

El papel de los microorganismos en la biorremediación de suelos contaminados con metales pesados

Microorganisms role in the bioremediation of contaminated soils with heavy metals

Sergio Abraham Covarrubias*, José Abraham García Berumen*, Juan José Peña Cabriales*

RESUMEN

A nivel mundial, la contaminación por metales pesados es un problema que afecta la salud humana. Por su toxicidad y abundancia, los metales más estudiados son el mercurio, el arsénico y el plomo. La toxicidad de los metales pesados en suelos está asociada con la fracción disponible que es asimilada por los seres vivos, la cual está determinada por las características fisicoquímicas del suelo (principalmente pH, potencial redox y materia orgánica). Las técnicas para la remediación de suelos se basan en métodos fisicoquímicos y biológicos; estas últimas llamadas *biorremediación*, ya que aprovecha el potencial metabólico de organismos vivos (bacterias y hongos) para la descontaminación. Los procesos más usados en la biorremediación son la sorción, precipitación, lixiviación y volatilización de metales pesados. Sin embargo, son necesarios más estudios sobre la diversidad microbiana de los sitios contaminados con metales pesados para encontrar cepas mejor adaptadas y con mayor capacidad de biorremediación de estos contaminantes.

ABSTRACT

Heavy metal pollution is a worldwide problem that affects human health. Metals are non-degradable elements that move through the biosphere by changes in its redox state. Considering its toxicity and abundance, the most studied heavy metals are mercury, arsenic and lead. In soils heavy metal toxicity is due to fraction that is available to organisms. This fraction is determined by the physicochemical characteristics of the soil (pH, redox potential and organic matter). Soil remediation techniques are based on physicochemical as well as biological methods or bioremediation. Bioremediation exploit the metabolic potential of live microorganisms (bacteria and fungi) for decontamination. Some of the most prominent biological methods for heavy metal remediation are sorption, precipitation, leaching and volatilization. However, more studies are needed on microbial diversity of sites contaminated with heavy metals to find the best-adapted strains with enhanced capabilities for bioremediation.

Metales pesados

A nivel mundial, la contaminación por metales pesados es uno de los mayores problemas que afecta la salud humana (Gamalero, Lingua, Berta & Glick, 2009). Debido a que los metales pesados son elementos no degradables, inmutables y persistentes en el ambiente (Adriano, Wenzel, Vangronsveld & Bolan, 2004; Lebeau, Braud & Jezequel, 2008), pueden movilizarse en el suelo, aire y agua mediante cambios en su estado de óxido-reducción (Young, 2012) o incorporarse a los seres vivos a través de las cadenas tróficas.

Los metales pesados son aquellos elementos que presentan características metálicas y tienen una densidad específica mayor a 5 g cm^{-3} (Weast, 1984). Asimismo, desde el punto de vista de salud humana, son considerados elementos potencialmente tóxicos (Alloway, 2013; Gadd, 1993; González-Chávez, Carrillo-González, Wright & Nichol, 2004; Volke-Sepúlveda, Velasco-Trejo & De la Rosa-Pérez, 2005) para incluir a aquellos metales que son esenciales en cantidades traza, pero que llegan a ser tóxicos cuando su concentración se incrementa.

Recibido: 10 de octubre de 2014
Aceptado: 24 de abril de 2015

Palabras clave:

Bacterias; hongos; biodisponibilidad; biosorción; precipitación.

Keywords:

Bacteria; fungi; bioavailability; biosorption; bioprecipitation.

Cómo citar:

Covarrubias, S. A., García Berumen, J. A., & Peña Cabriales, J. J. (2015). El papel de los microorganismos en la biorremediación de suelos contaminados con metales pesados. *Acta Universitaria*, 25(NE-3), 40-45. doi: 10.15174/au.2015.907

* Centro de Investigación y de Estudios Avanzados (Cinvestav), Instituto Politécnico Nacional (IPN). Unidad Irapuato km. 9.6, Libramiento Norte Carretera Irapuato-León, Irapuato, Guanajuato, México, C.P. 36821. Correo electrónico: jpena@ira.cinvestav.mx

