereale* (el centeno) y *Phleum pratense* (una especie de planta herbácea perenne) presentaron la capacidad de absorber más del 90% del cadmio presente en suelos contaminados con este metal [190].

La fitoestabilización se refiere al uso de plantas para la reducción en la biodisponibilidad de metales pesados [191] 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 [182]. Las plantas *Spartina densiflora*

(gramínea de origen sudamericano) y *Spartina marítima* (planta perenne rizomatosa) 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 cobalto en el substrato subyacente a su rizosfera. Los óxidos de hierro que se generan en el ambiente poseen una alta afinidad para adsorber el cobalto [192].

La fitovolatilización, es un proceso de absorción y transpiración, por parte de las plantas, de contaminantes solubles en agua. Los contaminantes son absorbidos por las plantas y se volatilizan a la atmósfera por transpiración [183]. La fitovolatilización puede existir de manera directa o indirecta; la forma directa, resulta de la absorción y translocación de los contaminantes por 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. Los contaminantes presentan la capacidad de difundirse a través de barreras hidrofóbicas como la cutina en la epidermis o la suberina en los tejidos dérmicos leñosos. 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 [193]. La fitovolatilización ha sido

utilizada para el tratamiento de suelos halófilos [183] o para la eliminación de hidrocarburos alifáticos clorados, por ejemplo, la eliminación del 1,1,1-tricloroetano y el tricloroetileno fitovolatilizados por *Medicago sativa* (alfalfa) [194]. Se ha comprobado que hay especies de plantas con la capacidad de utilizar este proceso para la eliminación de metales pesados, como *Pteris vittata* (un helecho), capaz de fitovolatilizar arsénico [195]. Por ingeniería genética se han modificado plantas hiperacumuladoras, para incrementar la capacidad de eliminación de metales contaminantes. Por ejemplo, *Oriza sativa* (arroz) presenta la capacidad de absorber arsenito (As III) de manera eficiente en comparación con otros cultivos; esta planta ha sido modificada por inserción del gen *arsM* de *Rhodospseudomonas palustris*, para fitovolatilizar el arsénico [196].

La fitorremediación ha sido utilizada para la remoción de productos farmacéuticos como el paracetamol y el metilparabeno por la planta ornamental *Alternanthera* spp. [197]. *Crotalaria retusa* (una hierba anual) y *Impatiens balsamina* (conocida como balsamina, madama o alegría) se han empleado en la remoción de aceites lubricantes usados de autos [198]. Para la remoción de Cr (VI) han sido utilizadas algas filamentosas [199] y a *Chrysopogon zizanioides* (planta perenne de la familia de las gramíneas) [200]. Para la acumulación de metales como cadmio, zinc y plomo, se ha reportado la capacidad de árboles de *Pinus silvestris*, *Picea abies* y *Quercus robur* [73], mientras que *Eichhornia crassipes*

(llamada también jacinto de agua o lirio acuático) es capaz de extraer y acumular metales como aluminio, arsénico, cadmio, cobre, hierro, níquel, plomo, antimonio, titanio, vanadio y zinc en los tejidos sumergidos, así como cobre y manganeso en las estructuras aéreas, en la remediación de los canales de Xochimilco [201]. *Eichhornia crassipes* es capaz de absorber el 16.56% cadmio y 15% de mercurio, [202]. *Dittrichia graveolens* (planta fanerógama perteneciente a la familia de las asteráceas) se reportó como acumuladora de cadmio y cobre, para *Alyssum murale* (plantas de la familia Brassicaceae) se reportó la acumulación de cobalto, mientras que *Herniaria hirsuta* (una hierba anual) fue capaz de acumular cromo y *Alyssum markgrafii* al níquel [203].

MICROORGANISMOS CON POTENCIAL BIORREMEDIADOR: EL GÉNERO BACILLUS

El género *Bacillus* pertenece al Dominio Bacteria, Filo Firmicutes, Clase Bacilli, Orden Bacillales, Familia Bacillaceae [23]. El género está constituido por 179 especies, y fue descrito por Cohn en 1872 [204] (Figura 3). El género *Bacillus* agrupa bacterias Gram-positivas, alargadas, positivas a catalasas, con metabolismo aerobio o anaerobio facultativo, pueden encontrarse en solitario o en conjunto [23, 205, 206, 207]. Las especies del género *Bacillus* poseen la capacidad de adaptarse a entornos rápidamente cambiantes o ausentes de nutrientes mediante el desarrollo de endosporas

[208]. La habilidad para formar endosporas en condiciones anaerobias fue definida como un carácter del género en la década de los 1920's [23]. Las endosporas son estructuras inactivas no reproductivas, producidas por bacterias Gram-positivas; es un mecanismo de supervivencia para permanecer por un largo periodo de tiempo en condiciones hostiles [208] como altas temperaturas, radiación, desinfectantes y desecación [23, 209]. La formación de endosporas le permite sobrevivir en medios adversos para las células vegetativas pues permite resistir altas condiciones de estrés químico y físico. 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 [23]. En el género *Bacillus*, la esporulación puede provocar cambios moleculares y celulares, como la biosíntesis de ácido dipicolínico en células esporuladas, el cual forma un complejo con iones de calcio dentro del núcleo de la endospora, uniéndose a las moléculas de agua libres y provocando la deshidratación de la espora [208].

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 [23, 26, 209], y por producir una amplia variedad de metabolitos secundarios. Se estima

que, entre el 4 al 5% de su genoma codifica para la síntesis de metabolitos secundarios [207] entre los que encontramos sustancias antagonistas contra organismos patógenos [207, 210], moléculas con potencial de tratamiento a enfermedades [211], con fines industriales [27, 212] o por su potencial para dañar la salud humana [213].

A nivel ambiental, las rizobacterias promueven el desarrollo vegetal por medio de mecanismos directos o indirectos. Los indirectos se refieren a aquellos relacionados con la eliminación de organismos fitopatógenos, por medio de la producción de sustancias antibióticas o líticas, por competir con estos por nutrientes o espacio; o por la estimulación de la resistencia sistémica inducida. Los mecanismos directos incrementan la disponibilidad de nutrientes en la rizosfera; esto mediante mecanismos como la fijación de nitrógeno, producción de fitohormonas, vitaminas, enzimas, solubilización de fósforo inorgánico, oxidación de sulfuros o reducción de la toxicidad de metales pesados [214]. Algunas especies del género *Bacillus* producen distintas sustancias que influyen en la regulación de diferentes rutas de biosíntesis de fitohormonas, modulan niveles de etileno, o emiten compuestos orgánicos volátiles con actividad biológica brindando protección y estimulando el desarrollo de su hospedero.

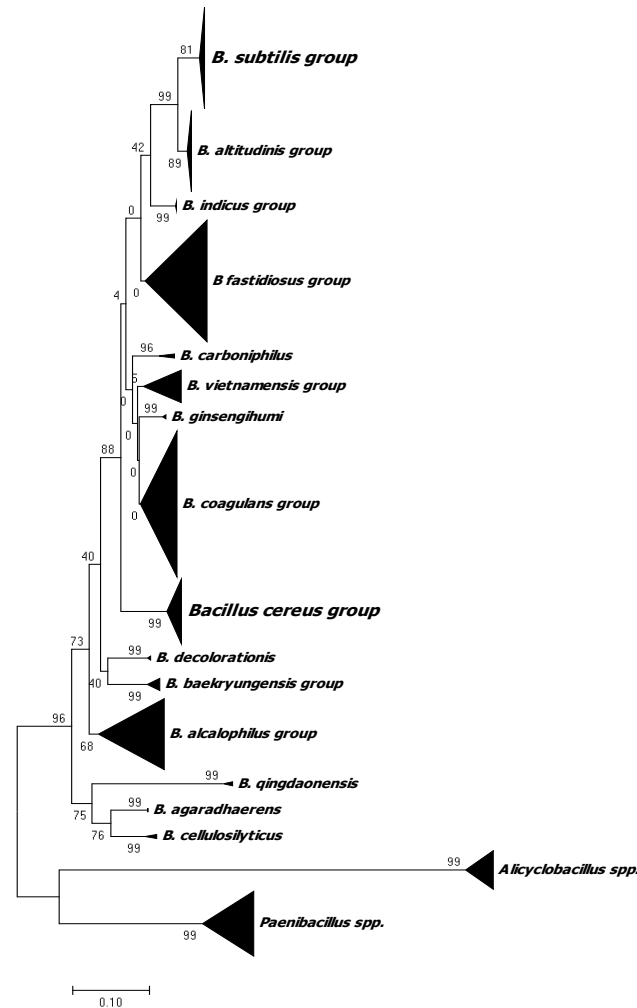


Figura 3. Análisis filogenético de secuencias del gen *16S rDNA* de especies de *Bacillus*, llevado a cabo para este trabajo. La historia evolutiva se infirió por el método de “Maximum Likelihood” basado en el modelo de Jukes-Cantor [215]. Se muestra el árbol con el valor más alto de similitud (-15771.0014). El árbol está dibujado a escala, con la longitud de las ramas medidas con base en el número de sustituciones por sitio. El análisis involucró 378 secuencias de nucleótidos. Todas las posiciones que contuvieron gaps y datos faltantes fueron eliminadas. Un total de 1146 posiciones fueron utilizadas en la base de datos final. El análisis evolutivo se llevó a cabo utilizando el programa MEGA7 [216].

Estos organismos pueden ser epifitos o endófitos, presentando la capacidad para formar colonias en la rizosfera [24], siendo esta la primera línea de defensa de la planta contra los organismos fitopatógenos edáficos, evitando su establecimiento en la raíz [210]. La producción de sideróforos, los cuales permiten la quelación de iones metálicos, reduce los

efectos tóxicos sobre el organismo, como el estrés oxidativo causado por especies reactivas de oxígeno (ROS) [217]. La enzima ACC desaminasa es la responsable de la hidrólisis del ACC (ácido 1-aminociclopropano-1-carboxílico), lo cual permite utilizar a ACC como fuente de nitrógeno para la planta [138, 214]. El ácido indol-3-acético (AIA) es una

auxina; las auxinas son fitohormonas participes en procesos de desarrollo de la planta, interviniendo en procesos de división, elongación y diferenciación celular [218]. El AIA está involucrado con la elongación de raíces e incrementa el número de pelos radiculares quienes se involucran en la captura de nutrientes [219]. El AIA 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* [220]; también hay cepas pertenecientes al género *Bacillus* capaces de sintetizarlo como las expuestas por Mazhar *et al.* [221].

El fósforo es uno de los más importantes macronutrientes, esencial para el desarrollo de los seres vivos. El suelo suele presentar reservas de fósforo, pero estas se encuentran en forma de fósforo inorgánico lo cual lo hace inviable para la captura por plantas. Ciertas bacterias presentan la capacidad de solubilizar el fósforo inorgánico, algunos de los géneros bacterianos con cepas con esta capacidad son *Achromobacter*, *Burkholderia*, *Agrobacterium*, *Micrococcus*, *Pseudomonas*, *Rhizobium* y *Bacillus* [222]. La deficiencia de hierro es un problema común en las tierras de cultivo, destacando que el pH es uno de los principales factores que influyen en la disponibilidad de hierro, pues en suelos con pH básico los iones de hierro no se encuentran solubles y por tanto, no disponibles para plantas. Entre los efectos

por la deficiencia de hierro encontramos a la clorosis [223]; la clorosis por deficiencia de hierro se debe a que el hierro activa al ácido δ -aminolevulínico durante la síntesis de clorofila [224]. *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* (una leguminosa arbórea) [225].

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 [25, 226, 227, 228]. El uso de este género, como herramienta de biocontrol, se remonta a mediados de 1930, con *Bacillus thuringensis*, debido su capacidad para producir cristales con actividad insecticida [25]. *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 diferentes de genes *cry* [229].

En pruebas de cultivo doble de *B. subtilis* y *Fusarium verticillioides* (un hongo fitopatógeno), *B. subtilis* mostró un 60% de inhibición del crecimiento del hongo y una reducción en la producción de la fumiginina B1 (una micotoxina) producida por *F.*

verticilliodes [209]. *B. subtilis* también es capaz de inhibir el crecimiento de *Botrytis cinerea* (moho gris del tomate) *in vitro* [230]. Pruebas de antagonismo por co-cultivo entre *Heterobasidion parviporum* y *Heterobasidion annosum* (de los hongos patógenos más importantes a nivel forestal) contra *B. subtilis* mostraron la capacidad de la bacteria para inhibir el desarrollo de los hongos [226]. Compuestos volátiles emitidos por las cepas *B. subtilis* y *B. cereus* inhibieron el crecimiento de *Phytophthora infestans* (productor del tizón tardío en papa) [228]. *Bacillus velezensis* es capaz de controlar el crecimiento micelar de *Botrytis cinérea* (patógeno de muchas especies vegetales) y de promover el crecimiento de la planta de pepino, tras la eficiente colonización del colonizando suelo de la rizosfera [231]. También han sido utilizadas las sustancias producidas por bacterias del género *Bacillus*, como reportaron Ariza & Sánchez [232], quienes inhibieron el crecimiento de *Fusarium* sp. (hongos ampliamente distribuidos en el suelo) entre 70% al 100%, utilizando Iturina A, obtenida a partir de *B. subtilis*. Ajaz *et al.* [233] utilizaron *Bacillus* para la producción de nanopartículas de plata (Zero-valent nanoparticles, ZV-AgNPs), las cuales presentan actividad antifúngica contra *Colletotrichum falcatum* (responsable de antracnosis en casi todos los cultivos destinados a la producción de alimentos, fibras y forrajes a nivel mundial).

