

Aislamiento y caracterización filogenética de bacterias nativas cultivables procedentes de minas abandonadas en Tacna, Perú

Isolation and phylogenetic characterization of cultivable native bacteria from abandoned mines in Tacna, Peru

César Julio Cáceda Quiroz^{1*} , Gisela July Maraza Choque¹ , Dina Mayumi Chachaque Callo¹ , Gabriela de Lourdes Fora Quispe¹ , Diana Galeska Farfan Pajuelo¹ , Milena Carpio Mamani¹ 

¹ Facultad de Ciencias, Escuela Profesional de Biología-Microbiología, Universidad Nacional Jorge Basadre Grohmann, Av. Cusco s/n, Tacna 23004, Perú.

RESUMEN

Las bacterias nativas adaptadas a ambientes contaminados han demostrado su gran capacidad de sobrevivir en condiciones adversas. El objetivo de este estudio fue identificar las bacterias presentes en suelos de minas abandonadas, además de investigar las relaciones filogenéticas de estas bacterias nativas cultivables. Se realizó el aislamiento bacteriano, la extracción de ADN, amplificación por PCR, secuenciación del gen 16S ARNr, reconstrucción filogenética de Máxima Verosimilitud (ML) con RaXML, e identificación de géneros relacionadas con microreact. Las secuencias obtenidas fueron editadas a un tamaño de 1200 – 1400 pb, que posteriormente se compararon con 1137 secuencias procedentes de la base de datos del GenBank. Los nueve aislamientos obtenidos se agruparon filogenéticamente en seis grupos que corresponderían a los géneros *Bacillus*, *Cytobacillus*, *Paenibacillus*, *Microbacterium*, *Peribacillus*, *Acinetobacter*. Por lo tanto, se resalta el potencial inexplorado de estas bacterias para ser utilizadas en procesos de biorremediación. Además, algunas de estas bacterias pueden ser propuestos como indicadores de contaminación, lo que amerita realizar una investigación más detallada debido a que estos microorganismos pueden ser empleados en futuras investigaciones.

Palabras clave: Bacteria nativa, Minas abandonadas, Contaminación de suelos, Reconstrucción filogenética, Biorremediación.

ABSTRACT

Native bacteria adapted to contaminated environments have demonstrated their remarkable survival ability under adverse conditions. This study aimed to identify bacteria present in soils from abandoned mines and to investigate the phylogenetic relationships of these cultivable native bacteria. Bacterial isolation, DNA extraction, PCR amplification, 16S rRNA gene sequencing, Maximum Likelihood phylogenetic reconstruction using RaXML, and identification of related genera using microreact, were conducted. The obtained sequences were edited to a 1200 – 1400 bp size, and subsequently compared with 1137 sequences from the GenBank database. The nine obtained isolates were phylogenetically grouped into six clusters corresponding to the genera *Bacillus*, *Cytobacillus*, *Paenibacillus*, *Microbacterium*, *Peribacillus*,

and *Acinetobacter*. Thus, the unexplored potential of these bacteria for use in bioremediation processes is highlighted. Additionally, some of these bacteria may be proposed as pollution indicators, warranting further detailed investigation as these microorganisms could be employed in future research endeavors.

Keywords: Native bacteria, Abandoned mines, Soil contamination, Phylogenetic reconstruction, Bioremediation.

INTRODUCCIÓN

Las minas abandonadas o inactivas son un problema a nivel global, que representan una amenaza potencial para la salud y el ambiente (Candeias *et al.*, 2019). Durante los procesos extractivos, es común que se generen residuos mineros que permanecen en el suelo (Ali y Khan, 2017), estos desechos exhiben la capacidad de ser transportadores de contaminantes, pudiendo ingresar a la cadena alimentaria (Wuana y Okieimen, 2011; Bini *et al.*, 2017), este fenómeno puede ocasionar perturbaciones en el entorno del ecosistema.

A nivel mundial, se estima que existen más de un millón de minas abandonadas, incluidos pozos, socavones y minas aluviales en funcionamiento (Coelho y Teixeira, 2011). Específicamente en las explotaciones de cobre, se realizan comúnmente a tajo abierto, generando grandes cantidades de desechos. La producción de una tonelada de cobre, requieren más de 150 toneladas de mineral, las cuales son sometidas a procesos de excavación, trituración, flotación y extracción mediante diferentes métodos que dependen de la naturaleza del material (Rzymski *et al.*, 2017). La extracción de azufre, está condicionada por la profundidad del yacimiento, resultando en un impacto ambiental perjudicial, típicamente manifestado como la acidificación del suelo (Tabak *et al.*, 2020). De estos factores surge a la necesidad de recuperar los terrenos mineros abandonados, un desafío que en algunos casos resulta ser extraordinariamente compleja (Favas *et al.*, 2018).

Desde esta perspectiva, se han desarrollado metodologías orientadas a mejorar y desarrollar una gestión eficiente de los desechos mineros (Agboola *et al.*, 2020), con la finalidad de mitigar y atenuar el impacto generado en el ambiente. En este enfoque, los microorganismos son los más

*Autor para correspondencia: César Julio Cáceda Quiroz

Correo-e:cuccacedaq@unjgb.edu.pe

Recibido: 16 de agosto de 2023

Aceptado: 10 de febrero de 2024

Publicado: 04 de marzo de 2024

utilizados para desintoxicar una gran cantidad de contaminantes a través de su actividad metabólica (Liu *et al.*, 2021; Bala *et al.*, 2022).

Las bacterias presentes en el suelo desempeñan un rol importante en el mantenimiento de la dinámica ecológica (Fernandes *et al.*, 2018). Además, se puede encontrar especies bacterianas aún no caracterizadas, que habitan en sitios contaminados (Altimira *et al.*, 2012; Salam y Varma, 2019), las cuales poseen la capacidad de convertir los desechos en valiosos recursos biológicos (Kumar y Gopal, 2015), resistir el estrés ambiental a través de la mutación y evolución, permitiéndoles sobrevivir en una amplia diversidad de áreas y condiciones ambientales (Jiang *et al.*, 2020). Estos microorganismos autóctonos son un grupo de consorcios microbianos innatos que habitan en el suelo (Jan *et al.*, 2020), y resultan altamente beneficiosos en aplicaciones de biolixiviación, biodegradación, biofertilizante, *natural farming*, y biocompostaje, generando beneficios económicos, sociales y de protección ambiental (Kumar y Gopal, 2015; Kapahi y Sachdeva, 2019; Verma y Kuila, 2019; Zhang *et al.*, 2020). Su empleo puede aumentar la eficiencia en los procesos de biorremediación, debido a su gran potencial para sobrevivir en diversos ambientes y puede evitar impactos ecológicos impredecibles asociados con la introducción de organismos no nativos (Bôto *et al.*, 2021). En este sentido, es necesario comprender la diversidad bacteriana en ambientes específicos, debido que permiten comprender la complejidad de estos sistemas (Valenzuela-González *et al.*, 2015).

El gen 16S rRNA se usa ampliamente en filogenia bacteriana (Hassler *et al.*, 2022), este análisis de secuencias facilita la identificación de cepas raramente aisladas, y puede conducir al reconocimiento de nuevos patógenos y bacterias no cultivables (Clarridge, 2004). Sin embargo, se ha demostrado que las plataformas de secuenciación de lectura corta, de las regiones variables del gen 16S rRNA no pueden lograr la resolución taxonómica que ofrece la secuenciación del gen completo (~ 1500 pb) (Johnson *et al.*, 2019) a pesar de ser un método de identificación rápido y preciso para aislados bacterianos, no es aplicable para varios géneros y solo proporcionan identificación hasta el nivel de Género (Raina *et al.*, 2019). Por otra parte, es importante entender las relaciones filogenéticas de las bacterias (Woese, 1987), debido a que genéticamente pueden estar relacionadas por similitudes en aspectos de funcionalidad. Los genomas bacterianos pueden contener rastros de una historia evolutiva compleja, que incluye una extensa recombinación homóloga, pérdida, duplicación y transferencia horizontal de genes (Zhou *et al.*, 2020). Además, aún no se han estudiado a profundidad las bacterias que están asociados a suelos contaminados por metales pesados.

