

PONTIFICIA UNIVERSIDAD CATÓLICA DEL ECUADOR

**FACULTAD DE CIENCIAS EXACTAS,
NATURALES Y AMBIENTALES**

**ACTINOBACTERIAS Y METALES PESADOS:
MECANISMOS DE RESISTENCIA Y POTENCIAL BIORREMEDIADOR**

**MONOGRAFÍA PREVIA A LA OBTENCIÓN DEL TÍTULO DE
MICROBIÓLOGA**

SAMANTA CAROLINA CHANGOLUISA LEÓN

QUITO, 2025

Certifico que la Disertación de Microbiología de la Srta. Samanta Carolina Changoluisa León ha sido concluida de conformidad con las normas establecidas; por lo tanto, puede ser presentada para la calificación correspondiente.

Eliza Jara-Negrete

Directora de la Disertación

Quito, 2 de julio de 2025

DEDICATORIA

A mis padres, Paulina León y Javier Changoluisa, por su apoyo incondicional y el amor que siempre me han brindado. Su ejemplo de perseverancia ha sido mi guía para no darme por vencida y tener firmeza para cumplir mis sueños. La culminación de esta monografía es un reflejo de su devoción y fe inquebrantable en mí.

A mi abuelita Magda, cuya sabiduría y comprensión han sido un pilar constante en mi vida. Su presencia ha iluminado durante cada etapa de mi vida.

A mi novio Emilio, por su comprensión, cariño y presencia incondicional durante mi etapa universitaria. Gracias por ser un firme y motivador apoyo en cada desafío atravesado.

TABLA DE CONTENIDOS

DEDICATORIA	iii
TABLA DE CONTENIDOS.....	iv
1. RESUMEN.....	1
2. ABSTRACT.....	2
3. INTRODUCCIÓN.....	3
4. OBJETIVOS.....	7
4.1 OBJETIVO GENERAL.....	7
4.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS	7
5. DESARROLLO TEÓRICO	8
5.1 CARACTERÍSTICAS DE LAS ACTINOBACTERIAS.....	8
5.2 MECANISMOS DE RESISTENCIA A METALES PESADOS POR ACTINOBACTERIAS 14	
5.3 ESTRATEGIAS Y APLICACIONES BASADAS EN ACTINOBACTERIAS PARA MEJORAR LA REMEDIACIÓN DE CONTAMINANTES METÁLICOS	32
6. CONCLUSIONES	39
7. RECOMENDACIONES.....	41
8. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	42

1. RESUMEN

Las actinobacterias pertenecen al filo Actinomycetota, son bacterias Gram positivas y ubicuas, destacadas por la producción de una amplia gama de metabolitos secundarios. Esta particular característica las posiciona como protagonistas en la bioprospección y, particularmente en la biorremediación, una estrategia sostenible para combatir un problema actual, la contaminación por metales pesados. Estos contaminantes, persistentes y bioacumulables representan una amenaza continua tanto para los ecosistemas acuáticos y terrestres como para la salud humana, dada su capacidad de acumularse en la cadena alimenticia. Ante esta problemática, esta monografía profundiza y desglosa a los mecanismos de resistencia que emplean las actinobacterias. Se analiza como las actinobacterias gestionan la toxicidad de los iones metálicos a partir de la biosorción, bioacumulación, biotransformación y síntesis de EPS y metalóforos, detallando a su vez como los mecanismos pueden ser demostrados experimentalmente desde varias metodologías, desde pruebas primarias como ensayo en placa y concentración mínima inhibitoria, hasta técnicas avanzadas como ensayo CAS y la incorporación de herramientas bioinformáticas como antiSMASH y GECCO. Sin embargo, a pesar de las notables ventajas de las actinobacterias para resistir en ambientes contaminados con metales pesados, su implementación a gran escala posee una limitación bastante crítica, la diferencia de eficiencia *in vitro* e *in vivo*; una brecha que enfatiza la necesidad de comprender los mecanismos de resistencia para estimular el potencial de las actinobacterias y asentar las bases teóricas para su implementación práctica en la realidad ambiental en presencia de contaminantes metálicos.