Algunas especies del género *Bacillus* y géneros relacionados han sido utilizadas con distintivos fines comerciales, como es el caso de las cepas

de *B. cereus* ATCC 14579, *Alkalihalobacillus clausii* ATCC 10317, *A. clausii* ATCC 21536, *A. clausii* ATCC 21537 y *A. clausii* DSM 8716, que han sido utilizados como probióticos, ya sea para humanos o animales; las cepas utilizadas como probióticos deben ser reconocidas como seguras bajo las directrices de la FAO y OMS [26]. Bacterias del género *Bacillus* también pueden ser utilizadas como productoras de sustancias de interés, como el caso de *B. subtilis*, que ha reportado la capacidad para 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 [234]. *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 [234]; *B. megaterium* es capaz de producir la vitamina B12, que funciona como cofactor en la síntesis y regulación de ADN, en la síntesis de ácidos grasos, en el metabolismo de proteínas y en la síntesis de hemoglobina. La producción industrial de esta vitamina por síntesis química requiere de hasta 60 etapas, lo cual es costoso; por ello, el uso de *B. megaterium* para la producción de vitamina B12 por fermentación es más accesible [27].

El género *Bacillus* también ha sido reconocido por su potencial para degenerar la salud en mamíferos; siendo la especie *B. cereus* la causante del síndrome diarreico en el hospedero, provocando calambres abdominales

y diarrea por la producción de una toxina emética (dodecadepsipéptido cerulida), que es 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), la enterotoxina no hemolítica (Nhe) y la citotoxina K (CytK), que son enterotoxinas formadoras de poros [213]. Algunas cepas de *B. cereus* han sido reconocidas como patógenos en ganado capaces de causar mastitis y aborto en vacas [23]. *B. anthracis* es el organismo causante del ántrax; esta bacteria ha sido investigada por su potencial como arma biológica desde la primera guerra mundial. *B. anthracis* puede expresar toxinas que causan hemorragia, edema y necrosis; también es capaz de sintetizar una cápsula de poliglutamilo, la cual inhibe la fagocitosis del huésped de la forma vegetativa; la infección ocurre a través de rupturas cutáneas (ántrax cutáneo) o a través de la mucosa (ántrax gastrointestinal), genera grandes cantidades de exotoxinas y puede causar una septicemia severa [235]. Esporas de *Bacillus anthracis* fueron utilizadas durante un atentado terrorista en 2001 en Estados Unidos. *B. licheniformis*, produce toxinas que se encuentran relacionadas con septicemia, peritonitis, oftalmítis e intoxicación por alimentos, entre los que se encuentra la leche [236], fórmulas de alimentación infantil, helado, pastel de carne molida, entre otros; los efectos de la infección incluyen calambres estomacales, vómito, diarrea, náuseas, dolor abdominal o ardor oral [237].

BACILLUS Y LA TOLERANCIA A METALES PESADOS

El proceso de biorremediación involucra el uso de microorganismos para la detoxificación y degradación de contaminantes ambientales [238]. El género *Bacillus* ha sido utilizado para la eliminación de residuos petroquímicos [28, 239, 240, 241], desechos de la industria de pulpa y papel [29, 242], remoción de desechos nitrogenados [243, 244], degradación de ésteres de ácido ftálico presentes en plastificantes [245], dechloración de efluentes de industria de curtiduría [246], entre otros. Sin embargo, el género *Bacillus* también ha sido utilizado para la optimización en procesos de fitorremediación de sitios contaminados con metales pesados [5]. Las bacterias pertenecientes a este género presentan diversos mecanismos que les permiten tolerar la presencia de metales pesados en el ambiente, entre los que podemos encontrar la exclusión, biosorción, bioacumulación, entre otros [247]. 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 *Bacillus* [248, 249]. La producción de sustancias poliméricas extracelulares (EPS) es un mecanismo para evitar la toxicidad de metales pesados en las células; por ejemplo, *Bacillus vallismortis* aumenta la producción EPS al exponerse a Zn (II), con la presencia de grupos carboxilo y carbonilo. Se ha establecido que los grupos con cargas negativas son importantes para una unión eficiente entre EPS y los metales; de esta

manera, la toxicidad del Zn (II) se ve reducida [248]. 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 plomo [250]. *Bacillus subtilis* tiene la capacidad de lixiviar de 22 a 30 ng de vanadio a partir de rocas de basalto olivino [252].

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 el gen *nccA* (resistencia a Ni-Co-Cd), el gen *hant* (transportador de alta afinidad a níquel), el gen *van2* (resistencia a vanadio), o el gen *smtAB* (proteína de unión a metales) [253]. *Bacillus 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 cobre [72]. El operón *mer* está organizado en un clúster de genes involucrados en la resistencia sistémica hacia la intoxicación por mercurio. El operón está constituido por una región regulatoria *merR* que se activa ante la presencia de mercurio, los genes *merP*, *merT* y *merC* codifican a tres proteínas de membrana MerP, MerT y MerC, respectivamente, que son las encargadas de reconocer y movilizar al mercurio [71]. *mer A* codifica para la enzima con actividad citosólica mercurio reductasa [254]. *B. megaterium* [75] y *B. thuringiensis* presentan el operón *mer* [255]. *B. cereus* expresa al operón *mer*, lo cual le brinda la

capacidad de reducir Hg^{2+} a Hg^0 , por la actividad de la enzima citosólica mercurio reductasa (MerA); también presenta la capacidad de ruptura de los enlaces entre C-Hg de compuestos organomercuriales por la expresión de la liasa organomercurial (MerB) que se encuentra codificada por *merB* [254].

Bacillus presenta el gen *chrR* el cual codifica a la enzima citosólica reductasa-cromato-dependiente de NADH (hidruro de nicotinamida adenina dinucleótido), para la reducción de Cr (VI) a Cr (III), capacidad que no todas las bacterias tolerantes a Cr (VI) presentan [247]. *B. methylotrophicus* es capaz de reducir al Cr (VI) por la expresión de la cromato-reductasa, con mayor actividad en el medio extracelular en comparación con el interior de la célula [256]. *B. liqueniformis* expresa a gen *copC*, el cual está asociado con el secuestro y transporte de cobre; a *chrB*, asociado a la resistencia a cromo; *nccA*, relacionado con la resistencia a níquel, cobalto y cadmio; y al gen *cnrA3*, participe en la resistencia a níquel y cadmio [257]. *Bacillus flexus* presenta el gen *arsC*, el cual le permite la detoxificación de arsénico [258]. *Bacillus megaterium* posee el gen *zosA*, el cual codifica para una ATPasa tipo P, transportadora de zinc; el gen *cada*, que codifica para una proteína ATPasa tipo P transportadora de cadmio; y el gen *cadC*, que codifica para una proteína accesoria en el sistema de eflujo de cadmio [259]. Se han realizado modificaciones genéticas para la optimización del proceso de biorremediación de metales pesados empleando este género; *Bacillus subtilis* expresa el gen

arsM de *Cyanidioschyzon merolae* (un alga) que codifica a la enzima As (III)-S-adenosilmetionina-metil-transferasa (ArsM), lo cual le permite la metilación y volatilización de arsénico a temperaturas de hasta 50 °C en la manufactura de compostaje [260].

BACILLUS COMO HERRAMIENTA BIOTECNOLÓGICA PARA LA RECUPERACIÓN DE SUELOS CONTAMINADOS POR METALES PESADOS

La presencia de metales pesados en el suelo tiene efectos negativos en éste, como la reducción de su fertilidad; la presencia de estos metales en el suelo puede producir la reducción de la producción de los cultivos al generar un desbalance de nutrientes debido a la translocación de los metales a diferentes órganos en la planta, promoviendo el daño metabólico, la generación de especies reactivas de oxígeno, el aumento de la actividad de la superóxido dismutasa y lipoxigenasa relacionadas con la senescencia, la síntesis de etileno por estrés y, la reducción en el secuestro de hierro, entre otros [5]. En el caso de sitios contaminados con metales pesados, se ha buscado la implementación de técnicas para la remoción o transformación de estos metales a especies menos tóxicas. Un amplio grupo de bacterias pertenecientes al género *Bacillus* crecen en ambientes con altas concentraciones de metales pesados, y con el potencial para ejecutar la fitorremediación (Tabla 11). El potencial de fitorremediación de *Bacillus* reúne

las propiedades de estimulación del crecimiento vegetal, así como la tolerancia de la bacteria a la presencia de metales pesados en el ambiente; incluso, al proceso de fitorremediación se le puede incorporar la actividad de otro tipo de microorganismos, como los hongos micorrícicos, los cuales también estimulan el desarrollo vegetal. Se ha observado un mejoramiento en los procesos de detoxificación de sitios contaminados con metales pesados al emplear este tipo de estrategias [261, 262, 263, 264, 265, 266, 267].

Se han reportado cepas del género *Bacillus* con capacidad de biorremediación de metales pesados en depósitos de carbón [268], aguas residuales industriales [269] o sedimentos de curtiduría [247]. Los aislados de ambientes contaminados presentan funciones catabólicas especializadas que les permiten sobrevivir en condiciones ambientales extremas; siendo así mismo, de utilidad en procesos de biorremediación [159]. Mandal *et al.* [270] utilizaron dos cepas bacterianas para la oxidación de arsenito a arseniato. *Lysinibacillus* sp. puede tolerar hasta 5,768 mg de As (III)·L⁻¹ y 42,022 mg de As (V)·L⁻¹, *Bacillus safensis* tolera hasta 6,592 mg de As (III)·L⁻¹ y 54,028 mg de As (V)·L⁻¹. *Lysinibacillus* es capaz de degradar el 32% y *B. safensis* el 37% del As (III) presente en el medio. Diversos autores han implementado el uso de *Bacillus* en procesos de biorremediación de metales pesados. Hare & Chowdhary [271] estimaron la facultad de *Bacillus litoralis* y *Bacillus infantis* como promotoras de crecimiento para *Oryza sativa* (arroz) en

Tabla 11. Eficacia de bacterias del género *Bacillus*, para la remoción de metales pesados

Especie	Metales	Mecanismo	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%	[271]
<i>Bacillus safensis</i>	As	Oxidación	Oxidación de As (III) a As (V) hasta en 37.54%	[270]
<i>Bacillus flexus</i>	As	Oxidación	Oxidación de As (III) a As (V) en 70%	[271]
<i>Bacillus infantis</i>	As	Oxidación	Oxida en 96% As (III) a As (V)	[272]
<i>Bacillus subtilis</i>	Cd	Biosorción	Captura de Cd hasta 5.22 veces mayor	[217]
<i>Bacillus</i> sp.	Cd y Pb	Producción de EPS apoyando biorremediación con hongos	Aumento en la captura de Cd del 26.5%	[276]
<i>Bacillus cereus</i>	Cd y Pb	Fitorremediación	Efectos adversos en el desarrollo de la planta	[277]
<i>Bacillus</i> sp.	Cd, Pb y As	Fitorremediación	Aumento en el porcentaje de germinación y biomasa	[262]
<i>Bacillus thuringiensis</i>	Co	Captura	Remoción de hasta 40% de Co.	[278]
<i>Bacillus licheniformis</i>	Co	Reducción	Reducción del 100% de [Co (III)-EDTA]- a [Co (II)-EDTA]-2	[279]
<i>Bacillus dabaoshanensis</i>	Cr	Reducción	Reducción total de Cr (VI) a Cr (III)	[280]
<i>Bacillus safensis</i>	Cr	Reducción	Reducción del 72% de Cr (VI) a Cr (III)	[281]
<i>Bacillus subtilis</i>	Cr	Producción de EPS	Reducción de Cr (VI) a Cr (III) hasta en un 93.5%	[282]
<i>Bacillus</i> sp.	Cr	Reducción	Reducción total de Cr (VI) a Cr (III)	[283]
<i>Bacillus aryabhatai</i> , <i>Bacillus stratosphericus</i> , <i>Bacillus zhangzhouensis</i> , <i>Bacillus cereus</i> y <i>Bacillus flexus</i>	Cr	Fitorremediación	Reducción en la concentración de Cr en trigo	[221]
<i>Bacillus subtilis</i>	Cr	Reducción	Reducción de Cr (VI) a Cr (III) de hasta 84%.	[284]
<i>Bacillus cereus</i> y <i>Bacillus subtilis</i>	Cr	Reducción	Reducción de Cr (VI) a Cr (III) de hasta 82.5%	[285]
<i>Bacillus</i> sp.	Cr	Reducción	Reducción de Cr (VI) a Cr (III) de hasta 89%	[286]
<i>Bacillus</i> sp.	Cr	Fitorremediación	Biosorción del 95% de Cr (VI).	[287]
<i>Bacillus licheniformis</i>	Cu y Zn	Producción de EPS	Reducción de Cu de hasta 34.5% y Zn hasta 54.4%	[288]
<i>Bacillus</i> sp.	Hg	Reducción	Remoción del 60% de Hg del medio	[289]
<i>Bacillus cereus</i>	Mn	Biosorción	Captura de hasta 99% de Mn (II)	[290]
<i>Bacillus</i> sp.	Pb	Biosorción	Captura de Pb de hasta 95%	[291]
<i>Bacillus thuringiensis</i>	Pb	Biosorción	Captura de Pb hasta concentraciones de 600 mg Pb·L ⁻¹	[292]
<i>Bacillus</i> sp.	Pb y Ni	Captura	Reducción del 97.5% de Pb y 76% de Ni	[293]
<i>Bacillus licheniformis</i> , <i>Bacillus cereus</i> y <i>Bacillus subtilis</i>	Pb, Cu y Cd	EPS	Reducción de Pb en 86%, Cd en 16% y Cu en 8%	[294]
<i>Bacillus 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%	[295]
<i>Bacillus</i> sp.	Sb	Oxidación	Oxidación de Sb (III) a Sb (V)	[296]
<i>Bacillus mafeterium</i>	Se	Reducción	Reducción de Se (IV) a Se (0) en 90%	[297]

condiciones de contaminación con arsénico. *B. litoralis* y *B. infantis* presentan tolerancia al arsénico. Ambas bacterias fueron capaces de incrementar la longitud de la raíz, la longitud de los brotes y el aumento de la biomasa, así como la reducción en la acumulación de As (III) en la planta.