Por lo tanto, la presente investigación tuvo como objetivo identificar bacterias presentes en suelos contaminados en minas abandonadas, así como investigar sus relaciones filogenéticas de las bacterias nativas cultivables, con la posibilidad de emplearse en procesos de biorremediación.

MATERIALES Y MÉTODOS

Área de estudio

El estudio se realizó en las minas abandonadas ubicadas en las provincias de Candarave ($17^{\circ} 3' 1''$ LS y $70^{\circ} 10' 3.5''$ LW) y Palca ($17^{\circ} 46' 45.4''$ LS y $69^{\circ} 51' 57.0''$ LW) en el departamento Tacna, Perú. Estas instalaciones mineras realizaban la extracción de azufre y cobre respectivamente, y los pasivos ambientales que se analizó se encontró contaminación por arsénico, plomo y cianuro libre (Cáceda *et al.*, 2022).

Para el aislamiento bacteriano se realizó un muestreo aleatorio compuesto en cinco puntos por cada área de investigación, las muestras de residuos mineros se recolectaron a una profundidad de 0 - 15 cm, luego se almacenó y selló en bolsas de plástico de primer uso para luego ser transportadas al laboratorio de biorremediación de la Facultad de Ciencias de la Universidad Nacional Jorge Basadre Grohmann.

Aislamiento de microorganismos

Para el aislamiento bacteriano, se pesó 100 g de cada muestra de residuo minero y se agregó en un matraz de un litro que contenía 200 mL de agua destilada estéril, posteriormente se homogenizó a 150 rpm a temperatura ambiente durante 1 h, luego se transfirió 10 mL del sobrenadante en 90 mL del medio Infusión Cerebro Corazón (ICC), que se incubó a 30 °C por 24 h (Restrepo *et al.*, 2006; Kandasamy *et al.*, 2015; Khamar *et al.*, 2015). Finalmente, se sembró en placas con Agar Trypticase Soya (ATS) y las bacterias fueron criopreservadas a -80 °C en Caldo Trypticase Soya (CTS) con 30 % de glicerol.

Extracción de ADN, PCR y secuenciación

Se realizó la extracción de ADN utilizando el kit ADN bacteriano *innuPREP* (AnalytikJena, 2017), posteriormente para la amplificación por PCR se utilizaron primers universales forward 27F 5' AGAGTTGATCMTGGCTCAG 3' y reverse 1492R 5' TACGGYTACCTTGTACGACTT 3' (Hou *et al.*, 2018); para la reacción de PCR se utilizó con un volumen final de 25 µL, que incluye Buffer 10x (2.5 µL), 50 mM MgCl₂ (1 µL), 2 mM, dNTP's (2.5 µL), 10 nM primers (1 µL), 5U µL⁻¹ Taq DNA polimerasa (0.20 µL) (Invitrogen), 8 ng de ADN que fueron cuantificados utilizando un fluorómetro Qubit 4 (Life Technologies, EE. UU.) y se completó con agua ultra pura, las condiciones de reacción fueron las siguientes: a 96 °C por 4 min, y 30 ciclos de 30 seg a 94 °C, 30 seg a 55 °C, y extensión de 1 min a 71 °C, con una extensión final de 10 min a 72 °C (Dos Santos *et al.*, 2019). La cuantificación de ADN se realizó utilizando Qubit y se visualizaron mediante electroforesis en gel de agarosa al 1 %, los que contenían bandas visibles se enviaron a secuenciar a la empresa Macrogen, Seúl-Corea del Sur.

Análisis de datos

Las secuencias de ADN fueron alineadas y ensambladas mediante el software MEGA v6.0 y posteriormente la identificación taxonómica se realizó comparándolo con la base de datos del GenBank, del Centro Nacional de Información Biotecnológica (National Center for Biotechnology Informa-

tion-NCBI), usando la herramienta BLASTN. Se consideraron sólo aquellas secuencias que presentaban un porcentaje de identidad superior a 94 % con la secuencia sometida. La reconstrucción filogenética de máxima verosimilitud (*maximum likelihood*) se realizó mediante el programa RaXML y la identificación de géneros relacionados con el programa microreact.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Identificación molecular y reconstrucción filogenética

En este estudio, todas las secuencias obtenidas fueron editadas a un tamaño de 1200 a 1400 pb. Posteriormente se realizó una búsqueda en la base del GenBank y se realizó la comparación de secuencias de nucleótidos mediante un Blast que reveló porcentajes de identidad superior al 94%. Para la reconstrucción filogenética de máxima verosimilitud se utilizó una metadata conformada por 1137 secuencias (Tabla 1, Figura 1) que incluyeron 116 géneros bacterianos.

Las cepas B1, B2, B4, B3, B5, B6, B9, B10, B11 fueron aislados de residuos mineros contaminados con arsénico, plomo y cinauro libre (Cáceda *et al.*, 2022), estas bacterias se agruparon en 6 grupos que corresponde a los géneros *Bacillus*, *Cytobacillus*, *Paenibacillus*, *Microbacterium*, *Peribacillus* y *Acinetobacter* (Figura 2), lo que indica su capacidad de sobrevivir, adaptarse y proliferarse en entornos adversos afectados por la contaminación, y podrían transformar los residuos en recursos biológicos valiosos (Kumar y Gopal, 2015), desempeñando un papel crucial en este tipo de hábitats, que podría aumentar la eficiencia en los procesos de biorremediación (Guo *et al.*, 2010; Kumar y Gopal, 2015; Vaishnavi *et al.*, 2019; Amrane *et al.*, 2020).

El análisis filogenético obtenido mediante el método de máxima verosimilitud (ML), indica que la cepa B1 está estre-

Tabla 1. Identification of the strains

Tabla 1. Identificación de las cepas

Cepa	Identificación	Cobertura (%)	Identidad (%)	Accesión
B1	<i>Paenibacillus</i>	100	99.56	FR849920.1
B2	<i>Bacillus</i>	100	99.85	NR_118996.1
B3	<i>Cytobacillus</i>	100	99.85	NR_112635.1
B4	<i>Peribacillus</i>	100	100	NR_117474.1
B5	<i>Bacillus</i>	99	100	NR_115526.1
B6	<i>Bacillus</i>	100	100	NR_074540.1
B9	<i>Bacillus</i>	100	100	NR_113266.1
B10	<i>Microbacterium</i>	100	94.07	OP351504.1
B11	<i>Acinetobacter</i>	99	99.86	NR_113346.1

Lista de géneros bacterianos identificadas a nivel molecular, mediante amplificación por PCR del gen ARN 16S, provenientes de muestras de suelos de minas abandonadas, en la provincia de Tacna, Perú.

chamente relacionada con el género *Paenibacillus*, la cepa B4 con *Peribacillus*, las cepas B2, B6, B9, B5 con el género *Bacillus*, la cepa B3 esta relacionado con el género *Cytobacillus*, B10 con el género *Microbacterium* y la cepa B11 al género de *Acinetobacter* (Figura 3). Lo que sugiere que los taxones comparten características ecológicas y rasgos funcionales (Morrissey *et al.*, 2016). El gen 16S ARNr comúnmente se utiliza para investigar la filogenia y la taxonomía bacteriana, proporcionando identificación a nivel de género y especie, la falta de una definición cuantitativa consensuada de género o especie dificulta la identificación a nivel de especie. En la mayoría de los casos, la identificación de géneros supera el 90% (Janda y Abbott, 2007), pero surgen dificultades debido a la similitud genética entre individuos que varía del 92% al 99% (Pereira *et al.*, 2020), complicando la identificación precisa a nivel de especie (Clarridge, 2004).

