Reducción de Cr^{+6} por bacterias aisladas de suelos agrícolas en San Víctor, Corozal, Belice

Jorge Deciderio Carrillo-Méndez[1], Reiner Amir Yah[2], Edith Flores-Tavizón[1], Sergio Saúl-Solís[1], Miguel Domínguez-Acosta[1], Felipe Adrián Vázquez-Gálvez[1], Gabriel Medrano-Donlucas[3], Claudia Carolina Hernández-Peña[4], Marisela Yadhira, Soto-Padilla[1*]

[1]*Departamento de Ingeniería Civil y Ambiental, Universidad Autónoma de Ciudad Juárez, Cd. Juárez, Chihuahua.*
[2] *Departamento de Ciencias e Ingeniería, Universidad de Quintana Roo, Chetumal, Quintana Roo.*
[3] *Departamento de Ciencias de la Salud, Universidad Autónoma de Ciudad Juárez, Cd. Juárez, Chihuahua.*
[4]*Departamento de Ciencias Químico Biológicas, Universidad Autónoma de Ciudad Juárez, Cd. Juárez, Chihuahua*

Artículo recibido 20 de octubre y aceptado el 1 de diciembre de 2020

Reduction of Cr^{+6} for isolated bacteria of agricultural soils in San Víctor, Corozal, Belize.

Abstract

Biotechnology has developed techniques of bioremediation for the reduction of hexavalent chromium (Cr^{+6}). The Cr^{+6} is a contaminant that affects directly to the health, for that reason, the potential reduction of Cr^{+6} was analyzed by applying isolated bacteria from agricultural soils in San Victor, Corozal, Belize. A pre-inoculum of isolated bacteria identified as SVCrB01, SVCrB02, SVCrB03, and SVCrB04 was carried out in nutritional broth supplemented with a concentration of 20 mg L^{-1} potassium dichromate ($K_2Cr_2O_7$) for 24 h and absorbance of 0.6 to 0.8. Later on, it developed a minimum inhibitory concentration in nutritional broth in concentrations of 50, 100, 300, 500, 700, 900, 1100, 1300, and 1500 mg L^{-1} of $K_2Cr_2O_7$ to verify the viability and the bacterial growth, presenting greater bacteria growth the SVCrB01 and the SVCrB02 in 48h. The reduction of Cr^{+6} was determined using nutritional broth added with a concentration of 50 mg L^{-1} of $K_2Cr_2O_7$, which was incubated at 37°C and 200 rpm. The bacterial growth and reduction of Cr^{+6} were Evaluated taking aliquots in the intervals of 2, 4, 8, 12, 24, 36, and 48 h. The reduction of Cr^{+6} for the bacteria SVCrB01 was 85.08% in 48 h, while the bacteria SVCrB02 present an 86.14% reduction in 48h, where the growth kinetics show us a relationship with the bacteria stability used in the medium, therefore it can be concluded that the isolated bacteria from agricultural soils in San Victor, Corozal, Belize have the capacity to reduce Cr^{+6}.

Key words: Resistant metal bacteria, hexavalent chromium, Corozal, Belize.

Resumen

El cromo en la naturaleza se encuentra principalmente en dos formas, cromo trivalente y cromo hexavalente, en donde el Cr^{+6} produce mayor impacto al ambiente, afectando ríos y suelos principalmente, así como a la salud. El presente trabajo evalúa la reducción de Cr^{+6} por bacterias aisladas de suelos agrícolas de San Víctor, Corozal, Belice. Se realizó un pre-inóculo de bacterias aisladas identificadas como SVCrB01, SVCrB02, SVCrB03 y SVCrB04 en caldo nutritivo suplementado con una concentración de 20 mg L^{-1} de cromo hexavalente usando dicromato de potasio ($K_2Cr_2O_7$) por 24 h a 37°C, y tener una absorbancia de 0.6 a 0.8 a 600 nm. Posteriormente, se determinó la concentración mínima inhibitoria (CMI) en caldo nutritivo en concentraciones de 50, 100, 300, 500, 700, 900, 1100, 1300 y 1500 mg L^{-1} de Cr^{+6}, presentando mejor crecimiento las bacterias SVCrB01 y SVCrB02 a las 48 h a 37°C. La reducción de Cr^{+6} se determinó

*Autor de correspondencia
Email: marisela.soto@uacj.mx
ISSN 2594-0384 (Electrónica)
DOI: https://doi.org.1033154/rlrn.2020.03.04

utilizando caldo nutritivo adicionado con 50 mg L^{-1} de Cr^{+6} el cual se incubó a 37°C y 200 rpm. El crecimiento bacteriano y reducción de Cr^{+6} se evaluó tomando alícuotas en los tiempos 0, 2, 4, 8, 12, 24, 36 y 48 h. Se observó que la bacteria SVCrB01 presentó una reducción del 85.08% de Cr^{+6}, mientras que la bacteria SVCrB02 una reducción del 86.14% de Cr^{+6}. Por lo que se puede concluir que, las bacterias aisladas de suelos agrícolas en San Víctor, Corozal, Belice tienen la capacidad de reducir el Cr^{+6}, siendo una opción para poderse utilizar en procesos de biorremediación contaminados con este metal.