Mujewar *et al.* [272] utilizaron a *Bacillus flexus* para la eliminación de As (III), oxidándolo a una forma menos dañina como el As (V). *B. flexus* presenta tolerancia al As (III), y puede oxidar e internalizar el As (V); presenta el gen *aiOAB* que codifica para una enzima de espacio periplásmico la arsenito-oxidasa, responsable de la oxidación de arsenito a arseniato. También presenta diversos grupos funcionales en su membrana, como carboxilos, proteínas, péptidos, ácidos grasos, aminos alifáticos y alquenos, que interactúan con el arsenito funcionando como sitios de unión para su bioacumulación. El mecanismo reportado de esta cepa para combatir la toxicidad de arsenito es la formación de agregados. Sher *et al.* [273] plantearon el uso de cepas de *Bacillus* y *Pseudomonas* para la oxidación de arsenito a arseniato. *Pseudomonas monteilii* y *Bacillus infantis* son capaces de tolerar metales como As, Cr, Hg, Se, Pb, Co, Cd y Zn, con la capacidad de oxidar el As (III) a As (V), eliminando cerca del 90% del metal del medio. Khan *et al.* [217] implementaron el uso de sideróforos extraídos de *Aspergillus nidulans* para potenciar la biorremediación de cadmio por *Bacillus subtilis*. Los estudios mostraron una mayor acumulación de iones cadmio en *B. subtilis* en presencia de los sideróforos, lo que

sugiere la posibilidad de eliminar los iones cadmio mediante el empleo de quelantes, mejorando los mecanismos de biorremediación para metales pesados. Bhakat *et al.* [274], reportaron el empleo de otras bacterias tolerantes al arsénico, entre las que destacan la actividad de *Microbacterium*, *Shinella*, *Micrococcus* y *Bacillus*, por su potencial para oxidar As (III), actividad que comparten con *Pseudomonas jessenii* [275].

De manera similar, Cao *et al.* [276] utilizaron sideróforos obtenidos de cepas de los géneros *Bacillus*, *Pseudomonas* y *Serratia* para apoyar la biorremediación de cadmio y plomo por el hongo *Oudemansiella radicata* (hongo de uso medicinal). La aplicación de los sideróforos de *Bacillus* aumentó el peso seco de *O. radicata* en un 32% en comparación con el control. Mientras que, en presencia de metales pesados, se redujeron los niveles de peroxidación de lípidos, lo cual denota la capacidad de los sideróforos para mitigar el daño de metales pesados a 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. Los sideróforos producidos por *Bacillus* presentaron un mejor desempeño en la captura de cadmio, aunque son menos eficientes para la captura de plomo, siendo los sideróforos de *Pseudomonas* los más efectivos. Nath *et al.* [277] valoraron el papel de una cepa de *Pseudomonas* y otra de *Bacillus* como promotoras de crecimiento para *Oryza sativa* en suelo contaminado con cadmio y plomo. Tanto *Bacillus cereus* como *Pseudomonas*

aeruginosa toleran elevadas concentraciones de estos metales. Ambas cepas estimularon el desarrollo vegetal, aumentando la longitud radicular en *O. sativa*, y produciendo un mayor desarrollo de las plántulas. *Bacillus cereus*, aunque puede resistir altas concentraciones de metales pesados, retrasó la germinación y fomentó un menor desarrollo de las plántulas sometidas a estrés por estos metales. Khan *et al.* [217] utilizaron al hongo *Aspergillus nidulans* para producir sideróforos para la biorremediación de Cd por *B. subtilis*; observando una biosorción cinco veces superior a los controles. Awwad & Salem [298], reportaron la afinidad de iones cadmio por grupos amino e hidroxilo en hojas de *Eriobotrya japonica* (comúnmente llamado níspero japonés).

Pandey *et al.* [262] utilizaron inóculos de *Ochrobactrum* sp. tolerante a cadmio, y a *Bacillus* sp. tolerante a arsénico y plomo como promotoras de crecimiento para *Oryza sativa*. Tanto *Ochrobactrum* como *Bacillus* son productores de sideróforos y de la enzima ACC-desaminasa. Ambas cepas incrementaron el porcentaje de germinación, el desarrollo radicular, y el tamaño de la plántula en general. Las cepas en conjunto reducen la concentración de las enzimas superóxido dismutasa y de malondialdehído, lo cual indica la reducción del estrés por metales pesados en la planta. Kummar *et al.* [278] implementó el uso de *Bacillus thuringiensis* para la remoción de cobalto, logrando la remoción del 40% del metal presente en el medio. Paraneeswaran *et al.* [279] mostraron la reducción de cobalto en

desechos nucleares. *Bacillus licheniformis* tiene la capacidad de reducir $[\text{Co (III)-EDTA}]^{-1}$ a $[\text{Co (II)-EDTA}]^{-2}$. El $[\text{Co (III)-EDTA}]^{-1}$ es generado durante el manejo de desechos nucleares y difícil de remover del medio debido a su estabilidad y solubilidad; sin embargo, el $[\text{Co (II)-EDTA}]^{-2}$ 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 hierro. *B. licheniformis* reduce 1 mM de $[\text{Co (III)-EDTA}]^{-1}$ a $[\text{Co (II)-EDTA}]^{-2}$ al 100% después de 216 horas. Cui *et al.* [280] evaluaron la capacidad de *Bacillus dabaoshanensis* para reducir el Cr (VI) a Cr (III). Esta bacteria que presenta tolerancia a Cr (VI), y es capaz de reducir completamente 50 mg L⁻¹ de Cr (VI) en 48 horas. Kalaimurugan *et al.* [281] utilizaron a *Bacillus safensis* para la reducción de Cr (VI); esta cepa es tolerante hasta 500 mg de Cr (VI)·L⁻¹, y presenta la capacidad de reducir el 72% de 100 mg Cr (VI)·L⁻¹.

Liu *et al.* [282] optimizaron el proceso de remoción de Cr (VI) por parte de *Bacillus subtilis*; para ello, implementaron el uso de diferentes variables, entre las que encontramos el pH inicial, la concentración inicial de Cr (VI), el tiempo y la concentración de inóculo; alcanzando valores de remoción del 93%. *B. subtilis* reduce Cr (VI) a Cr (III) de manera extracelular debido a la producción de EPS como polisacáridos, ácidos nucleicos y proteínas, estimuladas por las condiciones adversas. Masood & Malik [283] emplearon una cepa de *Bacillus* para la reducción de Cr (VI) a Cr (III); la cepa utilizada presentaba

tolerancia a Cr (VI), a Cr (III), así como a cadmio, cobre, cobalto, magnesio, níquel y zinc. La bacteria reduce completamente 50 mg de Cr (VI)·L⁻¹ en 24 horas.

Mazhar *et al.* [221] utilizaron un consorcio bacteriano para estimular el crecimiento de plantas de trigo en suelo contaminado con cromo. El consorcio estaba compuesto por *Bacillus aryabhatai*, *Bacillus stratosphericus*, *Bacillus zhangzhouensis*, *Bacillus cereus*, *Bacillus flexus* y *Lysinibacillus fusiformis*; todos tolerantes a níquel, plomo y cromo. Las cepas presentan la capacidad para solubilizar hierro y fosfato, y son productoras de AIA. En trigo, el estrés inducido por Cr (2.5 mg kg⁻¹) reduce la longitud del brote y de la raíz; al utilizar el inóculo bacteriano se observó un incremento en la longitud del brote en un 22% y de la raíz en un 23%, un aumento en la producción de clorofila del 28%, del contenido de prolina en un 20% y del azúcar en un 9%. La concentración de cromo en la planta se vio reducido por el inóculo. Rehman & Faisal [282] utilizaron a *Cellulosimicrobium cellulans*, a *Exigubacterium* sp. y *Bacillus pumilus*, los tres tolerantes a cromo, para la reducción de Cr (VI) a Cr (III). *Exigubacterium* sp. redujo el 77% el Cr (VI); *C. cellulans* redujo en un 91% la concentración de Cr (VI); y *Bacillus pumilus* en un 84%. Roychowdhury *et al.* [285] también utilizaron diferentes cepas bacterianas para la remoción de Cr (VI). *Micrococcus luteus* redujo el 90% el Cr (VI); *Straphylococcus pasteurii* redujo en un 60% la concentración de Cr (VI); *Bacillus cereus* redujo el 82.5% el contenido de Cr (VI), y *Bacillus subtilis* en un

50% la concentración de Cr (VI). Shah y Archana [286] observaron bacterias del género *Bacillus* con tolerancia a mercurio, cadmio, cromo, cobre y níquel, con la capacidad de remover al 100% el Cr (VI) del medio.

Ramírez *et al.* [287] describieron la capacidad de fitorremediación de plantas de mezquite (*Prosopis laevigata*), y de la microbiota asociada, presente en los nódulos de sus raíces. Se reportaron algunas cepas de *Bacillus* sp. con una elevada tolerancia, así como de biosorción de cromo, superior al 95%. *Bacillus* sp. también mostró la capacidad de fijación de nitrógeno en presencia de 0, 10 y 25 mg Cr (VI)·L⁻¹, estimulando el crecimiento de las plantas. Plantas de mezquite, asociadas a estas bacterias, son capaces de acumular hasta 14,000 mg Fe·kg⁻¹, 1,600 mg Ti·kg⁻¹ y 2,500 mg Zn·L⁻¹. Además, la bacteria es capaz de producir veintinueve compuestos volátiles orgánicos que inducen a la interrupción de dormancia en semillas de mezquite expuestas a Cr (VI), así como de estimular el desarrollo de las plántulas [286]. Las mismas bacterias son capaces de proporcionar a la planta una protección contra el ataque de hongos fitopatógenos, como se demostró en plantas de tomate infectadas por *Fusarium oxysporum* [289].

Biswas *et al.* [290] caracterizaron a las bacterias intestinales del gusano de tierra *Metaphire posthuma* para explorar su potencial en la biorremediación de cobre y zinc e identificaron a *Bacillus licheniformis* como parte de la microbiota intestinal. La cepa presenta tolerancia a zinc y a cobre y favorece la remoción del 35% del cobre, y del 54% del

zinc. Esta cepa puede fungir como bacteria promotora de crecimiento para *Vigna radiata* (soja verde), aumentando el porcentaje de germinación así como la longitud de los brotes y de la raíz, solubiliza el fosfato inorgánico y produce AIA. Giri *et al.* [291] evaluaron la capacidad de una cepa de *Bacillus* tolerante a mercurio, zinc, cobre, hierro y cadmio, para la remoción de mercurio del medio. Esta cepa removió el 60% de HgCl₂ del medio.

Xu *et al.* [292] reportaron que *Bacillus cereus* favorece la biosorción del 99% del Mn (II) del medio. Se identificó 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.* [293] evaluaron la capacidad de *Bacillus* sp. para la biosorción de plomo. Esta cepa, tolerante a plomo, presentó una eficacia de remoción de Pb del 95%. La captura de Pb ocurre por grupos fosfatos, hidroxilos, carbonilos, aminos de peptidoglicanos, ácido teicoico y lipopolisacáridos en la cubierta celular, los cuales fungen como trampas para el plomo, evitando su entrada a la célula. Chen *et al.* [294] determinaron la participación de los grupos funcionales en la biosorción de plomo presentes en la pared celular de *Bacillus thuringiensis*. La bacteria captura y transforma Pb (II) en nanocristales minerales, y emplea grupos carboxilo, amida y fosfato para la biosorción de este metal. Diba *et al.* [295] compararon la capacidad de cepas halófilas en la biorremediación de plomo y níquel e identificaron a cepas de *Bacillus*, *Oceanobacillus* y de *Salinococcus* con elevada

tolerancia a ambos metales, así como de su eliminación casi total del medio. Shammer [296] utilizó tres cepas diferentes de *Bacillus* para la remoción de plomo, cadmio y cobre, el grupo reportó que *Bacillus cereus*, *B. subtilis* y *B. licheniformis* producen EPS, para la remoción del ambiente de los tres metales en porcentajes importantes.

Kumari & Singh [297] utilizaron diferentes consorcios bacterianos para la fitorremediación, junto con *Brassica juncea* (una especie de planta de mostaza), de cenizas con plomo, manganeso, zinc, cromo y níquel. Las bacterias utilizadas fueron *Paenibacillus macerans*, *Micrococcus roseus*, *Bacillus pumilus* y *Bacillus endophyticus*; el empleo de consorcios microbianos permitió un aporte de nitrógeno y fósforo a la planta, así como la estimulación del crecimiento de la planta. La planta tuvo un mejor desarrollo y fue capaz de acumular en sus tejidos a los metales pesados a través de su traslocación a las partes aéreas de la planta. Li *et al.* [298] utilizaron una cepa de *Bacillus* sp. para la oxidación de Sb (III) a Sb (V). La cepa con tolerancia a antimonio es capaz de oxidar 50 µM de Sb (III) por día. De manera similar Mishra *et al.* [299] implementaron la reducción de Se (IV) a Se (0) mediante la actividad de *Bacillus megaterium*.

Mazhar *et al.* [221] utilizaron consorcios bacterianos como apoyo para el crecimiento de trigo en suelo contaminado con cromo. Los consorcios presentaron la capacidad de solubilizar hierro y fosfato, produjeron AIA, aumentaron la longitud de los brotes, de la raíz, la concentración de clorofila en las plantas, y

redujeron la concentración de cromo en la planta. Debido a la importancia del hierro para la producción de clorofila [223, 224], la capacidad para solubilizar hierro a través de las bacterias es muy importante para generar una mayor concentración de clorofila. Juwarkar *et al.* [20], reportaron que, el acoplamiento de técnicas, como el uso de rizobacterias promotoras de crecimiento junto con bioabsorbentes (biocarbón), mejoran significativamente los resultados, como un mejor desarrollo de la planta junto con la reducción de metales pesados en los cultivos de trigo.