Especificamente el género *Bacillus* alberga aproximadamente 293 especies/subespecies, constituyen un grupo filogenéticamente incoherente (Patel y Gupta, 2020), además basado en el marco filogenético, la genómica comparativa y las características morfológicas, algunas especies se han separado del género *Bacillus* y se han asignado a nuevos géneros. Ademas, las relaciones entre individuos de una misma especie o género se actualizan periódicamente, proponiendo la transferencia de especies de estos clados a nuevos géneros de *Bacillus* como son: *Alicyclobacillus*, *Paenibacillus*, *Aneurinibacillus*, *Brevibacillus*, *Halobacillus*, *Virgibacillus*, *Filobacillus*, *Jeotgalibacillus* y *Peribacillus* *Cytobacillus*, *Mesobacillus*, *Neobacillus*, *Metabacillus* y *Alkalihalobacillus* (Starostin *et al.*, 2015; Jiang *et al.*, 2021), que representan un paso importante hacia la clarificación de la filogenia y taxonomía del género *Bacillus*. Estos géneros tienden a formar clados en el árbol filogenético, algunos basados en secuencias concatenadas para grandes conjuntos de proteínas diferenciadas de otras especies de *Bacillaceae* (Patel y Gupta, 2020).

En el caso del género *Bacillus*, se han realizado investigaciones en biotecnología, considerándolos agentes potencialmente activos y eficaces para la eliminación de diversos metales tóxicos presentes en el ambiente (Alotaibi *et al.*, 2021; Arce-Inga *et al.*, 2022). Las investigaciones realizadas por Zahoor y Rehman (2009), Guo *et al.* (2010), Gupta *et al.* (2010) así como Ayangbenro y Babalola (2020), aislaron *Bacillus* sp., *Bacillus cereus*, *B. subtilis*, *B. thuringiensis*, *B. steroothermophilus*, *B. megaterium*, *B. cereus*, *B. pumilus*, *B. licheniformis*, *B. jeotgalim* de ambientes contaminados demostrando tolerancia a metales pesados con capacidad para ser utilizados en procesos de biorremediación. Investigaciones realizadas por Ran *et al.* (2020) identificaron a *Bacillus safensis* de un suelo de mina contaminada por manganeso (Mn) y Mekuto *et al.* (2016) identificaron a *Bacillus marisflavi*, que tuvo la capacidad de crecer en medios que contienen CN⁻ y SCN⁻.

Para *Acinetobacter* sp., en investigaciones realizadas por Bazzi *et al.* (2020), Cai *et al.* (2021), Dhakephalkar y Chopade (1994), Irawati *et al.* (2021), Méndez *et al.* (2017), Nagvenkar y Ramaiah (2010), Pande *et al.* (2022) y Sevak *et al.* (2023) reportaron a *Acinetobacter radioresistens*, *Acineto-*

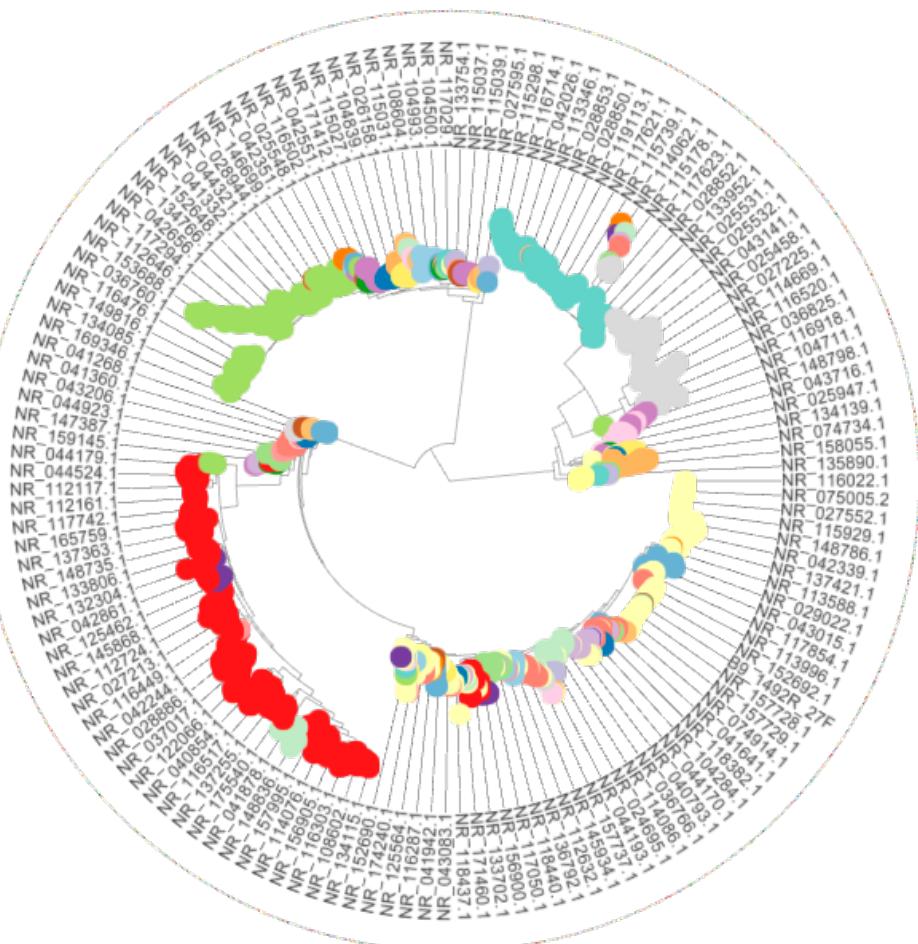


Figure 1. Phylogenetic reconstruction of maximum likelihood tree from 1137 sequences of the 16S rRNA gene.
Figura 1. Reconstrucción filogenética de árbol de máxima verosimilitud a partir 1137 secuencias del gen ARNr 16S.

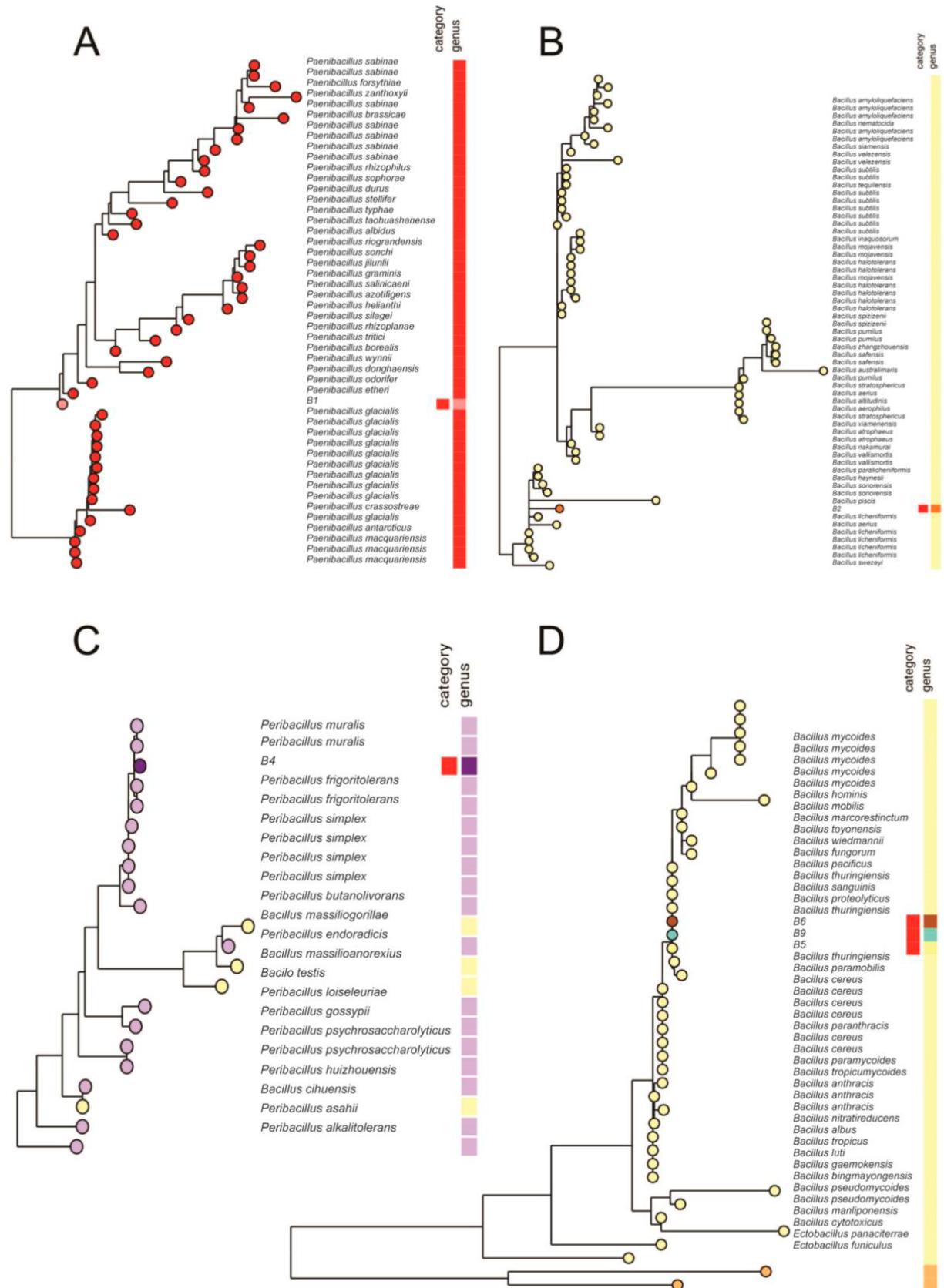
bacter *calcoaceticus*, *A. baumannii*, *A. calcoaceticus*, *A. junii*, *A. Iwoffii* y *A. johnsonii*, que fueron utilizados en procesos de biorremediación para extraer y detoxificar metales pesados transformando compuestos tóxicos como As, Cu, Cr, Hg, y Ag en sustancias menos tóxicas. Además, se ha demostrado la capacidad de este género para biodegradar hidrocarburos totales de petróleo, produciendo biosurfactantes en agua y suelo contaminando (Ortega *et al.*, 2018). *Acinetobacter venetianus* ha demostrado la capacidad de degradar alcanos (Mahjoubi *et al.*, 2013; Jung y Park, 2015; Nutman *et al.*, 2016; Méndez *et al.*, 2017; Ho *et al.*, 2020; Cai *et al.*, 2021).