Palabras claves: Bacterias metal resistentes, Cromo hexavalente, Corozal, Belice.

Introducción

El cromo en la naturaleza se encuentra principalmente en dos formas, como cromo trivalente (Cr^{+3}) el cual es relativamente inofensivo, e incluso en bajas concentraciones es indispensable para el metabolismo de ciertas especies; y el cromo hexavalente (Cr^{+6}), el cual presenta una toxicidad 1000 veces mayor que el cromo trivalente y tiene una mayor solubilidad, presentando mayor facilidad para su transporte en los cuerpos de agua (Chávez, 2010). En los sistemas terrestres el cromo hexavalente es demasiado inestable por efecto de las reacciones redox dadas en el suelo (Cárdenas y Acosta, 2011). Una de las principales causas de contaminación ambiental de cromo hexavalente, es debido a las actividades industriales que son las que dan las principales aportaciones de esta especie química del metal al medio ambiente, ya que el cromo se utiliza en la galvanoplastia, tinción de textiles, curtido de cuero y pieles, entre otros (Rivera *et al.*, 2015).

La reducción de cromo hexavalente a cromo trivalente es un proceso utilizado principalmente en sistemas de remediación para aguas contaminadas con este metal (Hernández-Peña *et al.*, 2016), llevando consigo la aplicación de tratamientos químicos, fisicoquímicos, físicos y biológicos (Ayala *et al*., 2017).

La biotecnología a mostrado interés en el estudio de microorganismos con potencial de remover contaminantes como los metales pesados, teniendo así una alternativa para desarrollar procesos biológicos para el tratamiento de estos contaminantes (Soto *et al.,* 2017). Se han aislado microorganismos en ambiente que presentan al contaminante, los cuales han mostrado resistencia y capacidad de reducción del cromo hexavalente por diferentes mecanismos, de tal manera que, puede ser adherido o acumulado o transformado a cromo trivalente (Rivera *et al.,* 2015). Actualmente se han evaluado bacterias para la biorremediación de agua, donde se ha visto el potencial de diferentes géneros bacterianos en la reducción de cromo hexavalente (Hernández-Peña *et al.*, 2016).

Se tienen reportes de la aplicación de tratamientos biológicos utilizando diversos géneros bacterianos, tales como *Pseudomonas, Bacillus, Escherichia* y *Cyanobacterium*, entre otros, reportando que tienen la capacidad de reducir el cromo hexavalente a cromo trivalente. Cabe mencionar, que el contaminante no siempre es metabolizado, en ocasiones los microorganismos lo bioacumulan, y en otras, llevan consigo la obtención de electrones encontrados en su última capa de valencia, produciendo energía suficiente para reducir el cromo hexavalente (Ayala *et al.*, 2017; Bach y Kathleen, 2019; Beltrán-Pineda y Gómez-Rodríguez, 2016).

Corozal, Belice se caracteriza principalmente por el desarrollo de la agricultura, entre los cuales su principal producto de explotación en el cultivo es la caña de azúcar. Sin embargo, el uso excesivo de suelos agrícolas, la falta de tecnología y la renuente participación por agricultores en técnicas sustentables, ha desarrollado la explotación y uso excesivo de fertilizantes químicos y herbicidas, conllevando la acumulación de metales, entre ellos el cromo hexavalente (Yah, 2018; Hoffmann, 2019).

El objetivo de esta investigación fue evaluar la reducción de Cr^{+6} por bacterias aisladas de suelos agrícolas de San Víctor, Corozal, Belice para su posible aplicación en sistema de biorremediación.

Materiales y Métodos

Aislamiento microbiano

El muestreo de suelos se realizó mediante el método de Zig-Zag tomando alícuotas de 1 kg a partir de los primeros 20 cm de profundidad (NOM-021-SEMARNAT-2000) en 6 puntos de una parcela de 22 acres en San Víctor, Corozal, Belice con

coordenadas 18°15´56.40" N y 88°34´10.89" O. Las muestras fueron recolectadas en bolsas de plástico estériles y preservadas a 4°C y transportadas al laboratorio para su análisis (Yah, 2018). Las muestras se procesaron pesando 10 g de suelo y se incubaron a 37°C por 72 horas a 200 rpm en medio de sales minerales (MSM) (Yang *et al*., 2018) suplementado con dicromato de potasio ($K_2Cr_2O_7$) a una concentración de 30 mgL^{-1} de Cr^{+6}. Una vez terminada la incubación, se tomaron alícuotas de 10 mL en 100 mL de solución peptonada al 10%, la cual se usó para realizar diluciones del orden 10^5, de cada dilución se transfirió 0.1 mL a una caja Petri con agar nutritivo suplementado a 30 mgL^{-1} de Cr^{+6} con dicromato de potasio ($K_2Cr_2O_7$), las cual se incubaron a 37°C por 24 horas. Se seleccionaron colonias morfológicamente diferentes para su aislamiento en nuevas cajas Petri usando estría escocesa (Hernández-Peña *et al.,* 2016).