CONCLUSIÓN

Los metales pesados son elementos de gran importancia para el desarrollo continuo de la civilización; sin embargo, los efectos de éstos en el ambiente deben ser analizados, con la finalidad de evitar un daño ambiental y potencial daño a la salud humana. Ante esta problemática, se han desarrollado diversas técnicas para la eliminación de metales pesados que, aunque en muchos casos logran la remoción del contaminante, lo hacen a elevados costos, pueden generar otro tipo de contaminantes, o simplemente lo transportan de un punto a otro, sin eliminar el problema. Por ello, es necesaria la implementación de técnicas amigables con el ambiente y económicas como las técnicas biológicas. La llamada “biorremediación” ha demostrado ser una tecnología que pueden desempeñar la tarea de detoxificación de manera óptima ante diferentes condiciones ambientales; cabe

destacar la importancia de continuar con la investigación de los mecanismos biológicos empleados, así como la naturaleza de los sitios a tratar, con la finalidad de obtener óptimos resultados. Bacterias pertenecientes al género *Bacillus* han mostrado ser una herramienta biotecnológica muy útil para la biorremediación de sitios contaminados con metales pesados, mostrando el gran potencial de este grupo microbiano para resolver los problemas ambientales asociados a la presencia de metales.

CONFLICTO DE INTERESES

Los autores declaran no tener conflictos de intereses.

AGRADECIMIENTOS

A los proyectos VIEP-BUAP: 100236655-VIEP2021, 100236655-VIEP2022, 100429633-VIEP2022 por el financiamiento para el presente trabajo.

REFERENCIAS

- [1]. Alloway B J. Sources of Heavy Metals and Metalloids in Soils. En: Alloway B. Ed. Heavy Metals in Soils. Environmental Pollution, 22. Springer; 2013; 11-50.
- [2]. Kumar R, Agrawal M. Biological effects of heavy metals: An overview. J ENVIRON BIOL 2005; 26: 301-313.
- [3]. Dixit R, Malaviya D, Pandiyan K, Singh U, Sahu A, Shukla R, *et al.* Bioremediation of heavy metals from soil and aquatic

environment: an overview of principles and criteria of fundamental processes. SUSTAINABILITY-BASEL 2015; 7 (2): 2189-2212.

[4]. Su C, Jiang L, Zhang W. A review on heavy metal contamination in the soil worldwide: situation, impact and remediation techniques. Environ S C 2014; 3 (2): 24-38.

[5]. Sharma A, Kapoor D, Wang J, Shahzad B, Kumar V, Bali A, *et al.* Chromium bioaccumulation and its impacts on plants: an overview. PLANTS 2020, 9 (100).

[6]. Mignorance M, Valdés B, Oliva S. Strategies of heavy metal uptake by plants growing under industrial emissions. ENVIRON INT 2007, 33, 514- 520.

[7]. Gonçalves Jr. A, Nacke H, Schwantes D, Nava I, Strey L. Phytoavailability of toxic metals and productivity in wheat cultivated under residual effect of fertilization in soybean culture. WATER AIR SOIL POLL 2011; 220: 205-211.

[8]. Nacke, H, Gonçalves A, Schwantes D, Nava I, Strey L, Coelho G. Availability of heavy metals (Cd, Pb, and Cr) in agriculture from commercial fertilizers. ARCH ENVIRON CON TOX 2013; 64 (4), 537-544.

[9]. Sabuwa, M, Salihu, M, Baba, M, Bala, A. Determination of concentrations of some heavy metals in the blood of Holstein-Friesian cattle on a farm in Nasarawa State, Nigeria. SJVS 2019; 17 (3): 17-23.

[10]. Bosso S, Enzweiler J. Bioaccessible lead in soils, slag, and mine wastes from an

abandoned mining district in Brazil. ENVIRON GEOCHEM HLTH 2008; 30 (3): 219-229.

[11]. Chen Y, Guo Y, Su H, Hsueh Y, Smith T, Ryan L, *et al.* Arsenic methylation and skin cancer risk in southwestern Taiwan. J OCCUP ENVIRON MED 2003; 45 (3): 241-248.

[12]. Chen Y, Su H, Guo Y, Hsueh Y, Smith T, Ryan L, *et al.* Arsenic methylation and bladder cancer risk in Taiwan. CANCER CAUSE CONTROL 2003; 14 (4): 303-310.

[13]. Moon K, Guallar E, Navas-Acien A. Arsenic exposure and cardiovascular disease: an update systematic review. CURR ATHEROSCLER REP 2012; 14 (6): 542-555.

[14]. Quansah R, Armah F, Essumang D, Luginaah I, Clarke E, Marfoh K, *et al.* Association of arsenic with adverse pregnancy outcomes/infant mortality: a systematic review and meta-analysis. ENVIRON HEALTH PERSP 2015; 123 (5): 412-421.

[15]. Inaba T, Kobayashi E, Suwazono Y, Uetani M, Oishi M, Nakagawa H, *et al.* Estimation of cumulative cadmium intake causing Itai-itai disease. TOXICOL LETT 2005; 159 (2): 192-201.

[16]. Hartwig A. Cadmium and cancer. En: Sigel A, Sigel H, Sigel R, Eds. Cadmium: from toxicity to essentiality. Springer; 2013; pp. 491-507.

[17]. Hyder O, Chung M, Cosgrove D, Herman J, Li Z, Firoozmand A, *et al.* Cadmium exposure and liver disease among US adults. J GASTROINTEST SURG 2013; 17 (7): 1265-1273.

- [18]. Kobayashi G, Bastos M, Tchounwou P. Lead levels in human milk and children's health risk: a systematic review. *REV ENVIRON HEALTH* 2010; 25 (3): 243-254.
- [19]. Monnot A, Christian W, Abramson M, Follansbee M. An exposure and health risk assessment of lead (Pb) in lipstick. *FOOD CHEM TOXICOL* 2015; 80: 253-260.
- [20]. Azubuiké CC, Chikere CB, Okpokwasili GC. Bioremediation techniques-classification based on site of application: principles, advantages, limitations and prospects. *WORLD J MICROB BIOT* 2016; 32 (11): 1-18.
- [21]. Juwarkar AA, Singh SK, Mudhoo A. A comprehensive overview of elements in bioremediation. *REV ENVIRON SCI BIO* 2010; 9: 215-288
- [22]. Tekere M. Microbial bioremediation and different bioreactors design applied. En: Jacob-Lopes E, Ed. *Biotechnology and bioengineering*. IntechOpen 2019; 1-19.
- [23]. Logan NA, De Vos P. Genus I. *Bacillus* Cohn 1872, 174 AL. En: De Vos P, Garrity G M, Jones D, Krieg N R, Ludwig W, Rainey F A, *et al.* Eds. *Bergey's manual of systematic bacteriology*. Volume three. The Firmicutes. Springer 2009; 21-128.
- [24]. Lastochkina O, Seifikalhor M, Aliniaiefard S, Baymiev A, Pusenkova L, Garipova S, *et al.* *Bacillus* Spp.: Efficient biotic strategy to control postharvest diseases of fruits and vegetables. *PLANTS* 2019; 8 (97): 1-24.
- [25]. Caulier S, Gillis A, Colau G, Licciardi F, Liépin M, Desoignies N. Versatile antagonistic activities of soil-borne *Bacillus* spp. and *Pseudomonas* spp. against *Phytophthora infestans* and other potato pathogens. *FRONT MICROBIOL* 2018; 9 (February): 1-15.
- [26]. Celandroni F, Vechione A, Cara A, Mazzantini D, Lupetti A, Ghelardi E. Identification of *Bacillus* species: implication on the quality of probiotic formulations. *PLOS ONE* 2019; 14 (5).
- [27]. Mohammed Y, Lee B, Kang Z., Du G. Development of a two-step cultivation strategy for the production of vitamin B12 by *Bacillus megaterium*. *MICROB CELL FACT* 2014; 13: 1-10.
- [28]. Kim J. Isolation and characterization of a biosurfactant-producing bacterium *Bacillus pumilus* IJ-1 from contaminated crude oil collected in Taean, Korea. *J KOREAN SOC APPL BI* 2014; 57: 5-14.
- [29]. Salem M, Ahamd S, Ahmad M. Potential of *Bacillus cereus* for bioremediation of pulp and paper industrial waste. *ANN MICROBIOL* 2014; 64 (2): 823-829.
- [30]. Bakiyaraj R, Baskaran L, Chidambaram A, Mahakavi T, Santhoshkumar M. Bioremediation of chromium by *Bacillus subtilis* and *Pseudomonas aeruginosa*. *Int J Curr Microbiol Appl Sci* 2014; 3 (9): 715-719.
- [31]. Gooch J W. Heavy Metals. En: Gooch J.W. Ed. *Encyclopedic Dictionary of Polymers*. Springer 2011.
- [32]. Alloway B J. Introduction. En: Alloway B. Ed. *Heavy Metals in Soils*. Environmental Pollution (vol. 22, pp. 3-9). Springer 2013.

- [33]. He Z, Yang X, Stoffella P. Trace elements in agroecosystems and impacts on the environment. *J TRACE ELEM MED BIO* 2005; 19 (2-3); 125-140.
- [34]. Royal Society of Chemistry. (s. f.) Periodic table. <https://www.rsc.org/periodic-table/trends>
- [35]. Kabata-Pendias, A. Trace elements in soils and plants. 3er ed. EUA: CRC press 2001.
- [36]. Nieboer E, Richardson D. The replace of the nondescript term heavy metals´ by a biologically and chemically significant classification of metal ions. *ENVIRON POLLUT B* 1980; 1(1): 3-26.
- [37]. Tchounwou P, Yedjou C, Patlolla A, Sutton D. Heavy metals toxicity and the environment. *EXPER SUPPL* 2012; 101: 133-164.
- [38]. Ranjan P, Rao K, Kumar A, Ramanathan A. 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* (vol. 25, pp. 343-363). Springer 2018.
- [39]. Jena V, Gupta S, Dhundhel R S, Matic N, Bilinski S F, Devic, N. Determination of total heavy metal by sequential extraction from soil. *IJEST* 2013; 3 (1): 35-38.
- [40]. Friedlova M. The Influence of Heavy Metal son Soil Biological and Chemical Properties. *SOIL WATER RES* 2010; 5 (1): 21-27.
- [41]. Massas I, Kalivas D, Ehaliotis C, Gasparatos D. Total and available heavy metal concentrations in soils of the Thriassio plain (Greece) and assessment of soil pollution indexes. *ENVIRON MONIT ASSESS* 2013; 185 (8): 6751-6766.
- [42]. Byers H, Kellogg C, Anderson M, Thorp J. Formation of soil, 948-978. USDA 1938.
- [43]. Gupta R, Abrol I, Finkl C, Kirkham M, Arbestain M, Macías F, *et al.* Soil. En: Chesworth, W. Ed. *Encyclopedia of soil science. Encyclopedia of Earth sciences series.* Springer 2008.
- [44]. García C, Taboada T. Factors of soil formation. En: Chesworth, W. Ed. *Encyclopedia of soil science. Encyclopedia of Earth sciences series.* Springer (2008).
- [45]. Chapin F, Matson P, Vitousek P. Geology, soil, and sediments. En: *Principles of terrestrial ecosystem ecology.* Springer 2011
- [46]. Simonson R. Outline of a generalized theory of soil genesis. *SOIL SCI SOC AM J* 1959; 23 (2): 152-156.
- [47]. Ogbeibu A, Omoigberale M, Ezenwa I, Eziza J, Igwe J. Using pollution load index and geoaccumulation index for the assessment of heavy metal pollution and sediment quality of the Benin river, Nigeria. *NE*, 2014; 2 (1), 1-9.
- [48]. Rabee A, Al-Fatlawy Y, Nameer M. Using pollution load index (PLI) and geoaccumulation index (I-Geo) for the assessment of heavy metals pollution in Tigris River sediment in Baghdad region. *ANJS* 2011, 14 (4), 108-114.
- [49]. Onjefu S, Kgabi N, Taole S. Heavy metals



seasonal distribution in shore sediment samples along the coastline of Erongo region, western Namibia. *European journal of scientific research* 2016, 139 (1).

[50]. Zhiyuan W, Dengfeng W, Huiping Z, Zhiping Q. Assessment of soils heavy metal pollution with principal component analysis and geoaccumulation index. *PROCEDIA ENVIRON SCI* 2011, 10, 1946-1952.

[51]. Alshahri F, El-Taher A. Assessment of heavy and trace metals in surface soil nearby an oil refinery, Saudi Arabia, using geoaccumulation and pollution indices. *ARCH ENVIRON CON TOX* 2018; 75 (3): 390-401.

[52]. Wedepohl K H. The composition of the continental crust*. *GEOCHIM COSMOCHIM AC* 1959, 59 (7), 1217-1232.

[53]. Bradl H. Sources and origins of heavy metals. En: *Heavy metals in the environment*. (Vol. 6, pp. 1-27). Interface science and technology 2005.

[54]. Manutchehr-Danai, M. Ed. *Dictionary of Gems and Gemology*. Springer 2009.

[55]. Oschmann W. Black Shales. En: Reitner J, Thiel V. Eds. *Encyclopedia of Geobiology*. *Encyclopedia of Earth Sciences Series*. Springer 2011.

[56]. Baturin G N. Stages of phosphorite formation on the ocean floor. *NATURE* 1971; 232 (29): 61-62.

[57]. Sykes J, Wright J, Trench A. Discovery, supply and demand: from metals of antiquity to critical metals. *APPL EARTH SCI* 2016, 125 (1), 3-20.

[58]. Lee C, Qi S, Zhang G, Luo C, Zhao L, Li X. Seven thousand years of records on the mining and utilization of metals from lake sediments in central China. *ENVIRON SCI TECHNOL* 2008, 42 (13), 4732-4738.