Por su abundancia y toxicidad para el ser humano, los metales pesados más estudiados son:

- 1) **Mercurio** (Hg^0 , Hg^{2+} , Hg_2^{2+} , metil mercurio como la forma más tóxica): su toxicidad está relacionada con dificultad respiratoria, caries dental, neumonía, fallas renales y muerte.
- 2) **Arsénico** (As III a As V, siendo las formas más abundantes en condiciones aeróbicas As V y anaeróbicas As III): su toxicidad está relacionada con irritación estomacal, daño en la piel, disminución de glóbulos rojos, además de agente cancerígeno.
- 3) **Plomo** (Pb^{2+} y PbS): su toxicidad está relacionada con anemia, falla renal, abortos, disminución de fertilidad y daño neuronal.

En México, la contaminación por metales pesados se ha incrementado debido, principalmente, a la actividad industrial como la metalúrgica y la minería (Santos-Santos *et al.*, 2006), la agricultura (Green-Ruiz & Páez-Osuna, 2001) y las emisiones vehiculares (Morton-Bermea *et al.*, 2009). Además, en algunos acuíferos por el aporte natural de minerales metálicos provenientes del material parental (Armenta, Rodríguez & Cruz, 1997).

Los metales pesados en el sistema suelo-planta

Principalmente, los metales pesados en el suelo pueden acumularse por: 1) meteorización natural del material parental y 2) actividad humana directa, como el vertimiento de desechos mineros denominados *jales mineros* (Boussen, Soubrand, Bril, Ouerfelli & Abdeljaoud, 2013), la deposición atmosférica proveniente de emisiones vehiculares (Blake & Goulding, 2002) e industriales (Nicholson, Smith, Alloway, Carlton & Chambers, 2003), la aplicación en cultivos agrícolas como fertilizantes, fungicidas y herbicidas con alto contenido de As, Pb y Cu (Alloway, 2013; Kabata-Pendias & Mukherjee, 2007).

En suelo, una alta concentración de metales pesados no necesariamente significa un problema de toxicidad para los seres vivos, ya que, por lo general, una fracción del metal puede encontrarse de forma inerte, en estado sólido, incorporada a rocas. Esta fracción sólo podría solubilizarse por el desgaste natural de las rocas que ocurre, por lo general, en periodos prolongados de tiempo. Solamente las formas químicas de los metales pesados que se encuentran disponibles para los seres vivos resultan tóxicas.

Esta fracción denominada *biodisponible* es determinada por las características fisicoquímicas de cada tipo de suelo (Lu, Zhang & Shan, 2005), además de la afinidad de los iones metálicos por la superficie de adsorción de los componentes del suelo como el humus, los óxidos de hierro (Fe) y manganeso y los aluminosilicatos (Alloway, 2013; Tabak, Lens, van Hullebusch & Dejonghe, 2005).

Las principales características fisicoquímicas que determinan la biodisponibilidad de los metales pesados son:

- 1) **Potencial de H (pH)**: a pH bajo, por lo general, los metales son móviles en forma de especies iónicas libres o como órgano-metales solubles (Alloway, 2013). Dichos metales a pH alcalino forman carbonatos o fosfatos minerales insolubles (Volke-Sepúlveda *et al.*, 2005).
- 2) **Potencial de óxido-reducción (redox)**: la oxidación relativa de los metales en una solución acuosa en ambientes anaerobios reducidos (suelo húmedo) conlleva a la precipitación del metal debido a la presencia de iones ferrosos y carbonatos, mientras que bajo condiciones oxidantes los metales se hacen más solubles (Alloway, 2013; Volke-Sepúlveda *et al.*, 2005).
- 3) **Materia orgánica (MO)**: la MO presente en el suelo es uno de los principales factores que determinan la biodisponibilidad de los metales pesados (Zeng *et al.*, 2011), enmiendas con alto contenido de MO disminuyen la disponibilidad de metales pesados mediante la formación de complejos con las sustancias húmicas presentes en ella. Lo anterior puede ocasionar que los metales pesados cambien de una forma soluble e intercambiable a una forma insoluble asociada con MO o con los carbonatos presentes en la fracción residual del suelo (Clemente, Escobar & Pilar, 2006).