Para el género *Paenibacillus* se han identificado a *Paenibacillus polymyxa*, *Paenibacillus dendritiformis*, *Paenibacillus validus*, *Paenibacillus alba* han mostrado potencial de eliminar metales pesados e hidrocarburos (Rawat y Rai, 2012; Çolak *et al.*, 2013; Kim *et al.*, 2015; Huang *et al.*, 2019; Dawwam *et al.*, 2023).

Además en investigaciones realizadas por Agarry *et al.* (2010), Onuoha (2014), Grady *et al.* (2016), Shibalal *et al.* (2017) y Sernaque *et al.* (2019), mencionaron que *Paenibacillus spp.* fué aislado de suelos contaminados.

En el caso del género *Peribacillus*, se han reportado 15 especies aisladas de muestras de suelo (Jiang *et al.*, 2021). En el caso de *Peribacillus frigoritolerans* tiene la capacidad de degradar algunos plásticos (Wufuer *et al.*, 2022).

Se conocen más de 90 especies de *Microbacterium*; en investigaciones realizadas por Correto *et al.* (2020) aislaron 70 microbacterias, pertenecientes a 20 especies diferentes (entre ellas: *M. azadirachtae*, *M. hydrocarbonoxydans*, *M. pumilum*, *M. oxydans*, etc.) en suelos contaminados con zinc, plomo y cadmio; Sheng *et al.* (2008), Aniszewski *et al.* (2010) y Learman *et al.* (2019), aislaron 16 cepas diferentes de microbacterias de suelo presentes en suelo minero contaminado. Según Correto *et al.* (2015) indican que varias especies de microbacterias han demostrado ser resistentes a diferentes metales pesados. Además, Salam *et al.* (2014) reportaron especies de este género que son capaces de tolerar y mantenerse viables en suelos contaminados con hidrocarburos, altas concentraciones de metales pesados y con capacidad de degradar el antraceno. También *Microbacterium terregenes* está involucrado en la degradación del fenol (Abdel-Razek *et al.*, 2015).



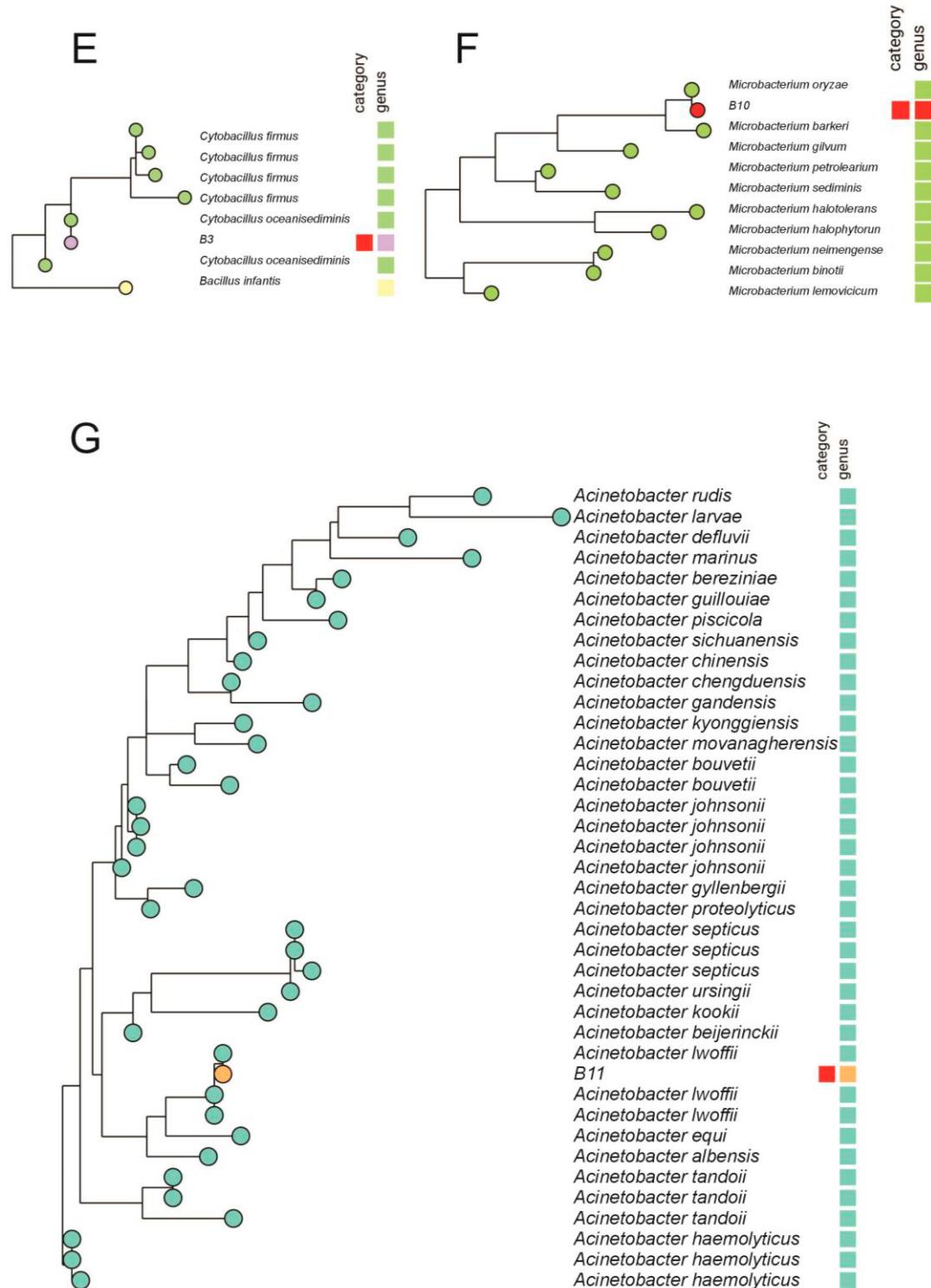


Figure 2. Maximum likelihood of phylogenetic reconstruction. A: *Paenibacillus* sp.; B: *Bacillus* sp.; C: *Cytobacillus* sp.; D: *Peribacillus* sp.; F: *Mycrobacterium* sp. B10; G: *Acinetobacter* sp.