[59]. Radetzki M. Seven thousand years in the service of humanity- the history of copper, the red metal. *RESOUR POLICY* 2009; 34 (4): 176-184.

[60]. Alexander J W. History of the medical use of silver. *SURGICAL INFECTIONS* 2009; 10 (3): 289-292.

[61]. Parsons M, Percival J. 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, 1-20). Mineralogical association of Canada 2005.

[62]. Habashi F. Fire and the art of metals: a short history of pyrometallurgy. *MIN PROC EXT MET REV* 2005; 114 (3): 165-171.

[63]. Abhay S, Haines S. Repairing holes in the head: a history of cranioplasty. *NEUROSURGERY* 1997; 40 (3): 588-603.

[64]. Cooke C, Abbott M, Wolfe A, Kittleson J. A millennium of metallurgy recorded by lake sediments from Morocochoa, Peruvian Andes. *ENVIRON SCI TECHNOL* 2007; 41 (10): 3469-3474.

[65]. Hosler D. Mesoamerican metallurgy: the perspective from the west. En: Roberts B, Thornton C. Eds. *Archaeometallurgy in global perspective* (329-359). Springer 2014.

[66]. Bentley R, Chasteen T. (2002) Arsenic

curiosa and humanity. J CHEM EDUC 2002; 7 (2): 51-60.

[67]. Hunt L. A history of iridium. PLATIN MET REV 1987; 31 (1): 32-41.

[68]. Chaston J. The growing industrial use of the platinum metals a quarter century of technological progress. PLATIN MET REV 1982; 26 (1): 3-9.

[69]. Villalobos J, Del-Pozo A, Campillo B, Mayen J, Serna S. Microalloyed steels through history until 2018: review of chemical composition, processing and hydrogen service. METALS-BASEL 2018; 8 (5): 351.

[70]. Bradford S, Cowan J. From traditional drug design to catalytic metallodrugs: a brief history of the use of metals in medicine. METALLODRUGS 2014;1 (1): 10-23.

[71]. Ju-Liang H, Ching-Yi C, Meng-Hsue C, Mei-Fang C, Jo-Shu C, Ginro E, *et al.* Expressing a bacterial mercuric ion binding protein in plant for phytoremediation of heavy metals. J HAZARD MATER 2009; 161 (2-3): 920-925.

[72]. Rivas-Castillo A, Orona-Tamayo D, Gómez-Ramírez M, Rojas-Avelizapa NG. Diverse molecular resistance mechanisms of *Bacillus megaterium* during metal removal present in a spent catalyst. BIOTECHNOL BIOPROCESS ENG 2017; 22 (3): 296-307.

[73]. Placek A, Grobelak A, Kacprzak M. Improving the phytoremediation of heavy metals contaminated soil by use of sewage sludge. INT J PHYTOREMEDIAT 2016; 18 (6): 605-618.

[74]. Rodríguez-Elizalde M A, Delgado-Alvarado A, González-Chávez MC, Carrillo-González R, Mejía-Muñoz JM, Vargas-Hernández M. Emergencia y crecimiento de plantas ornamentales en sustratos contaminados con residuos de mina. INTERCIENCIA 2010; 35 (1): 26-32.

[75]. Covarrubias SA, Peña JJ. Contaminación ambiental por metales pesados en México: problemática y estrategias de fitorremediación. REV INT CONTAM AMBIE 2017, 33, 7-21.

[76]. Mehmood S, Chaudhry M, Tufail M, Irfan N. Heavy metal pollution from phosphate rock used for the production of fertilizer in Pakistan. MICROCHEM J 2009; 91: 94-99.

[77]. He Z, Shentu J, Yang X, Baligar V, Zhang T, Stoffella P. Heavy metal contamination of soils: sources, indicators, and assessment. JEI 2015; 9: 17-18.

[78]. Koréneková B, Skalická M, Nad P. Concentration of some heavy metals in cattle reared in the vicinity of a metallurgic industry. VET ARHIV 2002; 72 (5): 259-268.

[79]. Ning C, Gao P, Wang B, Lin W, Jiang N, Cai K. Impacts of chemical fertilizer reduction and organic amendments supplementation on soil nutrient, enzymes activity and heavy metal content. J INTEGR AGR 2017; 16 (8): 1819-1831.

[80]. Salem M, Bedade D, Al-Ethawi L, Al-Waleed S. Assessment of physiochemical properties and concentration of heavy metals in agricultural soils fertilized with chemical fertilizers. HELIYON 2020; 6 (10): e05224.

- [81]. Wang X, Liu W, Li Z, Teng Y, Christie P, Luo Y. Effects of long-term fertilizer applications on peanut yield and quality and plant and soil heavy metal accumulation. *PEDOSPHERE* 2020; 30 (4): 555-562.
- [82]. Hei L, Jin P, Zhu X, Ye W, Yang Y. Characteristics of speciation of heavy metals in municipal sewage sludge of Guangzhou as fertilizer. *PROCEDIA ENVIRON SCI* 2016; 31: 232-240.
- [83]. SEMARNAT. 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 2007.
- [84]. Kharazi A, Leili M, Khazei M, Alikhani M, Shokoohi R. Human health risk assessment of heavy metals in agricultural soil and food crops in Hamadan, Iran. *J FOOD COMPOS ANAL* 2021; 100: 103890.
- [85]. Khan S, Cao Q, Zheng Y, Huang Y, Zhu Y. Health risks of heavy metals in contaminated soils and food crops irrigated with wastewater in Beijing, China. *ENVIRON POLLUT* 2008; 152: 686-692.
- [86]. Zhuang P, McBride M, Xia H, Li N, Li Z. Health risk from heavy metals via consumption of food crops in the vicinity of Dabaoshan mine, South China. *SCI TOTAL ENVIRON* 2009; 407: 1551-1561.
- [87]. Liu H, Probst A, Liao B. Metal contamination of soils and crops affected by the Chenzou lead/zinc mine spill (Hunan, China). *SCI TOTAL ENVIRON* 2005; 339: 153-166.
- [88]. Kachenko A, Singh B. Heavy metals contamination in vegetable grown in urban and metal smelter contaminated sites in Australia. *WATER AIR SOIL POLL* 2006; 169 (1): 101-123.
- [89]. Zeiner M, Rezić I, Steffan I. Analytical methods for the determination of heavy metals in the textile industry. *KUI* 2007; 56 (11): 587-595.
- [90]. Arivoli A, Mohanraj R, Seenivasan R. Application of vertical flow constructed wetland in treatment of heavy metals from pulp and paper industry wastewater. *ENVIRON SCI POLLUT R* 2015; 22 (17): 13336-13343.
- [91]. Sánchez A, de la Rosa J, González-Castanedo Y, Fernández-Camacho R, Alastuey A, Querol X, *et al.* High concentrations of heavy metals in PM from ceramic factories of Southern Spain. *ATMOS RES* 2010; 96 (4): 633-644.
- [92]. Lokhande R, Singare P, Pimple D. Toxicity study of heavy metals pollutants in waste water effluent samples collected from Taloja industrial estate of Mumbai, India. *RESOUR ENVIRON*; 1 (1): 13-19.
- [93]. Li J, Lu Y, Yin W, Gan H, Zhang C, Deng X, *et al.* (2009) Distribution of heavy metals in agricultural soils near a petrochemical complex in Guangzhou, China. *ENVIRON MONIT ASSESS*; 153 (1): 365-375.
- [94]. Abdullahi A, Ighalo J, Ajala O, Ayika S. Physicochemical analysis and heavy metals remediation of pharmaceutical industry effluents



using bentonite clay modified by H₂SO₄ and HCL. J TURKISH CHEM SOC; 7 (3): 727-744.

[95]. Liu G, Yu Y, Hou J, Xue W, Liu X, Liu Y, *et al.* An ecological risk assessment of heavy metals pollution of the agricultural ecosystem near a lead-acid battery factory. ECOL INDIC 2014; 47: 210-218.

[96]. Wu W, Wu P, Yang F, Sun D, Zhang D, Zhou Y. Assessment of heavy metal pollution and human health risks in urban soils around an electronics manufacturing facility. SCI TOTAL ENVIRON 2018; 630: 53-61.

[97]. Mazzei L, Musiani F, Ciurli S. The structure-based reaction mechanism of urease, a nickel dependent enzyme: tale of a long debate. J BIOL INORG CHEM 2020; 25 (6): 829-845.

[98]. Nicholas D, Nason A. Molybdenum and nitrate reductase II. Molybdenum as a constituent of nitrate reductase. J BIOL CHEM 1953; 207 (1): 353-360.

[99]. Boyd E, Anbar A, Miller S, Hamilton T, Lavin M, Peters W. A late methanogen origin for molybdenum-dependent nitrogenase. GEOBIOLOGY 2011; 9: 221-232.

[100]. Kennedy, D, Kennedy S, Blanchflower W, Scott J, Weir D, Molloy A, *et al.* Cobalt-vitamin B12 deficiency causes accumulation of odd-numbered, branched-chain fatty acids in the tissues of sheep. BRIT J NUTR 1994; 71: 67-76.

[101]. Conceição GMA, Hauser-Davis RA, Nunes de Souza A, Pierre VA. M, *et al.*

phytoremediation: general strategies, genetically modified plants and applications in metal nanoparticle contamination. ECOTOX ENVIRON SAFE 2016; 134: 133-147.

[102]. Ma Y, Rajkumar M, Zhang C, Freitas H. Beneficial role of bacterial endophytes in heavy metal. J ENVIRON MANAGE 2016; 174: 14-25.

[103]. US EPA. Supplement guidance for developing soil screening levels for superfund sites. 2002.

[104]. US EPA. Edition of the drinking water standards and health advisories tables. 2018.

[105]. SEMARNAT. 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 2003.

[106]. Chen C, Hsu L, Chiu H, Hsueh Y, Chen S, Wu M, *et al.* (2004) Ingested arsenic, cigarette smoking, and lung cancer risk: a follow-up study in arseniasis-endemic areas in Taiwan. JAMA 2004; 292 (24): 2984-2990.

[107]. States C, Srivastava S, Chen Y, Barchowsky A. (2008) Arsenic and cardiovascular disease. TOXICOL SCI 2008; 107 (2): 312-323.

[108]. Cholanians A, Phan A, Ditzel E, Camenisch T, Lau S, Monks T. From the cover: arsenic induces accumulation of α -synuclein: implications for synucleinopathies and neurodegeneration. TOXICOL SCI 2016; 153 (2): 271-281.

- [109] Li G, Sun G, Williams P, Nunes L, Zhu Y. Inorganic arsenic in Chinese food and its cancer risk. *ENVIRON INT* 2011; 37: 1219-1225.
- [110]. Rodríguez J, Mandalunis P. A review of metal exposure and its effects on bone health. *J TOXICOL* 2018; 2018.
- [111]. Molina N, Aguilar P, Cordovez C. Plomo, cromo III y cromo IV y sus efectos sobre la salud humana. *CIENC TECNOL SALUD VISUAL OCULAR* 2010; 8 (1): 77-88.
- [112]. Zefferino R, Piccoli C, Ricciardi N, Scrima R, Capitanio N. Possible mechanisms of mercury toxicity and cancer promotion: involvement of gap junction intercellular communications and inflammatory cytokines. *OXID MED CELL LONGEV* 2017; 2017.
- [113]. Rice K, Walker E, Wu M, Gillette C, Blough E. Environmental mercury and its toxic effects. *J PREV MED PUBLIC HEALTH* 2014; 47 (2): 74-83.
- [114]. Fernandes B, Barros L, Peçanha F, Wiggers G, Frizzera P, Ronacher M, *et al.* Toxic effects of mercury on the cardiovascular and central nervous system. *J BIOMED BIOTECHNOL* 2012; 2012.
- [115]. Genchi G, Sinicropi M, Carocci A, Lauria G, Catalano A. Mercury exposure and heart diseases. *INT J ENV RES PUB HE* 2017; 14 (1).
- [116]. Navas-Acien A, Guallar E, Silbergeld E, Rothenberg S. Lead exposure and cardiovascular disease- a systematic review. *ENVIRON HEALTH PERSP* 2007; 115 (3): 472-482.
- [117]. Campbell A, Williams E, Barltrop D. Motor neurone disease and exposure to lead. *J NEUROL NEUROSUR PS* 1970; 33: 877-885.
- [118]. Mézes M, Balogh K. Prooxidant mechanisms of selenium toxicity- a review. *ACT BIOL SXEGED* 2009; 53 (suppl.1): 15-18.
- [119]. MacFarquhar J, Broussard D, Melstrom P, Hutchinson R, Wolkin A, Martin C, *et al.* Acute selenium toxicity, associated with a dietary supplement. *ARCH INTERN MED* 2010; 170 (3): 256-261.
- [120]. Nriagu J. Zinc toxicity in humans. School of public health, University of Michigan: 2007.
- [121]. Sundar S, Chakravarty J. Antimony toxicity. *INT J ENV RES PUB HE* 2010; 7 (12): 4267-4277.
- [122]. Cooper, R. & Harrison, A. The exposure to and health effects of antimony. *INDIAN J OCCUP ENVIRON MED* 2009; 13 (1): 3-10.
- [123]. Ratte H. Bioaccumulation and toxicity of silver compounds: a review. *ENVIRON TOXICOL CHEM* 1998; 18 (1): 89-108.
- [124]. Wadhwa A, Fung M. Systemic argyria associated with ingestion of colloidal silver. *DERMATOLONLINE J* 2005; 11 (1).
- [125]. Cvjetko P, Cvjetko I, Pavlica M. Thallium toxicity in humans. *ARH HIG RADA TOKSIKOL* 2010; 61 (1): 111-118.
- [126]. Li S, Xiao T, Zheng B. Medical geology of arsenic, selenium and thallium in China. *SCI*

TOTAL ENVIRON 2012; 421: 31-40.

[127]. Rehder D. 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 (vol. 13). Springer: 2013.