La problemática derivada de la alta disponibilidad de los metales pesados en el suelo es su acumulación en las plantas, debido al contacto directo del tejido radical con el suelo contaminado. Dentro de la planta, los metales pesados pueden acumularse en la raíz o ser transportados al tejido aéreo (tallo y hojas), donde son incorporados a las cadenas tróficas a través de la herbivoría. Además, algunos metales pesados como el selenio (Se), Hg y As pueden ser volatilizados por las plantas a la atmósfera o por algunos grupos microbianos especializados (Tabak *et al.*, 2005; Valls & De Lorenzo, 2002).

Tecnologías de remediación de suelos contaminados con metales pesados

A diferencia de los contaminantes orgánicos, los metales no pueden descomponerse por vía biológica, física o química, de manera que la remediación de suelos contaminados con metales pesados se limita al confinamiento de estos residuos o a la alteración de su solubilidad, movilidad y/o toxicidad (Volke-Sepúlveda *et al.*, 2005) a través de cambios en su estado de valencia, lo que favorece su inmovilización (quelación) y/o movilización (disolución) (Bosecker, 2001; Stephen & Macnaughton, 1999).

Dependiendo de su naturaleza, los métodos de remediación de suelos contaminados con metales pesados se clasifican en: 1) *fisicoquímicos*, aquéllos que utilizan las propiedades físicas y químicas de los contaminantes o del medio contaminado para transformar, separar o inmovilizar el contaminante (Dermont, Bergeron, Mercier, & Richer-Lafleche, 2008; Volke-Sepúlveda *et al.*, 2005), y 2) *biológicos*, también denominados *biorremediación*, aquéllos que aprovechan el potencial metabólico de organismos vivos (bacterias, hongos y plantas) para limpiar ambientes contaminados (Gadd, 2010; Kazuya, 2001).

Los tratamientos fisicoquímicos más empleados consisten en procesos como la oxidación/reducción (transformación) de los metales, el lavado de suelos (separación de los metales) y la solidificación/extracción (inmovilización de los metales) (Dermont *et al.*, 2008; Peng, Song, Peng, Cui & Qiu, 2009; Van Deuren, Lloyd, Chetry, Liou & Peck, 2002). Sin embargo, una desventaja de los métodos fisicoquímicos radica en que la mayoría requiere de la excavación del suelo y un proceso secundario de tratamiento o disposición final del contaminante, lo que genera un costo económico y ambiental.

Otra alternativa para el tratamiento de metales pesados es la remediación biológica o biorremediación, la cual implica la descontaminación por vía biológica. En el caso de los suelos contaminados con metales pesados, se aprovecha la capacidad que tienen algunos microorganismos para movilizar o inmovilizar estos contaminantes (Lovley & Coates, 1997).

Los principales microorganismos utilizados en los procesos de biorremediación de metales pesados son las bacterias (Schippers & Sand, 1999; Valls & De Lorenzo, 2002) y los hongos (Gadd, 1993; Gadd, 2010; González-Chávez *et al.*, 2004). Los procesos microbianos utilizados en el tratamiento de suelos contaminados con metales pesados son:

1) **Biosorción:** los metales pesados pueden ser absorbidos pasivamente a los componentes celulares de los microorganismos debido a atracciones electrostáticas. Al tener los metales carga positiva son atraídos por las cargas negativas de los grupos carboxilos, fosforilos y aminos presentes en las paredes celulares, membranas y material extracelular de bacterias y hongos (Gadd, 2004; Kirchman, 2012). Una vez adheridos a la superficie celular algunos metales pesados se internalizan en la célula, donde los cationes metálicos pueden ser ligados o precipitados dentro de vacuolas u otras estructuras para minimizar su toxicidad.

Los hongos filamentosos pueden adsorber metales pesados en soluciones acuosas, su capacidad de biosorción depende del pH, la concentración de biomasa y los metales presentes en la solución (Bishnoi & Garima, 2004). Algunos géneros microbianos utilizados con éxito para remover cadmio (Cd), Pb y cobre (Cu) son *Rhizopus*, *Penicilium* y *Phanerochaete* (Say, Denizli & Arica, 2001).