Figura 2. Reconstrucción filogenética de máxima verosimilitud. A: *Paenibacillus* sp.; B: *Bacillus* sp.; C: *Cytobacillus* sp.; D: *Peribacillus* sp.; F: *Mycrobacterium* sp. B10; G: *Acinetobacter* sp.

En relación al género de *Cytobacillus*, investigaciones realizadas por Tarasov *et al.* (2023) han reportado a *Cytobacillus pseudoceanisediminis*, *Cytobacillus oceanisediminis* y *Cytobacillus firmus* que resisten bien la acción de los compuestos tóxicos de metales pesados y pueden ser utilizadas en tecnologías de biorremediación. *Cytobacillus* sp. ha sido aislado de suelos contaminados con petróleo crudo, mostrando capacidad de remoción de metales como el níquel, cadmio y plomo (Hussein y Saeed 2022).

La capacidad de resistir a metales pesados en estos géneros se relaciona con la presencia de enzimas y genes de resistencia, que varían para cada microorganismo. La biotransformación bacteriana se considera esencial para una desintoxicación eficaz y para minimizar los riesgos tóxicos de los metales pesados en la seguridad ambiental, estas transformaciones incluyen la capacidad de *Bacillus cereus* MRS-1 para convertir Hg^{2+} en HgS , *Bacillus pumilus* S3 para transformar Pb^{2+} en PbS , *Bacillus* sp. KMO2 para convertir As^{3+} en As^{5+} y, *Microbacterium* sp. MRS-1 para la conversión de Co^{2+} a Co_3O_4 (Mathivanan *et al.*, 2021).

En consecuencia, la amenaza significativa originada por las actividades antropogénicas en el entorno ha impulsado la consideración de estrategias innovadoras de descontaminación. Es crucial explorar las interacciones entre las comunidades microbianas en ambientes contaminados (Chandran *et al.*, 2020). Por ende, es necesario profundizar en la investigación de estos géneros debido a sus posibles aplicaciones en los procesos de biorremediación. Además, se sugiere la utilización de diversos marcadores moleculares para una identificación precisa de los microorganismos, lo que permitirá comprender mejor las comunidades microbianas presentes en los suelos de minas abandonadas.

CONCLUSIONES

El aislamiento y la caracterización filogenética de bacterias nativas cultivables procedentes de minas abandonadas, permitió identificar nueve aislamientos que se agruparon filogenéticamente en seis géneros distintos *Bacillus*, *Cytobacillus*, *Paenibacillus*, *Microbacterium*, *Peribacillus* y *Acinetobacter*. La complejidad de las comunidades bacterianas en suelos de minas abandonadas resalta la importancia de comprender estas interacciones microbianas en entornos contaminados y profundizar en la investigación de estos géneros debido a sus posibles aplicaciones en los procesos de biorremediación.

AGRADECIMIENTO

Agradecemos a la Universidad Nacional Jorge Basadre Grohmann, por el financiamiento de este estudio, y a la Dirección Regional de Energía y Minas de Tacna por la orientación como guía de campo en la etapa inicial del proyecto.

CONFLICTO DE INTERESES

Los autores declaran no tener ningún conflicto de interés.

REFERENCIAS

- Abdel-Razek, A. S., Refaat, B. M., Abdel-Shakour, E. H., Zaher, R. y Mohamed, M. K. 2015. Biodegradation of phenol by *Microbacterium terregenes* isolated from oil field NORM SOIL. Journal of Applied & Environmental Microbiology. 3(3):63-69. Disponible en: <https://citeseerx.ist.psu.edu/document?repid=rep1&type=pdf&doi=abdea133f179c569675289bdbc82d9431ad28f51>
- Agarry, S. A., Owabor, C. N. y Yusuf, R. O. 2010. Bioremediation of soil artificially contaminated with petroleum hydrocarbon oil mixtures: Evaluation of the use of animal manure and chemical fertilizer. Bioremediation Journal. 14(4):189-195. <https://doi.org/10.1080/10889868.2010.514965>
- Agboola, O., Babatunde, D. E., Isaac Fayomi, O. S., Sadiku, E. R., Popoola, P., Moropeng, L., Yahaya, A. y Mamudu, O. A. 2020. A review on the impact of mining operation: Monitoring, assessment and management. Results in Engineering. 8:1-23. <https://doi.org/10.1016/j.rineng.2020.100181>
- Ali, H. y Khan, E. 2017. What are heavy metals? Long-standing controversy over the scientific use of the term 'heavy metals' – proposal of a comprehensive definition. Toxicological and Environmental Chemistry. 1-26. <https://doi.org/10.1080/0277248.2017.1413652>
- Alotaibi, B. S., Khan, M. y Shamim, S. 2021. Unraveling the underlying heavy metal detoxification mechanisms of *Bacillus* species. Microorganisms. 9(8):1-31. <https://doi.org/10.3390/microorganisms9081628>
- Altimira, F., Yáñez, C., Bravo, G., González, M., Rojas, L. A. y Seeger, M. 2012. Characterization of copper-resistant bacteria and bacterial communities from copper-polluted agricultural soils of central Chile. BMC Microbiology. 12(193):1-12. <https://doi.org/10.1186/1471-2180-12-193>
- Amrane, A., Nguyen, T. A., Mohan, D., Yasin, G. y Assadi, A. A. 2020. Nanomaterials for soil remediation. En: Micro & Nano Technologies Series. Amrane, D. Mohan, T. A. Nguyen, A. A. Assadi, y G. Yasin (eds.), pp 1-24. Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-822891-3.00021-9>
- AnalytikJena, Instructions for Use: innuPREP DNA/RNA Mini Kit. [Consultado 13 de febrero 2023] 2017. Disponible en: https://www.analytik-jena.fr/fileadmin/content/pdf_life_science/Manual/Manual_innuPREP_DNA_RNA_Mini_Kit.pdf
- Aniszewski, E., Silva, R., Faria, F., Ferreira, S. G. y Soares, A. 2010. Bioemulsifier production by *Microbacterium* sp. strains isolated from mangrove and their application to remove cadmium and zinc from hazardous industrial residue. Brazilian Journal of Microbiology. 41:235-245. <https://doi.org/10.1590/S1517-8382201000100033>
- Arce-Inga, M., González-Pérez, A. R., Hernandez-Diaz, E., Chuquibala-Checan, B., Chavez-Jalk, A., Llanos-Gomez, K. J., Leiva-Espinoza, S. T., Oliva-Cruz, S. M. y Cumpan-Velasquez, L. M. 2022. Bioremediation potential of native *Bacillus* sp. strains as a sustainable strategy for cadmium accumulation of *Theobroma cacao* in Amazonas region. Microorganisms. 10(11):1-19. <https://doi.org/10.3390/microorganisms10112108>
- Ayangbenro, A. S. y Babalola, O. O. 2020. Genomic analysis of *Bacillus cereus* NWUAB01 and its heavy metal removal from polluted soil. Scientific Reports. 10(1). <https://doi.org/10.1038/s41598-020-75170-x>
- Bala, S., Garg, D., Thirumalesh, B. V., Sharma, M., Sridhar, K., Inbaraj, B. S. y Tripathi, M. 2022. Recent strategies for