[128]. Venkataraman B, Sudha S. Vanadium toxicity. ASIAN J EXP SCI 2005; 19 (2): 127-134.

[129]. Kosek-Hoehne K, Panocha B, Śliwa A. Heavy metals- a silent threat to health. J EDUC HEALTH SPORT 2017; 7 (1):121-132.

[130]. Slivinska LG, Shcherbatyy AR, Lukashchuk BO, Gutyj BV. The state of antioxidant protection system in cows under the influence of heavy metals. REGUL MECH BIOSYST 2020; 11 (2): 237-242.

[131]. Barakat MA. New trends in removing heavy metals from industrial wastewater. ARAB J CHEM 2011; 4 (4): 361-377.

[132]. Gunatilake SK. Methods of Removing Heavy Metals from Industrial Wastewater. JMESS 2015; 1 (1): 12-18.

[133]. Morales ME, Derbes RS, Ade CM, Ortego JC, Stark J, Deininger PL, *et al.* Heavy Metal Exposure Influences Double Strand Break DNA Repair Outcomes. PLOS ONE 2016; 11 (3): e0151367.

[134]. Mirzoian A, Luetje C. Modulation of neuronal nicotin acetylcholine receptors by mercury. JPET 2002, 302 (2): 560-567.

[135]. Chaoui A, El Ferjani E. Effects of cadmium and copper on antioxidant capacities, lignification and auxin degradation in leaves of

pea (*Pisum sativum* L.) seedlings. C R BIOL 2005, 328 (1): 23-31.

[136]. Siedlecka A, Baszyński T. Inhibition of electron flow around photosystem I in chloroplasts of Cd-treated maize plants is due to Cd-induced iron deficiency. PHYSIOL PLANTARUM 1993, 87 (2): 199-202.

[137]. Sharma P, Shanker R. Lead toxicity in plants. BRAZ J PLANT PHYSIOL 2005, 17 (1): 35-52.

[138]. Singh N, Marwa N, Mishra S, Mishra J, Verma P, Rathaur S, *et al.* *Brevundimonas diminuta* mediated alleviation of arsenic toxicity and plant growth promotion in *Oryza sativa* L. ECOTOX ENVIRON SAFE 2016; 125: 25-34.

[139]. Rahman M, Hasegawa H, Rahman M, Islam M, Miah M, Tasmin A. Effect of arsenic on photosynthesis, growth and yield of five cultivated rice (*Oryza sativa* L.) varieties in Bangladesh. CHEMOSPHERE 2007; 67 (6): 1072-1079.

[140]. Niedernhofer L, Odijk H, Budzowska M, van Drunen E, Maas A, Theil A, *et al.* The structure-specific endonuclease Ercc1-Xpf is required to resolve DNA interstrand cross-link-induced double-strand breaks. METHOD MOL CELL BIOL 2004; 24 (13): 5776-5787.

[141]. Olausson K, Dunant A, Fouret P, Brambilla E, André F, Haddad V, *et al.* DNA repair by ERCC1 in non-small-cell lung cancer and cisplatin-based adjuvant chemotherapy. N ENGL J MED 2006; 355 (10): 983-991.

[142]. Coin F, Oksenysh V, Egly J. Distinct

roles for the XPB7p52 and XPD/p44 subcomplexes of TFIIH in damaged DNA opening during nucleotide excision repair. *MOL CELL* 2007; 26 (2): 245-256.

[143]. Cefalu W, Hu F. Role of chromium in human health and diabetes. *DIABETES CARE* 2004; 27 (11): 2741-2751.

[144]. Shekhawat K, Chatterjee S, Joshi B. Chromium toxicity and its health hazards. *INT J ADV RES* 2015; 3 (7): 167-172.

[145]. Pellerin C, Booker S. Reflection on hexavalent chrome health hazards of an industrial heavyweight. *ENVIRON HEALTH PERSP* 2000; 108 (9): A402-A407.

[146]. Taufik R, Ibrahim E. Effects of chromium on human body. *ANNU RES REV* 2017, 13 (2): 1-8.

[147]. Institute of Medicine US. 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): 2001.

[148]. Dermont G, Bergeron M, Mercier G, Richer-Lafèche M. Metal-Contaminated Soils: Remediation Practices and Treatment Technologies. *J HAZARD TOXIC RADIOACT WASTE* 2008, 12 (3): 188-209.

[149]. Chang T, Yen J. On-site mercury-contaminated soils remediation by using thermal desorption technology. *J HAZARD MATER* 2006, 128 (1-2): 208-217.

[150]. Shammass NK. Coagulation and Flocculation. En: Wang LK, Hung Y, Shammass

N. Eds. Physicochemical Treatment Processes (vol. 3: 103-140). Humana Press: 2005.

[151]. Wang LK, Vaccari DA, Li Y, Shammass NK. Chemical precipitation. En: Wang LK, Hung Y, Shammass N. Eds. Physicochemical treatment processes (vol. 3:141- 198). Humana Press: 2005.

[152]. Sadrzadeh M, Mohammadi T. Sea water desalination using electro dialysis. *DESALINATION* 2008, 221 (1-3): 440-447.

[153]. Blandin G, Verliefe A, Tang C, Le-Clech P. Opportunities to reach economic sustainability in forward osmosis-reverse osmosis hybrids for seawater desalination. *DESALINATION* 2015, 363: 26-36.

[154]. Vigneswaran S, Ngo HH, Chaudhary D S, Hung Y. Physicochemical treatment processes for water reuse. En: Wang LK, Hung Y, Shammass N. Eds. Physicochemical treatment processes (vol. 3: 635- 676). Humana Press: 2005.

[155]. Bour M. Bioremediation. En: Kennish M. Ed. Encyclopedia of estuaries. Encyclopedia of earth science series. Springer: 2016.

[156]. Paliwal V, Puranik S, Purohit H. Integrated perspective for effective bioremediation. *APPL BIOCHEM BIOTECH* 2012, 166: 903-924.

[157]. Da Silva M, Álvarez P. Bioaugmentation. En: Timmis KN. Ed. Handbook of hydrocarbon and lipid microbiology. Springer: 2010.

[158]. Zhao C, Xie H, Mu Y, Xu X, Zhang J,

- Liu C, *et al.* Bioremediation of endosulfan in laboratory-scale constructed wetlands: effect of bioaugmentation and biostimulation. ENVIRON SCI POLLUT R 2014; 21 (22): 12827-12835.
- [159]. Vera M, Schippers A, Sand W. Progress in bioleaching: fundamentals and mechanisms of bacterial metal sulfide oxidation- Part A. APPL MICROBIOL BIOT 2013; 97 (17): 7529-7541.
- [160]. Yin S, Wang L, Kabwe E, Chen X, Yan R, An K, *et al.* Cooper bioleaching in China: review and prospect. MINERALS 2018; 8 (2).
- [161]. Wang B, Zhou K, Liu H, Tang WZ. Biosorption behaviour and reuse potential of waste biomass of *Aspergillus fumigatus*, previously used in humic acid biosorption, in removal of reactive blue 49. ENVIRON PROCESS 2016; 3: 843-856.
- [162]. Fomina M, Gadd G. Biosorption: current perspectives on concept, definition and application. BIORESOUR TECHNOL 2014; 160: 3-14.
- [163]. Mwandira W, Nakashima K, Kawasaki S, Arabelo A, Banda K, Nyambe I, *et al.* Biosorption of Pb (II) and Zn (II) from aqueous solution by *Oceanobacillus profundus* isolated from an abandoned mine. SCI REP-UK 2020; 10: 1-9.
- [164]. Jain CK, Malik DS, Yadav AK. Applicability of plant based biosorbents in the removal of heavy metals: a review. ENVIRON PROCESS 2016, 3 (2): 495-523.
- [165]. Nikolopoulou M, Kalogerakis N. Biostimulation strategies for enhanced bioremediation of marine oil spills including chronic pollution. En: Timmis KN. Ed. Handbook of hydrocarbon and lipid microbiology. Springer: 2010.
- [166]. Ron E, Rosenberg E. Role of Fertilizers: Biostimulation. En: Timmis KN. Ed. Handbook of hydrocarbon and lipid microbiology. Springer: 2010.
- [167]. Dias R L, Ruberto L, Calabró A, Lo Balbo A, del Panno MT, MacCormack WP. Hydrocarbon removal and bacterial community structure in on-site biostimulated biopile systems designed for bioremediation of diesel-contaminated Antarctic soil. POLAR BIOL 2015; 38 (5): 677-687.
- [168]. Sanscartier D, Zeeb B, Koch I, Reimer K. Bioremediation of diesel-contaminated soil by heated and humidified biopile system in cold climate. COLD REG SCI TECHNOL 2009; 55: 167-173.
- [169]. Da Costa M, Kehrig H, da Silva I. Bioaccumulation. En: Kennish MJ. Ed. Encyclopedia of estuaries. Encyclopedia of earth sciences series. Springer: 2016.
- [170]. Saglam N, Yesilada O, Saglam S, Apohan E, Sam M, Ilk S, *et al.* Bioremediation applications with fungi. En: Prasad R. Ed.) Mycoremediation and environmental sustainability. Fungal biology. Springer: 2018.
- [171]. Ellouze M, Sayadi S. White-rot fungi and their enzymes as a biotechnological tool for xenobiotics bioremediation. En: Saleh M, Rahman R. Eds. Management of hazardous wastes, IntechOpen: 2016.

- [172]. Viswanath B, Rajesh B, Janardhan A, Kumar A, Narasimha G. Fungal laccases and their applications in bioremediation. *ENZYME RES* 2014; 2014.
- [173]. Bajpai P. *Biotechnology for Pulp and Paper Processing*. Springer: 2018.
- [174]. Saglam N, Say R, Denizli A, Patir S, Yakup M. Biosorption of inorganic mercury and alkylmercury species on to *Phanerochaete chrysosporium* mycelium. *PROCESS BIOCHEM* 1998; 34 (6-7): 725-730.
- [175]. Mann J, Markham J, Peiris P, Nair N, Spooner-Hart R, Holford P. Screening and selection of fungi for bioremediation of olive mill wastewater. *WORLD J MICROB BIOT* 2009; 26 (3): 567-571.
- [176]. Aytar P, Gedikli S, Çelikdemir M, Uzuner S, Farizoglu B, Şam M, *et al.* Dephenolization of olive mill wastewater by pellets of some white rot fungi. *HACETTEPE J BIOL CHEM* 2011; 39 (4): 379-390.
- [177]. Atagana H, Haynes R, Wallis F. Fungal bioremediation of creosote-contaminated soil: a laboratory scale bioremediation study using indigenous soil fungi. *WATER AIR SOIL POLL* 2006; 172: 201-219.
- [178]. Zapana-Huarache S, Romero-Sánchez C, Dueñas A, Torres-Huaco F, Lazarte A. Design and testing of a cost-efficient bioremediation system for tannery effluents using native chromium-resistant filamentous fungi. *INT J ENVIRON SCI TE* 2020; 17 (8): 3825-3834.
- [179]. Kartal S, Munir E, Kakitani T, Imamura Y. Bioremediation of CCA-treated wood by brown-rot fungi *Fomitopsis palustris*, *Coniophora puteana*, and *Laetiporus sulphureus*. *J WOOD SCI* 2004; 50 (2): 182-188.
- [180]. Hussain I, Aleti G, Naidu R, Puschenreiter M, Mahmood Q, Rahman M, *et al.* Microbe and plant assisted-remediation of organic xenobiotics and its enhancement by genetically modified organism and recombinant technology: A review. *SCI TOTAL ENVIRON* 2018; 628-629.
- [181]. Wei Z, Gu H, Van Q, Peng W, Lam S, Yang Y, *et al.* Perspectives on phytoremediation of zinc pollution in air, water and soil. *SUSTAIN CHEM PHARM* 2021; 24.
- [182]. Jabeen R, Ahmad A, Iqbal M. Phytoremediation of heavy metals: physiological and molecular mechanisms. *BOT REV THE* 2009; 75 (4): 339-364.
- [183]. Arya K, Devi S, Angrish R, Singal I, Rani K. Soil reclamation through phytoextraction and phytovolatilization. En: Choudhary D, Sharma A, Agarwal P, Varma A, Tuteja N. Eds. *Volatiles and food security*. Springer: 2017.
- [184]. Begonia MT, Begonia GB, Miller GS, Gilliard D. Effects of chelate application time on the phytoextraction of lead-contaminated soils. *B ENVIRON CONTAM TOX* 2004; 73(6): 1033-1040.
- [185]. Ramana S, Biswas A, Singh A, Ahirwar N, Subba A. Potential of rose for phytostabilization of chromium contaminated soils. *INDIAN J PLANT PHYSI* 2013; 18(4): 381-382.