Caracterización microscópica de cepas aisladas

La caracterización microscópica de las cepas aisladas se realizó por microscopía electrónica de barrido. Se realizó el cultivo bacteriano en caldo nutritivo con agitación constante a 200 rpm por 24 horas a 37°C. Posteriormente se centrifugó a 4000 rpm por 10 min, recuperando el botón de biomasa, al cual se le agregó 1.5 mL de solución de formaldehido al 2% en buffer de fosfatos 0.1 M ajustado a pH 7.2, y dejándolo en suspensión durante 5 horas. Después se llevó a centrifugación a 4000 rpm por 10 minutos y se separó el decantado. Al botón de biomasa se realizaron 10 lavados utilizando 1 mL de solución buffer de fosfatos 0.1 M ajustado a pH 7.2 dejándolo reposar durante 2 horas entre cada lavado. Posteriormente, se deshidrató la muestra agregando 1 mL de alcohol etílico: acetona 9:1 (v/v) por 30 min, y se centrifugó a 4000 rpm durante 10 min. A continuación, se realizó el mismo procedimiento de deshidratación utilizando alcohol etílico: acetona con las relaciones de 7:3, 5:5, 3:7, 1:9 (v/v) y los dos últimos lavados con acetona. La biomasa deshidratada se fijó en cinta de carbón y se llevó a su observación en microscopio electrónico de barrido (Hitachi SU 5000) (Soto-Padilla *et al*., 2018).

Evaluación de biomasa bacteriana por peso seco

Para la evaluación de la biomasa por peso seco se realizó un cultivo bacteriano utilizando caldo nutritivo con agitación constante a 200 rpm por 24 horas a 37°C. Posteriormente se tomaron alícuotas que se ajustaron a concentraciones en densidad óptica de 0.2, 0.4, 0.6, 0.8 y 1.0 de absorbancia a una longitud de onda de 600 nm medido por espectrofotometría de luz UV-Vis. Posteriormente se tomó de cada concentración 5 mL en un matraz aforado, el cual fue trasferido a cajas de aluminio previamente puestas a peso contante, las cuales se secaron en el horno a 105°C durante 24 horas. Se tomaron lecturas en una balanza analítica y se determinó la biomasa bacteriana por diferencia de pesos mostrando como resultados un coeficiente de correlación de R^2 de 0.998 (Niño y Torres, 2010).

Concentración mínima inhibitoria

La resistencia de las cepas al Cr^{+6}, estimada como concentración mínima inhibitoria (CMI), se determinó el crecimiento bacteriano por densidad óptica a una longitud de onda de 600 nm (Lambda 25). Se utilizó caldo nutritivo suplementado con dicromato de potasio ($K_2Cr_2O_7$), para evaluar concentraciones de 50, 100, 300, 500, 700, 900, 1100, 1300 y 1500 mg L^{-1} de Cr^{+6}. Para ello, en 10 mL de caldo nutritivo suplementado con las concentraciones antes mencionadas se inoculó 300 µL a una densidad óptica de 0.6 a 0.8 a 600 nm y se incubaron 48 h a 37°C a 200 rpm, las pruebas se realizaron por duplicado (Barcos *et al*., 2019).

Cinética de crecimiento

Se inoculó con 10% de pre-inóculo (v/v) de cada bacteria aislada y se incubaron en matraz Erlenmeyer con caldo nutritivo suplementado con dicromato de potasio ($K_2Cr_2O_7$), a una concentración de 50 mg L^{-1} de Cr^{+6} previamente esterilizados en autoclave durante 15 minutos (Panigatti, *et al*., 2012). Los matraces inoculados se incubaron en un agitador orbital con una temperatura de 37°C a 200 rpm durante 24 horas. Para la evaluación del crecimiento microbiano se tomaron alícuotas de 3 mL del medio de cultivo en los tiempos de 0, 2, 4, 8, 12, 24, 36, y 48 horas. El crecimiento bacteriano se midió por densidad óptica a una longitud de onda de 600 nm en espectrofotometría UV-Vis (Lambda 25) (Flores *et al*., 2019). Los experimentos se realizaron por triplicado.

Cinética de reducción de Cr^{+6}

La reducción de Cr^{+6} se determinó utilizando 150

mL de caldo nutritivo suplementado con dicromato de potasio ($K_2Cr_2O_7$), a una concentración de 50 mg L^{-1}de Cr^{+6}, el cual se incubó a 37°C a 200 rpm durante 48 horas. Para la evaluación de la reducción de Cr^{+6} se tomaron alícuotas de 1.5 mL del medio de cultivo inoculado a los de 0, 2, 4, 8, 12, 24, 36, y 48 horas, Todas las muestras fueron centrifugadas a 3000 rpm durante 15 minutos. Para la concentración de Cr^{+6} se utilizó el sobrenadante, el cual fue utilizando el método de Ditizona a una longitud de onda de 540 nm en el espectrofotómetro UV-Vis (Lambda 25) (Hernández-Peña *et al*., 2016).