- bioremediation of emerging pollutants: A review for a green and sustainable environment. *Toxics*. 10(8):1-24. <https://doi.org/10.3390/toxics10080484>
- Bazzi, W., Abou, A. G., Nasser, A., Haraoui, L. P., Dewachi, O., Abou-Sitta, G., Nguyen, V. K., Abara, A., Karah, N., Landecker, H., Knapp, C., McEvoy, M. M., Zaman, M. H., Higgins, P. G. y Matar, G. M. 2020. Heavy metal toxicity in armed conflicts potentiates AMR in *A. baumannii* by selecting for antibiotic and heavy metal co-resistance mechanisms. *Frontiers in Microbiology*. 11:1-12. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2020.00068>
- Bini, C., Maleci, L. y Wahsha, M. 2017. Mine waste: Assessment of environmental contamination and restoration. En: *Assessment, Restoration and Reclamation of Mining Influenced Soils*, pp. 89-134. Elsevier Inc. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-809588-1.00004-9>
- Bôto, M., Magalhães, C., Perdigão, R., Alexandrino, D., Fernandes, J., Bernabeu, A., Ramos, S., Carvalho, M., Semedo, M., LaRoche, J., Almeida, C. y Mucha, A. 2021. Harnessing the potential of native microbial communities for bioremediation of oil spills in the Iberian peninsula NW coast. *Frontiers in Microbiology*, 12(April). <https://doi.org/10.3389/fmicb.2021.633659>.
- Cáceda, J., Maraza, G., Carpio, M., & Fora, G. 2022. Evaluation of the content of metals and contamination indices generated by environmental liabilities, in Tacna, Peru. Research Square, 1-16.
- Cai, Y., Wang, R., Rao, P., Wu, B., Yan, L., Hu, L., Park, S., Ryu, M. y Zhou, X. 2021. Bioremediation of petroleum hydrocarbons using *Acinetobacter* sp. SCYY-5 isolated from contaminated oil sludge: Strategy and effectiveness study. *International Journal of Environmental Research and Public Health*. 18(2):1-14. <https://doi.org/10.3390/ijerph18020819>
- Candeias, C., Ávila, P., Coelho, P. y Teixeira, J. P. 2019. Mining activities: Health impacts. En: *Encyclopedia of Environmental Health*. 2nd ed. Elsevier Inc. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-409548-9.11056-5>
- Chandran, H., Meena, M. y Sharma, K. 2020. Microbial biodiversity y bioremediation assessment through omics approaches. *Frontiers in Environmental Chemistry*, 1(September), 1-22. <https://doi.org/10.3389/fenvc.2020.570326>
- Clarridge, J. E. 2004. Impact of 16S rRNA gene sequence analysis for identification of bacteria on clinical microbiology y infectious diseases. *Clinical Microbiology Reviews*. 17(4):840-862. <https://doi.org/10.1128/CMR.17.4.840-862.2004>
- Coelho, P. y Teixeira, J. P. 2011. Mining activities: Health impacts. In J. Nriagu (Ed.), *Encyclopedia of Environmental Health* (2nd ed., pp. 788-802). Elsevier B.V. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-409548-9.11056-5>
- Çolak, F., Olgun, A., Atar, N. y Yazıcıoğlu, D. 2013. Heavy metal resistances and biosorptive behaviors of *Paenibacillus polymyxa*: Batch and column studies. *Journal of Industrial and Engineering Chemistry*. 19:863-869. <https://doi.org/10.1016/j.jiec.2012.11.001>
- Corretto, E., Antonielli, L., Sessitsch, A., Höfer, C., Puschenreiter, M., Widhalm, S., Swarnalakshmi, K. y Brader, G. 2020. Comparative genomics of *Microbacterium* species to reveal diversity, potential for secondary metabolites and heavy metal resistance. *Frontiers in Microbiology*. 11:1-17. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2020.01869>
- Corretto, E., Antonielli, L., Sessitsch, A., Kidd, P., Weyens, N. y Brader, G. 2015. Draft genome sequences of 10 *Microbacterium* spp., with emphasis on heavy metalcontaminated environments. *Genome Announcements*. 3(3):1-3. <https://doi.org/10.1128/genomeA.00432-15>
- Dawwam, G. E., Abdelfattah, N. M., Abdel-Monem, M. O., Jahin, H. S., Omer, A. M., Abou-Taleb, K. A. y Mansor, E. S. 2023. An immobilized biosorbent from *Paenibacillus dendritiformis* dead cells and polyethersulfone for the sustainable bioremediation of lead from wastewater. *Scientific Reports*. 13(1):1-16. <https://doi.org/10.1038/s41598-023-27796-w>
- Dhakephalkar, P. K. y Chopade, B. A. 1994. High levels of multiple metal resistance and its correlation to antibiotic resistance in environmental isolates of *Acinetobacter*. *BioMetals*. 7(1):67-74. <https://doi.org/10.1007/BF00205197>
- Dos Santos, H. R. M., Argolo, C. S., Argôlo-Filho, R. C. y Loguercio, L. L. 2019. A 16S rDNA PCR-based theoretical to actual delta approach on culturable mock communities revealed severe losses of diversity information, *BMC Microbiology*, 19(1), pp. 1-14. doi: 10.1186/s12866-019-1446-2.
- Fernandes, C. C., Kishi, L. T., Lopes, E. M., Omori, W. P., Souza, J. A. M. de, Alves, L. M. C. y Lemos, E. G. de M. 2018. Bacterial communities in mining soils and surrounding areas under regeneration process in a former ore mine. *Brazilian Journal of Microbiology*. 49(3):1-14. <https://doi.org/10.1016/j.bjm.2017.12.006>
- Grady, E. N., MacDonald, J., Liu, L., Richman, A., y Yuan, Z. C. 2016. Current knowledge and perspectives of *Paenibacillus*: A review. *Microbial Cell Factories*. 15(203):1-18. <https://doi.org/10.1186/s12934-016-0603-7>
- Guo, H., Luo, S., Chen, L., Xiao, X., Xi, Q., Wei, W., Zeng, G., Liu, C., Wan, Y., Chen, J. y He, Y. 2010. Bioremediation of heavy metals by growing hyperaccumulaor endophytic bacterium *Bacillus* sp. L14. *Bioresource Technology*. 101:8599-8605. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2010.06.085>
- Gupta, N., Balomajumder, C. y Agarwal, V. K. 2010. Enzymatic mechanism and biochemistry for cyanide degradation : A review. *Journal of Hazardous Materials*. 176:1-13. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2009.11.038>
- Hassler, H. B., Probert, B., Moore, C., Lawson, E., Jackson, R. W., Russell, B. T. y Richards, V. P. 2022. Phylogenies of the 16S rRNA gene and its hypervariable regions lack concordance with core genome phylogenies. *Microbiome*. 10(1):1-18. <https://doi.org/10.1186/s40168-022-01295-y>
- Ho, M. T., Li, M. S. M., McDowell, T., MacDonald, J. y Yuan, Z. C. 2020. Characterization and genomic analysis of a diesel-degrading bacterium, *Acinetobacter calcoaceticus* CA16, isolated from Canadian soil. *BMC Biotechnology*. 20(39):1-15. <https://doi.org/10.1186/s12896-020-00632-z>
- Hou, Q., Bai, X., Li, W., Gao, X., Zhang, F., Sun, Z., & Zhang, H. 2018. Design of primers for evaluation of lactic acid bacteria populations in complex biological samples. *Frontiers in Microbiology*, 9(AUG), 1-10. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2018.02045>
- Huang, J., Huang, Z. L., Zhou, J. X., Li, C. Z., Yang, Z. H., Ruan, M., Li, H., Zhang, X., Wu, Z. J., Qin, X. L., Hu, J. H. y Zhou, K. 2019. Enhancement of heavy metals removal by microbial flocculant produced by *Paenibacillus polymyxa* combined with an insufficient hydroxide precipitation. *Chemical Engineering Journal*. 374:880-894. <https://doi.org/10.1016/j.cej.2019.06.009>
- Hussein, M. H. y Saeed, I. O. 2022. Phytoremediation: Plant synergy - bacteria for treatment of heavy metals. *Journal of*