- [186]. Begonia GB, Miller GS, Begonia MT, Burks C. Chelate-enhanced phytoextraction of lead-contaminated soils using coffweed (*Sesbania exaltata* Raf.). B ENVIRON CONTAM TOX 2002; 69 (5): 624-431.
- [187]. Gzar H, Abdul-Hameed A, Yahya A. Extraction of lead, cadmium and nickel from contaminates soil using acetic acid. OPEN J SOIL SCI 2014; 4.
- [188]. Troiani H, Prina A, Muiño W, Tamame M, Beinticino L. Botánica, morfología, taxonomía y fitogeografía. Universidad de la Pampa: 2017.
- [189]. Ignatus A, Arunbabu V, Ramsamy E. Rhizofiltration of lead using an aromatic medicinal plant *Plectranthus amboinicus* cultured in a hydroponic nutrient film technique (NFT) system. ENVIRON SCI POLLUT RES 2014; 21 (22): 13007-13016.
- [190]. Lapan O, Mikhyeyev A, Madzhd S. Development of a new method of rhizofiltration purification of water objects of Zn (II) and Cd (II). J WATER CHEM TECHNO+ 2019; 41 (1): 52-56.
- [191]. Tangahu B, Sheikh S, Basri H, Idris M, Anuar N, Mukhlisin M. A review on heavy metals (As, Pb and Hg) uptake by plants through phytoremediation. INT J CHEM ENG 2011; 2011.
- [192]. Cambrollé J, Mateos-Naranjo E, Redondo-Gómez S, Luque T, Figueroa M. The role of two *Spartina* species in phytostabilization and bioaccumulation of Co, Cr, and Ni in the Tionto-Odiel estuary (SW Spain). HYDROBIOLOGIA 2011; 671: 95-103.
- [193]. Limmer M, Burken J. Phytovolatilization of organic contaminants. ENVIRON SCI TECHNOL 2016; 50 (13): 6632-6643.
- [194]. Narayanan M, Davis L, Erickson L. Fate of volatile chlorinated organic compounds in a laboratory chamber with alfalfa plants. ENVIRON SCI TECHNOL 1995; 29 (9): 2437-2444.
- [195]. Sakakibara M, Aya W, Sakae S, Inoue M, Kaise T. 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 2010; 12 (1).
- [196]. Jia Y, Huang H, Sun G, Zhao F, Zhu Y. Pathways and relative contributions to arsenic volatilization from rice plants and paddy soil. ENVIRON SCI TECHNOL 2012; 46 (15): 8090-8096.
- [197]. Mohammed A, Mutar Z, Al-Baldawi I. *Alternanthera* spp. based-phytoremediation for the removal of acetaminophen and methylparaben at mesocosm-scale constructed wetlands. HELIYON 2021; 7 (11): e08403.
- [198]. Gamage S, Masakorala K, Brown M, Gamage M. Comparative phytoremediation potentials of *Impatiens balsamina* L. and *Crotalaria retusa* L. for soil contaminated with used lubricating oil. ENVIRON ADV 2021; 5.
- [199]. Singh A, Pal D, Kumar S, Srivastva N, Syed A, Elgorban A, *et al.* Studies on zero-cost

algae based phytoremediation of dye and heavy metal from simulated wastewater. *BIORESOURC TECHNOL* 2021; 342: 125971.

[200]. Torres D, Cumana A, Torrealba O, Posada D. Uso del vetiver para la fitorremediación de cromo en lodos residuales de una tenería. *REV MEXICANA CIENC AGRIC* 2010; 1 (2): 175-188.

[201]. Carrión C, Ponce-de Leon SC, Sommer I, Hernández M, Venegas C. Aprovechamiento potencial del lirio acuático (*Eichhornia crassipes*) En Xochimilco para fitorremediación de metales. *Agrociencia* 2012; 46 (6): 609-620.

[202]. Poma R, Valderrama A. Estudio de los parámetros fisicoquímicos para la fitorremediación de cadmio (II) y mercurio (II) con la especie *Eichhornia Crassipes* (jacinto de agua). *REV SOC QUIM PERÚ* 2014; 80 (3): 164-173.

[203]. Shallari S, Schwartz C, Hasko A, Morel J. Heavy metals in soil and plants of serpentine and industrial sites of Albania. *SCI TOTAL ENVIRON* 1998; 209: 133-142.

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

[205]. Gordon R, Haynes Q, Pang C. The genus *Bacillus*. En: *Agriculture Handbook No. 427*. US Dept. of Agriculture: 1973.

[206]. Guerra-Cantera M, Raymundo A. Utilization of a polyphasic approach in the

taxonomic reassessment of antibiotic-and enzyme- producing *Bacillus* spp. isolated from the Philippines. *WORLD J MICROBIOL BIOTECHNOL* 2005; 21: 635-644.

[207]. Fira D, Dimkić I, Berić T, Lozo J, Stanković S. Biological control of plant pathogens by *Bacillus* species. *J BIOTECHNOL* 2018; 285 (July): 44-55.

[208]. Correa E, Goodacre R. 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* 2011; 12 (33): 1-17.

[209]. Cavaglieri L, Orlando J, Rodríguez MI, Chulze S, Etcheverry M. Biocontrol of *Bacillus subtilis* against *Fusarium verticillioides* *in vitro* and at the maize root level. *RES MICROBIOL* 2005; 156 (2005): 748-754.

[210]. Villareal-Delgado M, Villa-Rodríguez E, Cira-Chávez L, Estrada-Alvarado M, Parra-Cota F, Santos-Villalobos S. The genus *Bacillus* as biological control agent and its implications in the agricultural biosecurity. *REV MEX FITOPATOL* 2018; 36 (1): 95-130.

[211]. Tanaka K, Takanaka S, Yoshida K. A second-generation *Bacillus* cell factory for rare inositol production. *BIOENGINEERED* 2014; 5 (5): 331-334.

[212]. Almeida W, Leal M. Studies on the stability of protease from *Bacillus* sp. and its compatibility with commercial detergent. *BRAZ J MICROBIOL* 2006; 37 (3).

- [213]. Tewari A, Abdullah S. *Bacillus cereus* food poisoning: international and Indian perspective. J FOOD SCI TECH 2014; 52 (5): 2500-2511.
- [214]. Esquivel-Cote R, Gavilanes-Ruiz M, Cruz-Ortega R, Huante P. Importancia agrobiotecnológica de la enzima ACC desaminasa en rizobacterias, una revisión. REV FITOTEC 2013; 36 (3): 251-258.
- [215]. Jukes TH, Cantor CR. Evolution of protein molecules. In Munro HN, editor, MAMMALIAN PROTEIN METABOLISM 1969; pp. 21-132, Academic Press, New York.
- [216]. Kumar S, Stecher G, Tamura K. MEGA7: Molecular Evolutionary Genetics Analysis version 7.0 for bigger datasets. MOLECULAR BIOLOGY AND EVOLUTION 2016; 33:1870-1874.
- [217]. Khan A, Gupta A, Singh P, Mishra, A, Ranjan R, Srivastava A. (2020) Siderophore-assisted cadmium hyperaccumulation in *Bacillus subtilis*. INT J MICROBIOL 2020; 23: 277-286.
- [218]. Garay-Arroyo A, Sánchez M, García-Ponce B, Álvarez-Buylla E, Gutiérrez C. La homeostasis de las auxinas y su importancia en el desarrollo de *Arabidopsis thaliana*. REB 2014; 33 (1): 13-22.
- [219]. Mohite B. Isolation and characterization of indole acetic acid (IAA) producing bacteria from rhizospheric soil and its effect on plant growth. J SOIL SCI PLANT NUTR 2013; 13 (3): 638-649.
- [220]. Duca D, Lorv J, Patten C, Rose D, Glick B. Indole-3-acetic acid in plant-microbe interactions. Antonie van Leeuwenhoek 2014; 106: 85-125.
- [221]. Mazhar R, Ilyas N, Arshad M, Khalid A, Hussain M. Isolation of heavy metal-tolerance PGPR strains and amelioration of chromium effect in wheat in combination with biochar. IRAN J SCI TECHNOL TRANS A: SCI 2019; 44 (1): 1-12.
- [222]. Rodríguez H, Fraga R. Phosphate solubilizing bacteria and their role in plant growth promotion. BIOTECHNOL ADV 1999; 17 (4-5): 319-339.
- [223]. Ishimaru Y, Kakei Y, Shimo H, Bashir K, Sato Y, Sato Y, *et al.* A rice phenolic efflux transporter is essential for solubilizing precipitated apoplasmic iron in the plant stele. J BIOL CHEM 2011; 286 (28): 24649-24655.
- [224]. Marsh H Jr, Evans H, Matrone G. Investigations of the role of iron in chlorophyll metabolism. II. Effect of iron deficiency on chlorophyll synthesis. PLANT PHYSIOL 1963; 38 (6): 638.
- [225]. Gutiérrez-Mañero F, Ramos-Solano B, Probanza A, Meheouachi J, Tadeo F, Talon M. The plant-growth-promoting rhizobacteria *Bacillus pumilus* and *Bacillus licheniformis* produce high amounts of physiologically active gibberellins. PHYSIOL PLANT 2001, 111 (2): 206-211.
- [226]. Azeem M, Barba-Aliaga M, Borg-Karlson A K, Terenius O, Broberg A, Kuttuva G. Heterobasidion-growth inhibiting *Bacillus subtilis* A18 exhibits medium- and age-dependent production of lipopeptides.

MICROBIOL RES 2019; 223-22 (2019): 129-136.

[227]. Bóka B, Manczinger L, Kocsubé S, Shine K, Alharbi NS, Khaled JM, *et al.* Genome analysis of a *Bacillus subtilis* strain reveals genetic mutations determining biocontrol properties. WORLD J MICROBIOL BIOTECHNOL 2019; 35 (3): 1-14.

[228]. Bruisson S, Zufferey M, L'Haridon F, Trutmann E, Anand A, Dutarte A, *et al.* Endophytes and epiphytes from the grapevine leaf microbiome as potential biocontrol agents against phytopathogens. FRONT MICROBIOL 2019, 10 (November), 1-17.

[229]. Bravo A, Likitvivatanavong S, Gill S, Soberón M. *Bacillus thuringiensis*: a story of a successful bioinsecticide. INSECT BIOCHEM MOL BIOL 2011, 41 (7): 423-431.

[230]. Guo Q, Li S, Lu X, Zhang X, Wang P, Ma P. Complete Genome Sequence of *Bacillus subtilis* BAB-1, a Biocontrol Agent for Suppression of Tomato Gray Mold. GENOME ANNOUNC 2014; 2 (4): e00744-14.

[231]. Jin Q, Jiang Q, Zhao L, Su C, Li S, Si F, *et al.* Complete genome sequence of *Bacillus velezensis* S3-1, a potential biological pesticide with plant pathogen inhibiting and plant promoting capabilities. J BIOTECH 2017; 259 (February): 199-203.

[232]. Ariza Y, Sánchez L. Determinación de metabolitos secundarios a partir de *Bacillus subtilis* con efecto biocontrolador sobre *Fusarium* sp. NOVA 2012; 10 (18), 149-155. doi:10.22490/24629448.1003.

[233]. Ajaz S, Ahmed T, Shahid M, Noman M, Shah A, Mehmood M, *et al.* Bioinspired green synthesis of silver nanoparticles by using a native *Bacillus* sp. strain AW1-2: characterization and antifungal activity against *Colletotrichum falcatum* went. ENZYME MICROB TECHNOL 2021, 144: 109745.

[234]. Takano H. The regulatory mechanism underlying light-inducible production of carotenoids in nonphototrophic bacteria. BIOSCI BIOTECHNOL BIOCHEM 2016; 80 (7): 1264-1273.

[235]. Spencer R. *Bacillus anthracis*. J CLINT PATHOL 2003; 56 (3): 182-187.

[236]. Nieminen T, Rintaluoma N, Andersson M, Taimisto A, Ali-Vehmas T, Seppälä A, *et al.* Toxinogenic *Bacillus pumilus* and *Bacillus licheniformis* from mastitic milk. VET MICROBIOL 2007; 124 (3-4): 329-339.

[237]. Salkinoja-Salonen, M, Vuorio R, Andersson M, Kämpfer P, Andersson M, Honkanen-Buzalski T, *et al.* Toxigenic strains of *Bacillus licheniformis* relate to food poisoning. APPL ENVIRON MICROBIOL 1999; 65 (10): 4637-4645.

[238]. Guo H, Luo S, Chen L, Xiao X, Xi Q, Wei W, *et al.* (2010) Bioremediation of heavy metals by growing hyperaccumulaor endophytic bacterium *Bacillus* sp. L14. BIORESOUR TECHNOL 2010; 101: 8599-8605.

[239]. El-Sheshtawy, H, Ahmed W. Bioremediation of crude oil by *Bacillus licheniformis* in the presence of different concentration nanoparticles and produced

biosurfactant. INT J ENVIRON SCI TECHNOL 2017; 14: 1603-1614.

[240]. Granzotto G, Marcelino P, Barbosa A, Rodrigues, E, Rezende M, Oliveira A. Culturable bacterial pool from aged petroleum-contaminated soil: identification of oil-eating *Bacillus* strains. ANN MICROBIOL 2012; 62: 1681-1690.

[241]. Joo M, Kim J. Characteristics of crude oil biodegradation by biosurfactant-producing bacterium *Bacillus subtilis* JK-1. J KOREAN SOC APPL BIOL CHEM 2013; 56: 193-200.

[242]. Aslam S, Hussain A, Qazi J. Production of cellulase by *Bacillus amyloliquefaciens*-ASK11 under high chromium stress. WASTE BIOMASS VALOR 2019, 10: 53-61.

[243]. Zhao S, Hu N, Chen Z, Zhao B, Liang Y. Bioremediation of reclaimed wastewater used as landscape water by using the denitrifying bacterium *Bacillus cereus*. BULL ENVIRON CONTAM TOXICOL 2009; 83: 337-340.

[244]. Kara A, Fakıoğlu Ö, Kotan R, Atamanalp M, Alak G. The investigation of bioremediation potential of *Bacillus subtilis* and *B. thuringensis* isolates under controlled conditions in freshwater. ARCH MICROBIOL 2021; 203: 2075-2085.

[245]. Surhio M, Talpur F, Nizamani S, Talpur M, Amin F, Khaskheli A, *et al.* Effective bioremediation of endocrine-disrupting phthalate esters, mediated by *Bacillus* strains. WATER AIR SOIL POLLUT 2017; 228: 1-8.

[246]. Tripathi M, Garg S. Dechlorination of chloroorganics, decolorization, and

simultaneous bioremediation of Cr⁶⁺ from real tannery effluent employing indigenous *Bacillus cereus* isolate. ENVIRON SCI POLLUT RES 2014; 21: 5227-5241.

[247]. Ontañón O, Fernandez M, Agostini E, González P. Identification of the main mechanisms in the tolerance and bioremediation of Cr (VI) by *Bacillus* sp. SFC 500-1E. ENVIRON SCI POLLUT RES 2018; 25: 16111-16120.