Resultados

Se aislaron 4 cepas de morfología colonial distintas, observando que las cepas identificadas como SVCrB01, SVCrB02, SVCrB03 y SVCrB05 presentaron morfología de bacilo

El análisis de microscopía electrónica de barrido se observa que la cepa SVCRB01 (Figura 1A) presenta forma de bacilo con tamaño que oscila entre 2.14 µm a 2.50 µm (Figura 1B) y diámetros entre 578 nm y 777 nm (Figura 1C). La cepa SVCrB02 presenta forma de bacilo (Figura 2A), definidos observados en un objetivo de 9000x con tamaños entre 1.15 µm y 1.46 µm (figura 2B) con diámetros entre 592 nm y 765 nm (Figura 2C). La cepa SVCrB03 mostró la forma de bacilos (Figura 3A), presentando tamaños que oscilan entre 1.53 µm y 2.52 µm (Figura 3B), y diámetros entre 695 nm y 883 nm (Figura 3C). En la figura 4A se observa la cepa SVCrB04, la cual presentó una morfología de bacilos bien definidos con tamaños entre 2.09 µm y 2.44 µm (Figura 4B), con diámetros entre 670 nm y 745 nm (Figura 4C).

En la figura 5 se muestran los resultados obtenidos en la evaluación de la concentración mínima inhibitoria (CMI), de las cepas a diferentes concentraciones de Cr^{+6}, observándose que las 4 cepas evaluadas presentan resistencia a la concentración de 1500 mg L^{-1} de Cr^{+6}; sin embargo las cepas identificadas como SVCrB01 y SVCrB02 muestran mayor crecimiento en todas las concentraciones evaluadas, por ello, éstas dos cepas fueron las consideradas para llevar a cabo la su cinética de crecimiento en Cr^{+6} y posteriormente su cinética de reducción de Cr^{+6} .

Las cinéticas de crecimiento de las cepas SVCrB01 y SVCrB02 se observa en la figura 6, en la cual se muestra que en las primeras 4 horas se observa la etapa exponencial del crecimiento bacteriano; sin embargo, la cepa SVCrB01 mostró menor crecimiento comparada con la cepa SVCrB02. Cabe mencionar que ambas cepas mostraron crecimiento de biomasa similar durante las pruebas de las CMI (Figura 5), en donde se observó que la cepa SVCrB02 presentó mayor crecimiento que la cepa SVCrB01. Las cepas muestran crecimiento en biomasa entre los 6000 y 8000 mg L^{-1}.

Los resultados obtenidos durante la cinética de reducción de Cr^{+6} se observó una disminución de la concentración de cromo hexavalente similar en ambas cepas evaluadas, ya que la mayor reducción de cromo hexavalente oscila entre las primeras 8 horas de crecimiento bacteriano, después de este tiempo se muestra una reducción mínima de Cr^{+6}. Al comparar los resultados con la cinética de crecimiento, se observa que coincide con el tiempo de la etapa de crecimiento exponencial. La cepa SVCrB01 mostró una reducción de Cr^{+6} de 85.08% en 48 h (Figura 7), mientras que la cepa SVCrB02 presentó 86.14% de reducción de Cr^{+6} a 48 h (Figura 8).

Discusión

Los asilamientos obtenidos en el presente estudio en los suelos agrícolas de San Víctor, Corozal, Belice, mostraron una escasa diversidad bacteriana, lo cual coincide con lo citado por otras investigaciones (Liporace *et al.*, 2019; Noriega-Luna *et al.*, 2018; Santana-Flores *et al.,* 2020; Soto-Padilla *et al.,* 2016), donde se determinó la presencia de microrganismos en sitios contaminados, las cuales reportan baja diversidad bacteriana. En éste estudió se observó la presencia de bacterias Gram (-) y Gram (+), las cuales mostraron la gran adaptabilidad al contaminante, mostrando la capacidad de crecer en concentraciones ≥1500 mg L^{-1} de Cr^{+6}. Al momento de estar los microrganismos en presencia de Cr^{+6}, permite el crecimiento de bacterias resistentes en el medio, teniendo la capacidad de tolerar efectos adversos, de tal manera que los metal tolerantes presentan mayor crecimiento (Liporace *et al.*, 2019; Soto-Padilla *et al.,* 2016).

La resistencia que las cepas aisladas presentaron al Cr^{+6} se puede atribuir a la presencia de este metal en los suelos agrícolas de San Víctor, Corozal en Belice, el cual se encuentra contaminado por el alto uso de fertilizantes y herbicidas llevando a la

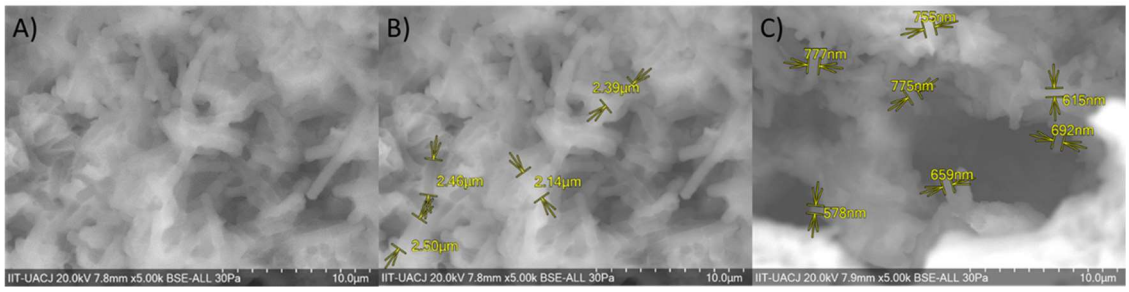


Figura 1. A) Microscopía electrónica de barrido de cepa identificada como SVCrB01 observado en objetivo de 5000x, B) Microscopía electrónica de barrido de cepa identificada como SVCrB01 mostrando tamaño de microorganismo observado en objetivo de 5000x, C) Microscopía electrónica de barrido de cepa identificada como SVCrB01 mostrando diámetro de microorganismo observado en objetivo de 5000x.