2) **Bioprecipitación:** ciertos metales pesados pueden ser inmovilizados eficientemente debido a la acción de bacterias con la capacidad de reducirlos a un estado redox menor, reduciendo la biodisponibilidad de estos elementos (Valls & De Lorenzo, 2002). Este fenómeno se conoce como *reducción biológica*, y es reconocido como un proceso metabólico importante que controla el transporte y el destino de los metales pesados en el suelo (Tabak *et al.*, 2005; Volke-Sepúlveda *et al.*, 2005).

La reducción biológica ocasiona que formas oxidadas de metales multivalentes pasen rápidamente a formas reducidas que se precipitan fácilmente en una solución acuosa. En este sentido, un grupo bacteriano muy importante es el de las bacterias sulfato reductoras (BSR), ya que son usadas de manera común para el tratamiento de suelos y aguas contaminados con metales pesados (White, Sharman & Gadd, 1998).

Bajo condiciones anaeróbicas, las BSR pueden oxidar compuestos orgánicos simples al utilizar sulfato como aceptor de electrones produciendo sulfuro (S^{2-}) e incrementando el pH en el proceso. Este sulfuro puede reaccionar con los metales disueltos y formar precipitados metal-sulfuro, los cuales, por lo general, tienen una toxicidad muy baja (Jong & Parry, 2003).

3) **Biolixiviación (heterotrófica y autotrófica):** el proceso de biolixiviación heterotrófica consiste en la acidificación del medio por la movilización de protones a través de la membrana plasmática, ocasionando una liberación de metales a través de varias rutas; *i.e.* la competencia entre protones y metales en un complejo metal-anión o cuando se encuentran en una forma asimilada con algún otro elemento, lo cual genera una liberación de cationes metálicos. También el metabolismo heterotrófico puede ocasionar lixiviación debido a la producción de ácidos orgánicos y sideróforos (Gadd, 2004).

Generalmente, la biolixiviación autotrófica es llevada a cabo por bacterias quimiolitotróficas y acidófilas, las cuales fijan bióxido de carbono y obtienen energía de la oxidación de compuestos férricos y sulfuro reducidos, ocasionando la producción de fierro (Fe III) y ácido sulfúrico (H₂SO₄) (Rawlings & Silver, 1995; Schippers & Sand, 1999). Los microorganismos involucrados en este proceso incluyen a las bacterias que oxidan azufre (S) y fierro como *Thiobacillus thiooxidans*, *T. ferrooxidans* y *Leptospirillum ferrooxidans* (Donati & Sand, 2007), como resultado de la oxidación de compuestos férricos y del azufre, el pH decrece resultando en una solubilización de otros compuestos metálicos.

4) **Biovolatilización:** algunas bacterias y hongos pueden llevar a cabo la metilación de metales pesados y metaloides como el Hg, As y Se. Los compuestos metilados difieren en su solubilidad, toxicidad y volatilidad (Tabak *et al.*, 2005). Los metales metilados pueden ser reducidos a otras formas por medio de reacciones enzimáticas bacterianas, como es el caso del metil mercurio, el cual puede ser reducido a una forma menos tóxica y más volátil como el Hg⁰; esto se realiza mediante la acción de la enzima mercurio reductasa (Valls & De Lorenzo, 2002), reportada en algunas especies bacterianas como *Pseudomonas putida*, *Escherichia coli* y *Deinococcus radiodurans* (Brim *et al.*, 2000; Cursino *et al.*, 2000; Okino, Iwasaki, Yagi & Tanaka, 2000) y en géneros como *Pseudomonas*, *Acinetobacter*, *Bacillus*, *Shewanella*, *Staphylococcus* y *Stenotrophomonas*.

Mientras que algunos géneros fúngicos como *Alternaria*, *Scopulariopsis*, *Fusarium*, *Acremonion*, *Penicillium* y *Ulocladium* (Frankenberger & Karlson, 1995) tienen la capacidad de volatilizar Se, lo cual ocurre a través de una primera reducción de las especies químicas de Se a Se²⁻, seguido de una metilación (Frankenberger & Karlson, 1994).