[248]. Beveridge T, Forsberg C, Doyle J. Major site of metal binding in *Bacillus licheniformis* walls. J BACTERIOL RES 1982; 150 (3): 1438-1448.

[249]. McLean R, Campbell A, Khu P, Persaud A, Bickerton L, Beauchemin D. Repeated use of *Bacillus subtilis* cell walls for copper binding. WOELD J MICROBIOL BIOTECHNOL 1994; 10 (4): 472-474.

[250]. Ding P, Song W, Yang Z, Jian J. Influence of Zn (II) stress-induction on component variation and sorption performance of extracellular polymeric substances (EPS) from *Bacillus vallismortis*. BIOPROCESS BIOSYST ENG 2018; 41 (6), 781-791.

[251]. Girisha S. Utilization of exo polymers secreted by *Bacillus licheniformis* for the remediation of lead. INT RES J BIOL SCI 2015; 4 (1): 25-28.

[252]. Cockell C, Santomartino R, Finster K, Waajen A, Nicholson N, Loudon C, *et al.* Microbially-enhanced vanadium mining and bioremediation under micro- and mars gravity on the international space station. FRONT MICROBIOL 2021; 12.

- [253]. Fierros-Romero, G., Gomez-Ramirez, M., Arenas-Isaac G E, Pless-Elling R C, Rojas-Avelizapa NG. Identification of *Bacillus megaterium* and *Microbacterium liquefaciens* genes involved in metal resistance and metal removal. CAN J MICROBIOL 2016; 62: 505-513.
- [254]. Santos-Gandelman J, Cruz K, Crane S, Muricy G, Giambiahi-de Marval M, Barkay T, *et al.* Potential applications in mercury bioremediation of a marine sponge-isolated *Bacillus cereus* strain Pj1. CURR MICROBIOL 2014; 69: 374-380.
- [255]. Dash H, Mangwani N, Das S. Characterization and potential application in mercury bioremediation of highly mercury-resistant marine bacterium *Bacillus thuringiensis* PW-05. ENVIRON SICE POLLUT RES 2014; 21: 2642-2653.
- [256]. Sandana J, Sujatha D, Rose C. Inducible chromate reductase exhibiting extracellular activity in *Bacillus methylotrophicus* for chromium bioremediation. MICROBIOL RES 2015; 170: 235-241.
- [257]. Kamika I, Momba M. Assessing the resistance and bioremediation ability of selected bacterial and protozoan species to heavy metals in metal-rich industrial wastewater. BMC MICROBIOLOGY 2013; 13 (1): 1-14.
- [258]. Marwa N, Singh N, Srivastava S, Saxena G, Pandey V, Singh N. Characterizing the the hypertolerance potential of two indigenous bacterial strains (*Bacillus flexus* and *Acinetobacter junii*) and their efficacy in arsenic bioremediation. J APPL MICROBIOL 2018; 126 (4): 1117-1127.
- [259]. Kumari W, Thiruchittampalam S, Weerasinghe M, Chandrasekharan N, Wijayarathna C. Characterization of a *Bacillus megaterium* strain with metal bioremediation potential and in silico discovery of novel cadmium binding motifs in the regulator, CadC. APPL MICROBIOL BIOTECHNOL 2021; 105: 2573-2586.
- [260]. Huang K, Chen C, Shen Q, Rosen B, Zhao F. Genetically engineering *Bacillus subtilis* with a heat-resistant arsenite methyltransferase for bioremediation of arsenic-contaminates organic waste. APPL ENVIRON MICROBIOL 2015; 81 (19): 6718-6724.
- [261]. Mukherjee P, Roychowdhury R, Roy M. Phytoremediation potential of rhizobacterial isolates from kans grass (*Saccharum spontaneum*) of fly ash ponds. CLEAN TECHNOL ENVIRON POLICY 2017; 19: 1373-1385.
- [262]. Pandey S, Ghosh P, Ghosh S, De T, Maiti T. Role of heavy metal resistant *Ochrobactrum* sp. and *Bacillus* spp. strains in bioremediation of a rice cultivar and their PGPR like activities. J MICROBIOL 2013; 51 (1): 11-17.
- [263]. Jan M, Shah G, Masood S, Shinwari K, Hameed R, Rha E, *et al.* *Bacillus cereus* enhanced phytoremediationability of rice seedlings under cadmium toxicity. BIOMED RES INT 2019; 2019.
- [264]. Wani P, Garba S, Wahid S, Hussaini N, Mashood, K. Prevention of oxidative damage and phytoremediation of Cr (VI) by Chromium

(VI) reducing *Bacillus subtilis* PAW3 in cowpea plants. BULL ENVIRON CONTAM TOXICOL 2019; 103: 476-483.

[265]. Nayak A, Panda S, Basu A, Dhal N. Enhancement of toxic Cr (VI), Fe and other heavy metals phytoremediation by the synergistic combination of native *Bacillus cereus* strain and *Vetiveria zizanioides* L. INT J PHYTOREMEDIATION 2018; 20 (7): 682-691.

[266]. Sharma P, Bakshi P, Kour J, Singh A, Dhiman S, Kumar P, *et al.* 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: 2020.

[267]. Al Azad S, Farjana M, Mazumder B, Abdullah-Al-Mamun M, Haque A. Molecular identification of a *Bacillus cereus* strain from Murrah buffalo milk showed *in vitro* bioremediation properties on selective heavy metals. J ADV VET ANIM RES 2020; 7 (1): 62-68.

[268]. Ka-ot A L, Banerjee S, Haldar G, Joshi S R. Acid and Heavy Metal Tolerant *Bacillus* sp. from Rat-Hole Coal Mines of Meghalaya, India. PROC NATL ACAD SCI INDIA SECT B BIOL SCI 2018; 88 (3): 1187-1198.

[269]. Kamika I, Momba M. Assessing the resistance and bioremediation ability of selected bacterial and protozoan species to heavy metals in metal-rich industrial wastewater. BMC Microbiology, 2013; 13 (1), 1-14. doi: 10.1186/1471-2180-13-28.

[270]. Mandal D, Sonar R, Saha I, Ahmed S.

Basu A. Isolation and identification of arsenic resistant bacteria: a tool for bioremediation of arsenic toxicity. INT J ENVIRON SCI TECHNOL 2021; 2021: 1-18.

[271]. Hare V, Chowdhary P. Changes in growth responses in rice plants grown in the arsenic affected: implication of As resistant microbes in mineral content and translocation. SN APPL SCI 2019; 1 (8): 1-7.

[272]. Mujawar S, Vaigankar D, Dubey S. Biological characterization of *Bacillus flexus* strain SSAlI transforming highly toxic arsenite to less toxic arsenate mediated by periplasmic arsenite oxidase enzyme encoded by aioAB genes. BIOMETALS 2021; 34: 895-907.

[273]. Sher S, Ghani A, Sultan S., Rehman A. Bacterial strains isolated from heavy metals contaminated soil and wastewater with potential to oxidize arsenite. ENVIRON PROCESS 2021; 8: 333-347.

[274]. Bhakat K, Chakraborty A, Islam E. Characterization of arsenic oxidation and uranium bioremediation potential of arsenic resistant bacteria isolated from uranium ore. ENVIRON SCI POLLUT RES 2019; 26 (13): 12907-12919.

[275]. Hamamura N, Nakajima N, Yamamura S. Draft genome sequence of the antimony-oxidizing *Pseudomonas* sp. strain SbOxS1, isolated from stibnite mine tailing soil. MICROBIOL RESOUR ANNOUNC 2020; 9 (49): e01218-20.

[276]. Cao Y, Zhang X, Deng J, Zhao Q, Xu H. Lead and cadmium-induced oxidative stress impacting mycelial growth of *Oudemansiella*

radicata in liquid medium alleviated by microbial siderophores. WORLD J MICROBIOL BIOTECHNOL 2012; 28: 1727-1737.

[277]. Nath S, Deb B, Sharma I. Isolation of toxic metal-tolerant bacteria from soil and examination of their bioaugmentation potentiality by pot studies in cadmium- and lead-contaminated soil. INT MICROBIOL 2018; 21: 35-45.

[278]. Kummar M, Kummar V, Varma A, Prasad R, Kummar A, Pal A, *et al.* An efficient approach towards the bioremediation of copper, cobalt and nickel contaminated field samples. J SOILS SEDIMENTS 2016; 16 (8): 2118-2127.

[279]. Paraneeswaran A, Shukla S, Prashanth K, Rao T. Microbial reduction of [Co (III)-EDTA]-by *Bacillus licheniformis* SPB-2 strain isolated from a solar salt pan. J HAZARD MATER 2015; 283: 582-590.

[280]. Cui X, Wang Y, Liu J, Chang M, Zhao Y, Zhou S, *et al.* *Bacillus dabaoshanensis* sp. nov., a Cr (VI)-tolerant bacterium isolated from heavy-metal-contaminated soil. ARCH MICROBIOL 2015; 197: 513-520.

[281]. Kalaimurugan D, Balamuralikrishnan B, Durairaj K, Vasudhevan P, Shivakumar M, Kaul T, *et al.* Isolation and characterization of heavy-metal-resistant bacteria and their applications in environmental bioremediation. INT J ENVIRON SCI TECHNOL 2020; 17: 1455-1462.

[282]. Liu J, Xue J, Wei X, Su H, Xu R. Optimization of Cr⁶⁺ removal by *Bacillus subtilis* strain SZMC 6179J from chromium-

containing soil. INDIAN J MICROBIOL 2020; 60 (4): 430-435.

[283]. Masood F, Malik A. Hexavalent chromium reduction by *Bacillus* sp. Strain FM1 isolated from heavy-metal contaminated soil. BULL ENVIRON CONTAM TOXICOL 2011; 86: 114-119.

[284]. Rehman F, Faisal M. Toxic hexavalent chromium reduction by *Bacillus pumilis*, *Cellulosimicrobium cellulans* and *Exiguobacterium*. CHIN J OCEANOL 2015; 33 (3): 585-589.

[285]. Roychowdhury R, Mukherjee P, Roy M. Identification of chromium resistant bacteria from dry fly ash sample of Mejia MTPS thermal power plant, West Bengal, India. BULL ENVIRON CONTAM TOXICOL 2016; 96: 210-216.

[286]. Shah A, Archana G. Evaluation of bacterial strains isolated from late quaternary alluvial sediments ~ 28 m in depth for heavy metal tolerance and Cr (VI) removal ability. INT J MICROBIOL 2021; 24: 385-398.

[287]. Ramírez V, Baez A, López P, Bustillos R, Villalobos M, Carreño R, *et al.* Chromium hyper-tolerant *Bacillus* sp. MH778713 assists phytoremediation of heavy metals by mesquite trees (*Prosopis laevigata*). FRONT MICROBIOL 2019; 10.

[288]. Ramírez V, Munive JA, Cortes L, Muñoz-Rojas J, Portillo R, Baez A. Long-chain hydrocarbons (C21, C24, and C31) released by *Bacillus* sp. MH778713 break dormancy of mesquite seeds subjected to chromium stress. FRONT MICROBIOL 2020, 11.

- [289]. Ramírez V, Martínez J, Bustillos-Cristales R, Castañeda-Antonio, D, Munive JA, Baez A. *Bacillus cereus* MH778713 elicits tomato plant protection against *Fusarium oxysporum*. J APPL MICROBIOL 2021; 132,1: 470-482.
- [290]. Biswas J, Banerjee A, Rai M, Rinklebe J, Shaheen S, Sarkar S, *et al.* 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 2018; 29: 323-337.
- [291]. Giri S, Dash H, Das S. Mercury resistant bacterial population and characterization of *Bacillus* sp., isolated from sediment of solid waste discharged point of steel industry. NATL ACAD SCI LETT 2014; 37: 237-243.
- [292]. Xu Z, Yi D, Huimin H, Liang W, Yunlin Z, Guiyan Y. Biosorption characteristics of Mn (II) by *Bacillus cereus* strain HM-5 isolated from soil contaminated by manganese ore. OL J ENVIRON STUD 2019; 28 (1): 463-472.
- [293]. Cephidian A, Makhdoumi A, Mashregui M, Gharaie M. Removal of anthropogenic lead lead pollutions by a potent *Bacillus* species AS2 isolated from geogenic contaminated site. INT J ENVIRON SCI TECHNOL 2016; 13: 2135-2142.
- [294]. Chen Z, Pan X, Chen H, Lin Z, Guan X. Investigation of lead (II) uptake by *Bacillus thuringiensis* 016. WORLD J MICROBIOL BIOTECHNOL 2015; 31: 1729-1736.
- [295]. Diba H, Cohan R, Salimian M, Mirjani R, Soleimani M, Khodabakhsh F. Isolation and characterization of halophilic bacteria with the ability of heavy metal bioremediation and nanoparticle synthesis from Khara salt lake in Iran. ARCH MICROBIOL 2021; 203: 3893-3903.
- [296]. Shameer S. Biosorption of lead, copper and cadmium using the extracellular polysaccharides (EPS) of *Bacillus* sp., from solar salterns. 3 BIOTECH 2016; 6: 1-10.
- [297]. Kumari B, Singh S. Phytoremediation of metals from fly ash through bacterial augmentation. ECOTOXICOL 2011; 20: 166-176.
- [298]. Li J, Yu H, Wu X, Shen L, Liu Y, Qiu G, *et al.* Novel hyper antimony-oxidizing bacteria isolated from contaminated mine soils in China. GEOMICROBIOL J 2018; 35 (8): 713-720.
- [299]. Mishra R, Prajapati S, Das J, Dangar T, Das N, Thatoi H. Reduction of selenite to red elemental selenium by moderately halotolerant *Bacillus megaterium* strains isolated from Bhitarkanika mangrove soil and characterization of reduced product. CHEMOSPHERE 2011; 84: 1231-1237.