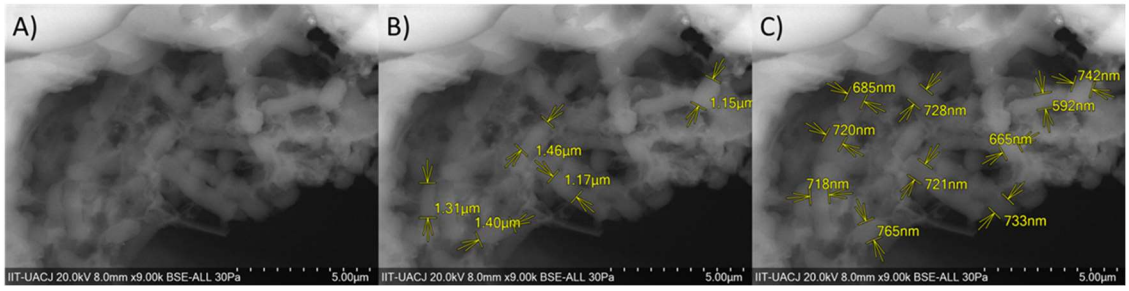


Figura 2. A) Microscopía electrónica de barrido de cepa identificada como SVCrB02 observado en objetivo de 9000x, B) Microscopía electrónica de barrido de cepa identificada como SVCrB02 mostrando tamaño de microorganismo observado en objetivo de 9000x, C) Microscopía electrónica de barrido de cepa identificada como SVCrB02 mostrando diámetro de microorganismo observado en objetivo de 9000x.

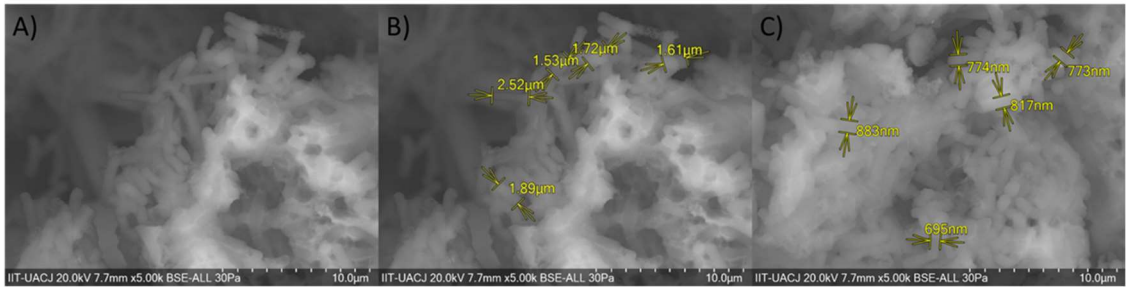


Figura 3. A) Microscopía electrónica de barrido de cepa identificada como SVCrB03 observado en objetivo de 5000x, B) Microscopía electrónica de barrido de cepa identificada como SVCrB03 mostrando tamaño de microorganismo observado en objetivo de 5000x, C) Microscopía electrónica de barrido de cepa identificada como SVCrB03 mostrando diámetro de microorganismo observado en objetivo de 5000x.

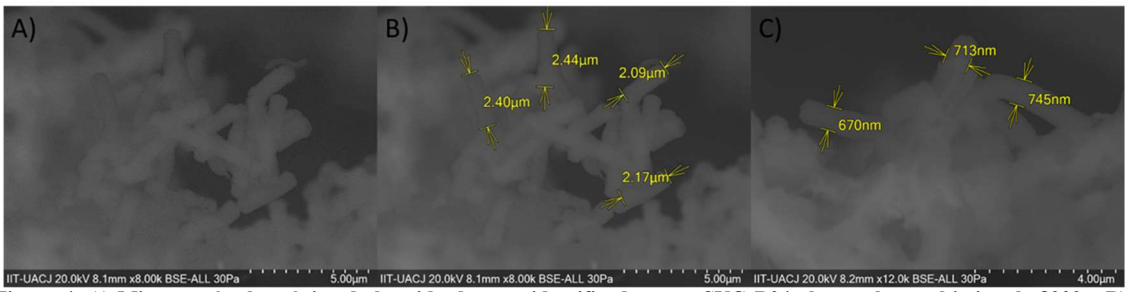


Figura 4. A) Microscopía electrónica de barrido de cepa identificada como SVCrB04 observado en objetivo de 8000x, B) Microscopía electrónica de barrido de cepa identificada como SVCrB04 mostrando tamaño de microorganismo observado en objetivo de 8000x, C) Microscopía electrónica de barrido de cepa identificada como SVCrB04 mostrando diámetro de microorganismo observado en objetivo de 8000x.