Microorganismos y fitorremediación

La *fitorremediación* es definida como al uso de plantas y sus diferentes productos para estabilizar o restaurar sitios contaminados. En el caso de la remediación de suelos con metales pesados, la fitoextracción de los contaminantes es uno de los campos más estudiados y mayor avance científico (Rajkumar, Sandhya, Prasad & Freitas, 2012; Volke-Sepúlveda *et al.*, 2005).

Debido a que la mayoría de las plantas con potencial para ser usadas en procesos de fitorremediación son de crecimiento lento y baja producción de biomasa (Pilon-Smits, 2005), y además la concentración de metales alta puede ser tóxica también para las plantas, se han realizado investigaciones para mejorar los tratamientos de fitorremediación.

También el uso de hongos y bacterias ha sido señalado como una alternativa para mejorar los tratamientos de fitorremediación de metales pesados. Mediante algunos procesos (*i.e.* metilación, sorción, lixiviación y precipitación) y la producción de ciertos metabolitos (sideróforos, metalotioneínas, fitoquelatinas y exopolisacáridos), se puede incrementar o mejorar la tasa de extracción de metales en los procesos de fitorremediación (Ma, Prasad, Rajkumar & Freitas, 2011; Rajkumar *et al.*, 2012).

CONCLUSIONES

La contaminación por metales pesados es un problema grave, especialmente en países productores de minerales como México. Los métodos fisicoquímicos, a pesar de ser eficientes, representan un costo económico y ambiental. Así, los métodos biológicos basados en el uso de las propiedades metabólicas de bacterias y hongos para la descontaminación de metales pesados son una opción complementaria a los métodos tradicionales. Sin embargo, son necesarios más estudios sobre la diversidad microbiana de los sitios contaminados por metales pesados, pues es ahí donde pueden surgir cepas mejor adaptadas y con mejores capacidades para ser utilizadas en la biorremediación de estos contaminantes.

REFERENCIAS

- Adriano, D. C., Wenzel, W. W., Vangronsveld, J., & Bolan, N. S. (2004). Role of assisted natural remediation in environmental cleanup. *Geoderma*, 122(3-4), 121-142.
- Alloway, B. J. (2013). *Heavy metals in soils, trace metals and metaloids in soils and their bioavailability* (3^{ra} ed.). Reading, UK: Springer.