- Pharmaceutical Negative Results. 13(1):933-941. <https://doi.org/10.47750/pnr.2022.13.S01.111>
- Irawati, W., Parhusip, A. J. N., Sopiah, N. y Trunay, J. A. 2016. The role of heavy metals-resistant bacteria *Acinetobacter* sp. in copper phytoremediation using *Eichhornia crassipes* [(Mart.) Solms]. Conference Proceedings: International Conference on Natural Resources and Life Sciences. 208-220. <https://doi.org/10.18502/KLS.V3I5.995>
- Jan, U., Feiwen, R., Masood, J. y Chun, S. C. 2020. Characterization of soil microorganism from humus and indigenous microorganism amendments. Mycobiology. 48(5):392-398. <https://doi.org/10.1080/12298093.2020.1816154>
- Janda, J. M. y Abbott, S. L. 2007. 16S rRNA gene sequencing for bacterial identification in the diagnostic laboratory: Pluses, perils, and pitfalls. Journal of Clinical Microbiology. 45(9):2761-2764. <https://doi.org/10.1128/JCM.01228-07>
- Jiang, H. H., Cai, L. M., Wen, H. H., Hu, G. C., Chen, L. G. y Luo, J. 2020. An integrated approach to quantifying ecological and human health risks from different sources of soil heavy metals. Science of the Total Environment. 1-41. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2019.134466>
- Jiang, L., Jung, W. Y., Park, S. H., Kang, S. W., Lee, M. K., Lee, J. S., Lee, J. H. y Lee, J. 2021. Draft genome sequence of *Peribacillus* sp. AGMB 02131 isolated from feces of a Korean cow. Korean Journal of Microbiology. 57(1):66-68. <https://doi.org/10.7845/kjm.2021.0119>
- Johnson, J. S., Spakowicz, D. J., Hong, B. Y., Petersen, L. M., Demkowicz, P., Chen, L., Leopold, S. R., Hanson, B. M., Agresta, H. O., Gerstein, M., Sodergren, E. y Weinstock, G. M. 2019. Evaluation of 16S rRNA gene sequencing for species y strain-level microbiome analysis. Nature Communications. 10(1):1-11. <https://doi.org/10.1038/s41467-019-13036-1>
- Jung, J., Jeong, H., Kim, H. J., Lee, D. W. y Lee, S. J. 2016. Complete genome sequence of *Bacillus oceanisediminis* 2691, a reservoir of heavy-metal resistance genes. Marine Genomics. 30:1-4. <https://doi.org/10.1016/j.margen.2016.07.002>
- Jung, J. y Park, W. 2015. *Acinetobacter* species as model microorganisms in environmental microbiology: current state and perspectives. Applied Microbiology and Biotechnology. 99(6):2533-2548. <https://doi.org/10.1007/s00253-015-6439-y>
- Kandasamy, S., Dananjeyan, B., Krishnamurthy, K. y Benckiser, G. 2015. Aerobic cyanide degradation by bacterial isolates from cassava factory wastewater. Brazilian Journal of Microbiology. 46(3):659-666. <https://doi.org/10.1590/S1517-838246320130516>
- Kapahi, M. y Sachdeva, S. 2019. Bioremediation options for heavy metal pollution. Journal of Health and Pollution. 9(24):1-20. <https://doi.org/10.5696/2156-9614-9.24.191203>
- Khamar, Z., Makhdoumi-Kakhki, A. y Mahmudy Gharaie, M. H. 2015. Remediation of cyanide from the gold mine tailing pond by a novel bacterial co-culture. International Biodeterioration and Biodegradation. 99:123-128. <https://doi.org/10.1016/j.ibiod.2015.01.009>
- Kim, H. S., Srinivasan, S. y Lee, S. S. 2015. *Paenibacillus alba* nov., Isolated from peat soil. Current Microbiology. 70(6):865-870. <https://doi.org/10.1007/s00284-015-0795-9>
- Kumar, B. y Gopal, D. 2015. Effective role of indigenous microorganisms for sustainable environment. 3 Biotech. 5:1-10. <https://doi.org/10.1007/s13205-015-0293-6>
- Learman, D. R., Ahmad, Z., Brookshier, A., Henson, M. W., Hewitt, V., Lis, A., Morrison, C., Robinson, A., Todaro, E., Wologo, E., Wynne, S., Alm, E. W. y Kourtev, P. S. 2019. Comparative genomics of 16 *Microbacterium* spp. that tolerate multiple heavy metals and antibiotics. PeerJ. 1-19. <https://doi.org/10.7717/peerj.6258>
- Liu, P., Zhang, Y., Tang, Q. y Shi, S. 2021. Bioremediation of metal-contaminated soils by microbially-induced carbonate precipitation and its effects on ecotoxicity and long-term stability. Biochemical Engineering Journal. 166:1-27. <https://doi.org/10.1016/j.bej.2020.107856>
- Mahjoubi, M., Jaouani, A., Guesmi, A., Ben Amor, S., Jouini, A., Cherif, H., Najjari, A., Boudabous, A., Koubaa, N. y Cherif, A. 2013. Hydrocarbonoclastic bacteria isolated from petroleum contaminated sites In Tunisia: Isolation, identification and characterization of the biotechnological potential. New Biotechnology. 30(6):723-733. <https://doi.org/10.1016/j.nbt.2013.03.004>
- Mathivanan, K., Chandirika, J. U., Vinothkanna, A., Yin, H., Liu, X. y Meng, D. 2021. Bacterial adaptive strategies to cope with metal toxicity in the contaminated environment – A review. Ecotoxicology and Environmental Safety, 226, 112863. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2021.112863>
- Mekuto, L., Alegbeleye, O. O., Ntwampe, S. K. O., Ngongang, M. M., Mudumbi, J. B. y Akinpelu, E. A. 2016. Co-metabolism of thiocyanate and free cyanide by *Exiguobacterium acetylicum* and *Bacillus marisflavi* under alkaline conditions. 3 Biotech. 6(173):1-11. <https://doi.org/10.1007/s13205-016-0491-x>
- Méndez, V., Fuentes, S., Morgante, V., Hernández, M., González, M., Moore, E. y Seeger, M. 2017. Novel hydrocarbonoclastic metal-tolerant *Acinetobacter* and *pseudomonas* strains from Aconcagua river oil-polluted soil. Journal of Soil Science and Plant Nutrition. 17(4):1074-1087. <https://doi.org/10.4067/S0718-95162017000400017>
- Morrissey, E. M., Mau, R. L., Schwartz, E., Caporaso, J. G., Dijkstra, P., Van Gestel, N., Koch, B. J., Liu, C. M., Hayer, M., McHugh, T. A., Marks, J. C., Price, L. B. y Hungate, B. A. 2016. Phylogenetic organization of bacterial activity. The ISME Journal. 10(9):2336-2340. <https://doi.org/10.1038/ismej.2016.28>
- Nagvenkar, G. S. y Ramaiah, N. 2010. Arsenite tolerance and biotransformation potential in estuarine bacteria. Ecotoxicology, 19(4), 604-613. [https://doi.org/10.1007/S10646-009-0429-8/METRICS](https://doi.org/10.1007/S10646-009-0429-8)
- Nutman, A., Lerner, A., Schwartz, D. y Carmeli, Y. 2016. Evaluation of carriage and environmental contamination by carbapenem-resistant *Acinetobacter baumannii*. Clinical Microbiology and Infection. 1-12. <https://doi.org/10.1016/j.cmi.2016.08.020>
- Ortega Sánchez, M. E., Morales, M. C., Morales, J. A., Osorio, G. P., Carlos, J. y Hernández, M. 2018. Bio degradation of hydrocarbons by bacteria producing biosurfactants. Revista Latinoamericana El Ambiente y Las Ciencias, 9(21), 1643-1656. www.ncbi.nlm.nih.gov/blast/Blast.cgi
- Onuoha, S. C. 2014. Stimulated biodegradation of spent lubricating motor oil in soil Amended with Animal Droppings. American Journal of BioScience. 2(1):19. <https://doi.org/10.11648/j.ajbio.20140201.14>
- Pande, V., Pandey, S. C., Sati, D., Bhatt, P. y Samant, M. 2022. Microbial Interventions in Bioremediation of Heavy Metal Contaminants in Agroecosystem. Frontiers in Microbiology, 13. <https://doi.org/10.3389/FMICB.2022.824084>
- Patel, S. y Gupta, R. S. 2020. A phylogenomic and comparative