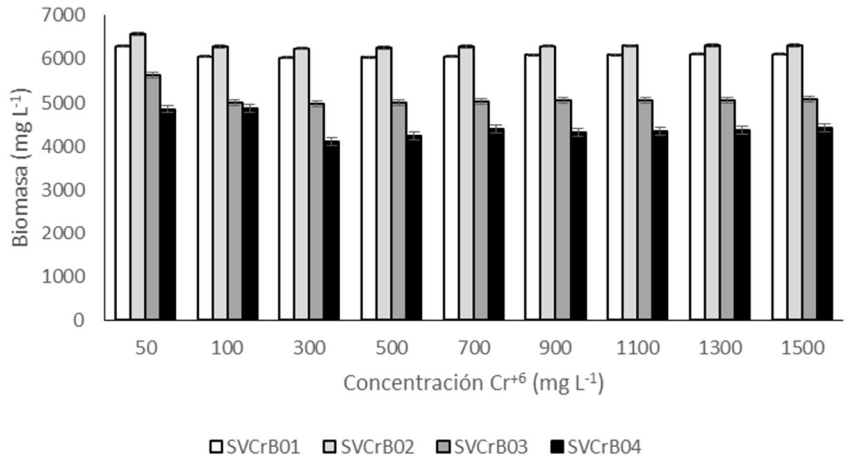


Figura 5. Concentración mínima inhibitoria (CMI) de Cr^{+6} en bacterias aisladas en San Víctor, Corozal, Belice.

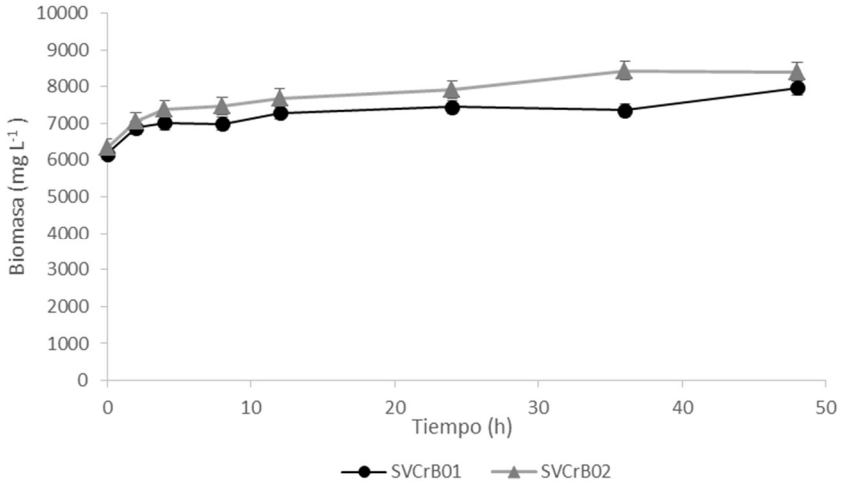


Figura 6. Cinética de crecimiento de cepas identificadas como SVCrB01 y SVCrB02 resistentes a Cr^{+6} en caldo nutritivo suplementado con 50 mg L^{-1} de cromo hexavalente (Cr^{+6}).

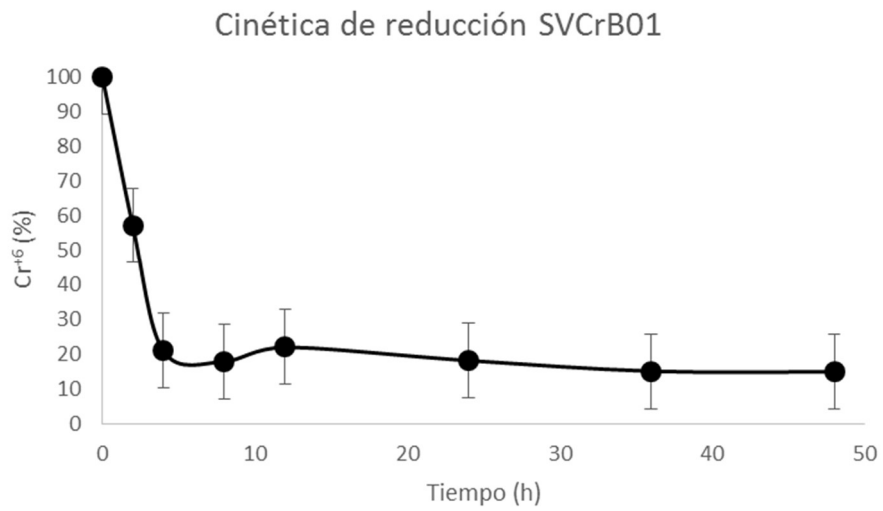


Figura 7. Reducción de Cr^{+6} por cepa identificada como SVCrB01 en caldo nutritivo suplementado con 50 mg L^{-1} de cromo hexavalente (Cr^{+6}).