- Armienta, M. A., Rodríguez, R., & Cruz, O. (1997). Arsenic content in hair of people exposed to natural arsenic polluted groundwater at Zimapan, Mexico. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, 59(4), 583-589.
- Bishnoi, N. R., & Garima, N. (2004). Fungus-An alternative for bioremediation of heavy metal containing wastewater: A review. *Journal of Scientific and Industrial Research*, 64(2), 93-100.
- Blake, L., & Goulding, K. W. T. (2002). Effects of atmospheric deposition, soil pH and acidification on heavy metal contents in soils and vegetation of semi-natural ecosystems at Rothamsted experimental station, UK. *Plant and Soil*, 240(2), 235-251.
- Boussen, S., Soubrand, M., Bril, H., Ouerfelli, K., & Abdeljaoud, S. (2013). Transfer of lead, zinc and cadmium from mine tailings to wheat (*Triticum aestivum*) in carbonated mediterranean (Northern Tunisia) soils. *Geoderma*, 192, 227-236.
- Bosecker, K. (2001). Microbial leaching in environmental clean-up programs. *Hydrometallurgy*, 59(2-3), 245-248.
- Brim, H., McFarlan, S. C., Fredrickson, J. K., Minton, K. W., Zhai, M., Wackett, L. P., & Daly, M. J. (2000). Engineering *Deinococcus radiodurans* for metal remediation in radioactive mixed waste environments. *Nature Biotechnology*, 18(1), 85-90.
- Clemente, R., Escobar, A., & Pilar, B., M. (2006). Heavy metals fractionation and organic matter mineralisation in contaminated calcareous soil amended with organic material. *Bioresource Technology*, 97(15), 1894-1901.
- Cursino, L., Mattos, S. V., Azevedo, V., Galarza, F., Buckner, D. H., Chartone-Souza, E., & Nascimento, A. (2000). Capacity of mercury volatilization by mer (from *Escherichia coli*) and glutathione S-transferase (from *Schistosoma mansoni*) genes cloned in *Escherichia coli*. *Science of Total Environment*, 261(1-3), 109-113.
- Dermont, G., Bergeron, G., Mercier, G., & Richer-Lafleche, M. (2008). Soil washing for metal removal: A review of physical/chemical technologies and field applications. *Journal of Hazardous Materials*, 152(1), 1-31.
- Donati, E. R., & Sand, W. (2007). *Microbial processing of metal sulfides*. UK: Springer.
- Frankenberger, W. T. Jr., & Karlson, U. (1994). Soil management factors affecting volatilization of selenium from dewatered sediments. *Geomicrobiology Journal*, 12(4), 265-278.
- Frankenberger, W. T. Jr., & Karlson, U. (1995). Volatilization of selenium from a dewatered seleniferous sediment: a field study. *Journal of Industrial Microbiology*, 14(3-4), 226-232.
- Gadd, G. M. (1993). Interaction of fungi with toxic metals. *New Phycologist*, 124(1), 25-60.
- Gadd, G. M. (2004). Microbial influence on metal mobility and application for bioremediation. *Geoderma*, 122(2-4), 109-119.
- Gadd, G. M. (2010). Metals, minerals and microbes: geomicrobiology and bioremediation. *Microbiology*, 156(Pt 3), 609-643.
- Gamalero, E., Lingua, G., Berta, G., & Glick, B. R. (2009). Beneficial role of plant growth promoting bacteria and arbuscular mycorrhizal fungi on plant response on heavy metal stress. *Canadian Journal of Microbiology*, 55(5), 501-514.
- González-Chávez, M. C., Carrillo-González, R., Wright, S. F., & Nichol, K. A. (2004). The role of glomalin, a protein produced by arbuscular mycorrhizal fungi, in sequestering potential fungi elements. *Environmental Pollution*, 130(3), 317-323.
- Green-Ruiz, C., & Páez-Osuna, F. (2001). Heavy metal anomalies in lagoon sediments related to intensive agriculture in Altata-Ensenada del Pabellon coastal system (SE gulf of California). *Environmental International*, 26(4), 265-273.
- Jong, T., & Parry, D. L. (2003). Removal of sulfate and heavy metals by sulfate reducing bacteria in short-term bench scale upflow anaerobic packed bed reactor runs. *Water Research*, 37(14), 3379-3389.
- Kabata-Pendias, A., & Mukherjee, A. B. (2007). *Trace elements from soil to human*. Berlin: Springer.
- Kazuya, W. (2001). Microorganisms relevant to bioremediation. *Current Opinion in Biotechnology*, 12(3), 237-241.
- Kirchman, D. L. (2012). *Processes in microbial ecology*. UK: Oxford University Press.
- Lebeau, T., Braud, A., & Jezequel, K. (2008). Performance of bioaugmentation-assisted phytoextraction applied to metal contaminated soils: A review. *Environmental Pollution*, 153(3), 497-522.
- Lovley, D. R., & Coates, J. D. (1997). Bioremediation of metal contamination. *Current Opinion in Biotechnology*, 8(3), 285-289.
- Lu, A., Zhang, S., & Shan, X. (2005). Time effect on the fractionation of heavy metals in soils. *Geoderma*, 125(3-4), 225-234.
- Ma, Y., Prasad, M. N. V., Rajkumar, M., & Freitas, H. (2011). Plant growth promoting rhizobacteria and endophytes accelerate phytoremediation of metalliferous soils. *Biotechnology Advances*, 29(2), 248-258.
- Morton-Bermea, O., Hernández-Álvarez, E., González-Hernández, G., Romero, F., Lozano, R., & Beramandi-Orosco, L. E. (2009). Assessment of heavy metal pollution in urban topsoils from the metropolitan area of Mexico city. *Journal of Geochemical Exploration*, 101(3), 218-224.
- Nicholson, F. A., Smith, S. R., Alloway, B. J., Carlton Smith, C., & Chambers, B. J. (2003). An inventory of heavy metals inputs to agricultural soils in England and Wales. *Science of the Total Environment*, 311(1-3), 205-219.
- Okino, S., Iwasaki, K., Yagi, O., & Tanaka, H. (2000). Development of a biological mercury removal-recovery system. *Biotechnology Letters*, 22(9), 783-788.
- Peng, J., Song, Y., Peng, P., Cui, X., & Qiu, G. (2009). The remediation of heavy metals contaminated sediment. *Journal of Hazardous Materials*, 161(2-3), 633-640.
- Pilon-Smits, E. (2005). Phytoremediation. *Annual Review of Plant Biology*, 56, 15-39.
- Rajkumar, M., Sandhya S., Prasad, M. N. V., & Freitas, H. (2012). Perspectives of plant-associated microbes in heavy metal phytoremediation. *Biotechnology Advances*, 30(6), 1562-1574.