- genomic framework for resolving the polyphyly of the genus *Bacillus*: Proposal for six new genera of bacillus species, *Peribacillus* gen. nov., *Cytobacillus* gen. nov., *Mesobacillus* gen. nov., *Neobacillus* gen. nov., *Metabacillus*. International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology. 70(1):406-438. <https://doi.org/10.1099/ijsem.0.003775>
- Pereira, P. P., Torres Tejerizo, G. A., Fernandez, M., Blanch, A. R., Gonzalez, P.S. y Agostini, E. 2020. Polyphasic characterization and identification of the bioremediation agent *Bacillus* sp. SFC 500-1E. Genomics. 112:4525-4535. <https://doi.org/10.1016/j.ygeno.2020.08.008>
- Raina, V., Nayak, T., Ray, L., Kumari, K. y Suar, M. 2019. A Polyphasic Taxonomic Approach for Designation and Description of Novel Microbial Species. Microbial Diversity in the Genomic Era. 137-152. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-814849-5.00009-5>
- Ran, X., Zhu, Z., Long, H., Tian, Q., You, L., Wu, X., Liu, Q., Huang, S., Li, S., Niu, X., & Wang, J. (2021). Manganese Stress Adaptation Mechanisms of *Bacillus safensis* Strain ST7 From Mine Soil. Frontiers in Microbiology, 12 (November). <https://doi.org/10.3389/fmicb.2021.758889>
- Rawat, M. y Rai, J. P. N. 2012. Adsorption of heavy metals by *Paenibacillus validus* strain MP5 isolated from industrial effluent-polluted soil. Bioremediation Journal. 16(2):66-73. <https://doi.org/10.1080/10889868.2012.665959>
- Restrepo, O., Montoya, C. y Muñoz, N. 2006. Microbial degradation of cyanide from gold metallurgical plants utilizing *P. fluorescens*. Dyna. 73(149):45-51. <https://www.researchgate.net/publication/262467370>
- Rzymski, P., Klimaszky, P., Marszelewski, W., Borowiak, D., Mleczek, M., Nowiński, K., Pius, B., Niedzielski, P. y Poniedziałek, B. 2017. The chemistry and toxicity of discharge waters from copper mine tailing impoundment in the valley of the Apuseni Mountains in Romania. Environmental Science and Pollution Research, 24(26), pp. 21445-21458. <https://doi.org/10.1007/s11356-017-9782-y>
- Salam, L. B., Obayori, O. S. y Olatoye, N. O. 2014. Biodegradation of anthracene by a novel *Actinomycetes*, *Microbacterium* sp. isolated from tropical hydrocarbon-contaminated soil. World Journal of Microbiology and Biotechnology. 30(1):335-341. <https://doi.org/10.1007/s11274-013-1437-7>
- Salam, M. y Varma, A. 2019. Bacterial community structure in soils contaminated with electronic waste pollutants from Delhi NCR, India. Electronic Journal of Biotechnology. 41:72-80. <https://doi.org/10.1016/j.ejbt.2019.07.003>
- Sermet, E. y Nieć, M. 2021. Not mining sterilization of explored mineral resources. The example of native sulfur deposits in poland case history. Resources, 10(4), pp. 1-12. <https://doi.org/10.3390/resources10040030>
- Sernaque Aguilar, Y. A., Cornejo La Torre, M., Regard, J. P. y Mialhe Matonnier, E. L. 2019. Caracterización molecular de bacterias cultivables y no cultivables procedentes de pozas de lixiviación con cianuro. Revista Peruana de Biología. 26(2):275-282. <https://doi.org/10.15381/rpb.v26i2.16383>
- Sevak, P., Pushkar, B. y Mazumdar, S. 2023. Mechanistic evaluation of chromium bioremediation in *Acinetobacter junii* strain b2w: A proteomic approach. Journal of Environmental Management, 328, 116978. <https://doi.org/10.1016/J.JENVMAN.2022.116978>
- Sheng, X. F., Xia, J. J., Jiang, C. Y., He, L. Y. y Qian, M. 2008. Characterization of heavy metal-resistant endophytic bacteria from rape (*Brassica napus*) roots and their potential in promoting the growth and lead accumulation of rape. Environmental Pollution. 156:1164-1170. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2008.04.007>
- Shibulal, B., Al-Bahry, S. N., Al-Wahaibi, Y. M., Elshafie, A. E., Al-Bemani, A. S. y Joshi, S. J. 2017. The potential of indigenous *Paenibacillus ehimensis* BS1 for recovering heavy crude oil by biotransformation to light fractions. PLoS ONE. 12(2):1-18. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0171432>
- Starostin, K. V., Demidov, E. A., Bryanskaya, A. V., Efimov, V. M., Rozanov, A. S. y Peltek, S. E. 2015. Identification of *Bacillus* strains by MALDI TOF MS using geometric approach. Scientific Reports. 5:1-9. <https://doi.org/10.1038/srep16989>
- Tabak, M., Lisowska, A., Filipek-Mazur, B., & Antonkiewicz, J. 2020. The effect of amending soil with waste elemental sulfur on the availability of selected macroelements and heavy metals. Processes, 8(10), 1-13. <https://doi.org/10.3390/pr8101245>
- Tarasov, K., Yakhnenko, A., Zarubin, M., Gangapshev, A., Potekhina, N. V., Avtukh, A. N. y Kravchenko, E. 2023. *Cytobacillus pseudooceaneisdiminis* sp. nov., A Novel Facultative Methylotrophic Bacterium with High Heavy Metal Resistance Isolated from the Deep Underground Saline Spring. Current Microbiology. 80(31):1-10. <https://doi.org/10.1007/s00284-022-03141-8>
- Vaishnavi, S., Thamaraiselvi, C. y Vasanth, M. 2019. Efficiency of Indigenous Microorganisms in Bioremediation of Tannery Effluent. Waste Water Recycling and Management. 151-168. https://doi.org/10.1007/978-981-13-2619-6_13
- Valenzuela-González, F., Casillas-Hernández, R., Villalpando, E. y Vargas-Albores, F. 2015. El Gen ARNr 16s en el estudio de comunidades microbianas marinas. Ciencias Marinas. 41(4):297-313. <https://doi.org/10.7773/cm.v41i4.2492>
- Verma, S. y Kuila, A. 2019. Bioremediation of heavy metals by microbial process. Environmental Technology and Innovation. 14(100369):1-11. <https://doi.org/10.1016/j.eti.2019.100369>
- Woese, C. R. 1987. Bacterial evolution. Microbiological Reviews. 51(2):221-271. <https://doi.org/10.1139/m88-093>
- Wuana, R. A. y Okieimen, F. E. 2011. Heavy Metals in Contaminated Soils: A Review of Sources, Chemistry, Risks and Best Available Strategies for Remediation. International Scholarly Research Network. 201:1-20. <https://doi.org/10.5402/2011/402647>
- Wufuer, R., Li, W., Wang, S. y Duo, J. 2022. Isolation and Degradation Characteristics of PBAT Film Degrading Bacteria. International Journal of Environmental Research and Public Health. 19(17087):1-12. <https://doi.org/10.3390/ijerph192417087>
- Zahoor, A. y Rehman, A. 2009. Isolation of Cr(VI) reducing bacteria from industrial effluents and their potential use in bioremediation of chromium containing wastewater. Journal of Environmental Sciences. 21(6):814-820. [https://doi.org/10.1016/S1001-0742\(08\)62346-3](https://doi.org/10.1016/S1001-0742(08)62346-3)
- Zhang, H., Yuan, X., Xiong, T., Wang, H. y Jiang, L. 2020. Bioremediation of co-contaminated soil with heavy metals and pesticides: Influence factors, mechanisms and evaluation methods. Chemical Engineering Journal. 398:1-19. <https://doi.org/10.1016/j.cej.2020.125657>
- Zhou, Z., Charlesworth, J. y Achtman, M. 2020. Accurate reconstruction of bacterial pan- and core genomes with PEPPAN. Genome Research. 30(11):1667-1679. <https://doi.org/10.1101/gr.260828.120>