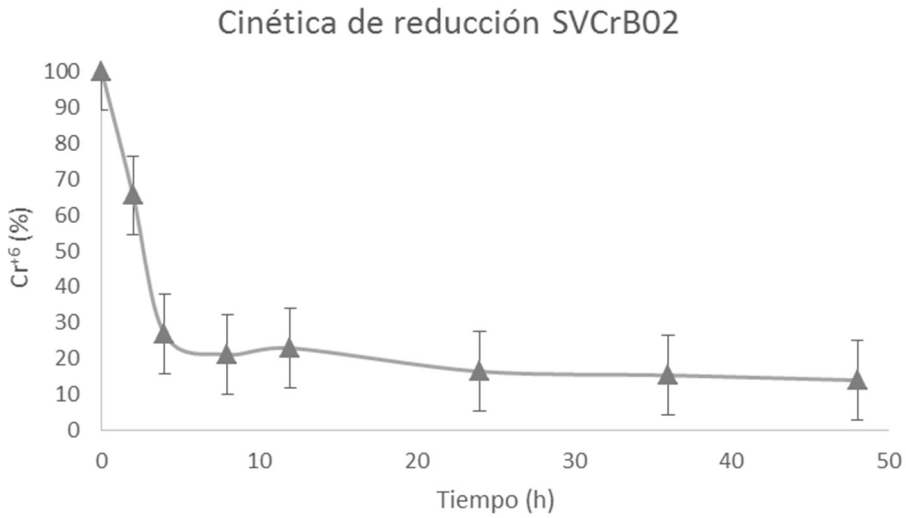


Figura 8. Reducción de Cr^{+6} por cepa identificada como SVCrB02 en caldo nutritivo suplementado con 50 mg L^{-1} de cromo hexavalente (Cr^{+6}).

acumulación de compuestos orgánicos y metales en el suelo (Hoffmann, 2019; Yah, 2018). La evaluación del crecimiento bacteriano en concentraciones elevadas de metales, como el Cr^{+6}, ha sido uno de los recursos para el aislamiento e identificación de bacterias metal tolerantes capaces de ser utilizadas en sitios que necesitan remediación por la presencia de estos contaminantes peligrosos para la salud humana, como lo es el Cr^{+6}, el cual es un elemento tóxico, recalcitrante y no biodegradable; por lo que, en este estudio se observó que concuerda con lo reportado en otros aislamientos bacterianos realizados en sitios contaminados (Simón, 2019; Escorcia y Saénz, 2019; Hernández-Peña *et al*., 2016), observándose que en concentraciones de 1500 mg L^{-1} de Cr^{+6}, se presenta aún crecimiento bacteriano.

Hernández-Peña *et al.,* (2016), removió el 52.6 % de Cr^{+6} en una solución de 50 mg L^{-1} en 72 horas utilizando bacterias, de la misma manera, se han aplicado otro tipo de microorganismos como procesos de reducción de Cr^{+6}, Soto-Padilla *et al.* (2016), reportan una reducción de cromo mayor a 80% por *Klebsiella* sp., *Serratia* sp. y *Routella* sp. en un tiempo de 45 horas utilizando una concentración inicial de 100 mg L^{-1} concordando con los resultados obtenidos, ya que la mayoría de las cepas utilizadas para dicha investigación reportan una reducción de Cr^{+6} mayor al 85% en un tiempo de 48 horas. Bach y Kathleen (2019), mostraron que en las primeras 40 horas se redujo el 14.63% de Cr^{+6} al evaluar *Pseudomonas* sp. en una concentración de 1.5 mg L^{-1}. Autores concuerdan que la mayor concentración de reducción de Cr^{+6} se produce en la etapa exponencial, teniendo como factor la multiplicación de las bacterias presentes; de tal manera que concuerda con nuestros resultados (Bach y Kathleen, 2019; Hernández-Peña *et al.,* 2016; Santana-Flores *et al* ., 2020; Soto-Padilla *et al.*, 2017).

Conclusiones

Las bacterias aisladas de los suelos agrícolas de San Víctor, Corozal, Belice presentan la capacidad de reducción de cromo hexavalente (mayor a 85 %), lo cual pueden ser una alternativa para ser utilizadas para diferentes usos biotecnológicos, como procesos de biorremediación.

Referencias

Ayala, J. C., Valenzuela, L. I., & Pedraza, M. (2017). Efectos de la sobreexpresión de una azoreductasa en la resistencia de Bacillus Subtilis a los efectos tóxicos del cromo. *Jóvenes en la ciencia, 3*(2), 768-772.

Bach, P., & Kathleen, X. (2019). Efecto de diferentes concentraciones de Pseudomonas sp en la biorreducción de cromo VI en agua residual de curtiembre de la provincia de Trujillo. *Universidad Nacional del Santa*, 92-102.

Barcos, M., Maldonado, M., Vera, J., & Peña, J. (2019). Caracterización de bacterias rizosféricas de suelo circundantes a una planta recicladora de plomo. *Revista Internacional de Contaminación Ambiental, 35*(2), 349-359.

Beltrán-Pineda, M. E., & Gómez-Rodríguez, A. M. (2016). Biorremediación de metales pesados Cadmio (Cd), Cromo (Cr) y Mercurio (Hg) mecanismos bioquímicos en ingeniería genética: Una revisión. *Universidad Militar Nueva Granada, 12*(2), 172-197.