- Rawlings, D. E., & Silver, S. (1995). Mining with microbes. *Biotechnology*, 13, 773-738.
- Santos-Santos, E., Yarto-Ramírez, M., Gavilán-García, I., Castro-Díaz, J., Gavilán-García, A., Rosiles, R., Suárez, S., & López-Villegas, T. (2006). Analysis of arsenic, lead and mercury in farming areas with mining contaminated soils at Zacatecas, Mexico. *Journal of Mexican Chemistry Society*, 50(2), 57-63.
- Say, R., Denizli, A., & Arica, M. Y. (2001). Biosorption of cadmium (II), lead (II) and copper (II) with filamentous fungus *Phanerochaete chrysosporium*. *Biore-source Technology*, 76(1), 67-70.
- Schippers, A., & Sand, W. (1999). Bacterial leaching of metal sulfides proceeds by two indirect mechanisms via thiosulfate or via polysulfides and sulphur. *Applied and Environmental Microbiology*, 65(1), 319-321.
- Stephen, J. R., & Macnaughton, S. J. (1999). Developments in terrestrial remediation of metals. *Current Opinion in Biotechnology*, 10(3), 230-233.
- Tabak, H. H., Lens, P., van Hullebusch, E. D., & Dejonghe, W. (2005). Developments in bioremediation of soils and sediments polluted with metals and radionuclides—1. Microbial processes and mechanisms affecting bioremediation of metal contamination and influencing metal toxicity and transport. *Reviews in Environmental Science and Biotechnology*, 4(3), 115-156.
- Valls, M., & De Lorenzo, V. (2002). Exploiting the genetic and biochemical capacities of bacteria for the remediation of heavy metal pollution. *FEMS Microbiology Reviews*, 26(3), 327-338.
- Van Deuren, J., Lloyd, T., Chetry, S., Liou, R., & Peck, J. (2002). Remediation technologies screening matrix and reference guide. 4th edition, Federal Remediation Technologies Roundtable (FRTR). Recuperado de <https://frtr.gov/matrix2/section1/toc.html>. Platinum International Inc.
- Volke-Sepúlveda, T., Velasco-Trejo, J. A., & De la Rosa-Pérez, D. A. (2005). *Suelos contaminados por metales pesados y metaloides*. México: INE-Semarnat.
- Weast, R. C. (1984). *CRC Handbook of chemistry and physics* (64^{va} edición). Boca Raton Florida: CRC Press.
- White, C., Sharman, A. K., & Gadd, G. M. (1998). An integrated microbial process for the bioremediation of soil contaminated with toxic metals. *Nature Biotechnology*, 16(6), 572-575.
- Young, S. D. (2012). Chemistry of heavy metals and metalloids in soils. En B. J. Alloway (Ed.), *Heavy metals in soils trace metals and metalloids in soils and their bioavailability*. Berlin: Springer.
- Zeng, F., Ali, S., Zhang, H., Ouyang, Y., Qiu, B., Wu, F., & Zhang, G. (2011). The influence of pH and organic matter content in paddy soil on heavy metal availability and their uptake by rice plants. *Environmental Pollution*, 159(1), 84-91.