Cárdenas, J., & Acosta, I. (2011). Remoción de Cromo Hexavalente por el Hongo Paecilomyces sp. Aislado del Medio Ambiente. *Revista Información tecnológica, 22*(1), 9-16.

Chávez, A. (2010). Descripción de la nocividad del cromo proveniente de la industria curtiembre y de las posibles formas de removerlo. *Revista Ingenierías, 9*(17), 41-49.

Diario Oficial de la Federación. (2000). Norma Oficial Mexicana NOM-021-SEMARNAT-2000 Que establece las especificaciones de fertilidad, salinidad y clasificación de suelos.

Escorcia, A., & Saez, Y. (2019). Evaluación in vitro de biorreducción de cromo hexavalente mediante microorganismos marinos aislados de la Bahía de Cartagena para tratamiento de aguas residuales . *Universidad de San Buenaventura*.

Flores, V., Fernández, C., & Medina, M. (2019). Aislamiento y evaluación de la efectividad de bacteriófagos aislados de ambiente marino y su efecto en el control de crecimiento bacteriano. *Boletín institucional del mar de Perú, 34*(1), 151-164.

Hernández-Peña, C., Lares-Villa, F., De los Santos-Villalobos, S., Estrada-Alvarado, M., Artiaga-Luna, M., Flores-Tavizon, E., Soto-Padilla, M. (2016). Reducción de cromo hexavalente y degradación de rojo de metilo por bacterias aisladas de sedimentos del Lago de Chapala, México. *Revista Latinoamericana de Recursos Naturales, 12*(2), 66-73.

Hoffmann, O. (2019). La Dominación agraria. Historias de pactos y rupturas en Belice en los siglos XIX y XX. *LiminaR, 17*(2), 32-47.

Liporace, F., Conde, D., Santiago, N., & Quevedo, C. (2019). Aislamiento de microorganismos a partir de áreas crónicamente contaminadas con hidrocarburos cercanas a zonas urbanizadas, para la aplicación de estrategias de biorremediación. *Brazilian Journal of Development, 5*(6), 4660-4674.

Niño Camacho, L., & Torres Sáenz, R. (2010). Implementación de diferentes técnicas analíticas para la determinación de biomasa bacteriana de cepas Pseudomona putida biodegradadoras de fenol. *Revista ION, 23*(1), 41-46.

Noriega-Luna, B., García Ramírez, K., Martínez-Rangel, C., Aguilar-Méndez, M., Serafín-Muñoz, A., Leal-Vaca, J. C., & Mendoza-Puga, E. (2018). Aislamiento, identificación y caracterización de bacterias resistentes a metales pesados de

desechos mineros. *Revista Latinoamericana el Ambiente y las Ciencias, 9*(21), 685-695.

Panigatti, M., Griffa, C., Boglione, R., Gentinetta, F., & Cassina, D. (2012). Uso de Escherichia coli para biorremediación de efluentes contaminados por cromo(VI). *Avances en Ciencias e Ingeniería, 3*(2), 11-24.

Rivera, E., Cárdenas, J., Martínez, V., & Acosta, I. (2015). Remoción de Cromo (VI) por una Cepa de *Aspergillus niger* Resistente a Cromato. *Información Tecnológica, 26*(4), 13-20.

Santana-Flores, A., Sánchez-Ayala, A., Romero-Ramírez, Y., Toledo-Hernández, E., Ortega-Acosta, S. Á., & Toribio-Jiménez, J. (2020). Aislamiento e identificación de bacterias tolerantes y bioacumuladoras de metales pesados, obtenidas de los jales mineros El Fraile, México. *Terra Latinoamericana, 38*(1), 67-75.

Simón, M. (2019). Evaluación de la potencialidad del sistema microorganismo-vegetal para la biorremediacion de sistemas contaminados. *Proimi Biotecnología*, 325-337.

Soto, E., Landazuri, P., & Loango, N. (2017). Remoción de cromo hexavalente de agua residuales con microorganismos adaptados a medios ricos en cromo. *Asociacion Colombiana de Ciencia, 1*(29), 49-57.

Soto-Padilla, M., Calderón-Orozco, D., Flores-Tavizon, E., Saúl-Solis, S., & Dávalos-Chargoy, C. (2016). Potencial de remoción de plomo mediante bacterias aisladas del sedimento de laguna San Juan, Ascensión, Chihuahua. *Tecnociencia Chihuahua, 10*(3), 161- 167.

Yah, R. A. (2018). *Biodegradación del (herbicida) ácido 2,4-diclorofenoxiacético mediante bacterias nativas de suelos agricolas de la comunidad de San Víctor en Corozal, Belice.* Chetumal, Quintana Roo.: Universidad de Quintana Roo. Tesis para obtener el grado de licenciatura.

Yang, T., Ren , L., Jia, Y., Fan, S., Wang, J., Wang, J., . . . Yan, Y. (2018). Biodegadation of Di-(2-ethylhexyl) Phthalate by Rhodococcus ruber YC-YT1 in contaminated water and soil. *International journal of environmental research and public health, 15*(964), 1-20.