Palabras clave:

actinobacterias, biorremediación, bioacumulación, metales pesados, metalóforos

2. ABSTRACT

Actinobacteria, members of the phylum *Actinomycetota*, are Gram-positive, ubiquitous microorganisms notable for their ability to produce a wide range of secondary metabolites. This trait makes them central to bioprospecting, particularly in bioremediation—a sustainable approach to mitigating heavy metal pollution. These contaminants are persistent, bioaccumulative, and pose significant risks to both ecosystems and human health due to their capacity to enter and magnify through the food chain. This study examines the resistance mechanisms employed by actinobacteria to cope with metal ion toxicity, including biosorption, bioaccumulation, biotransformation, and the synthesis of exopolysaccharides (EPS) and metallophores. It also reviews experimental methodologies used to characterize these mechanisms, from preliminary assays such as plate tests and minimum inhibitory concentration (MIC) determination to advanced techniques like the Chrome Azurol S (CAS) assay and bioinformatic tools such as antiSMASH and GECCO. Despite their promising capabilities, large-scale application of actinobacteria remains limited by the discrepancy between in vitro and in vivo efficacy. To address this gap is essential to harness their full biotechnological potential and to lay the groundwork for their practical use in environments contaminated with heavy metals.

Keywords:

actinomyces, bioremediation, bioaccumulation, heavy metals, metallophores

3. INTRODUCCIÓN

Las actinobacterias son un grupo de bacterias Gram positivas que pertenecen al filo Actinomycetota. Se encuentran en diversos ambientes, desde suelos contaminados hasta ambientes acuáticos, destacando su versatilidad (García-Portales, 2021), relacionada con los procesos de adaptación donde se encuentran y que son aprovechadas en investigaciones de bioprospección. Esto último consiste en explorar y a su vez usar la vida biológica para obtener productos con sus capacidades metabólicas de los microorganismos (Carranza - Hernández, 2017), lo que involucra la búsqueda de recursos biológicos en diversos hábitats, para descubrir y crear nuevas aplicaciones en medicina, agricultura e industria. En el caso de las actinobacterias, su adaptabilidad a diferentes entornos ayudada por su gran capacidad de producir metabolitos secundarios las convierte en una fuente prometedora de nuevos compuestos bioactivos (Maghembe et al., 2020), como antibióticos, enzimas y metalóforos.

Entre las aplicaciones asociados al uso de actinobacterias está la biorremediación, una técnica que utiliza microorganismos, plantas o enzimas para reducir o eliminar la contaminación. Por ejemplo, las actinobacterias se pueden emplear en suelos que están contaminados con derrames de petróleo, esto se debe porque este tipo de bacterias tienen las enzimas necesarias para el metabolismo de hidrocarburos, específicamente oxigenasas y peroxidasas que dan lugar a las diferentes vías de degradación (Oliart et al., 2016). Asimismo, se podría potenciar su uso en diferentes entornos como son en aguas y suelo que son entornos, que también pueden llegar a ser contaminados por los metales pesados y metaloides, implicando el uso de las actinobacterias en la biorremediación.

Los metales pesados son elementos químicos con alta densidad, como el plomo, mercurio, arsénico y cromo, que pueden ser tóxicos para los organismos vivos incluso en bajas concentraciones. Estos metales se acumulan en suelos, aguas y organismos, afectando

gravemente la salud humana y ambiental (Covarrubias y Cabriales, 2017), debido a la capacidad que tienen los metales pesados por acumularse en tejidos a lo largo de la cadena alimenticia (Chalen Santos, 2021), es decir por su característica de bioacumulación que no solo repercute en el ecosistema ya que también se acumula en el cuerpo humano mediante los alimentos que son consumidos e interfieren en cambios significativos de la cadena alimentaria.

Al estar los metales pesados presentes en la cadena alimentaria, especialmente en los productos provenientes del suelo, tal como vegetales y frutas, tubérculos, legumbres y cereales (Mitra et al., 2022), el problema se agrava porque al existir un aumento de la contaminación de los suelos, el porcentaje de disponibilidad de las tierras para el cultivo disminuye y como son productos que a diario consumen las personas, comienzan los efectos adversos en las personas por la bioacumulación de estos contaminantes químicos.

Por consiguiente, la bioacumulación en humanos puede conllevar a la toxicidad en humanos, perjudicando a los órganos del cuerpo como el hígado, cerebro e incluso el corazón y a su vez generando hepatotoxicidad, neurotoxicidad y toxicidad cardiovascular (Mitra et al, p.2, 2022). Además, al ser los metales pesados altamente tóxicos, también conllevan otras consecuencias. Entre estas se encuentran, la disminución de la actividad muscular, así como también de la visión, olfato y memoria, también pueden causar problemas en la piel e incluso diferentes tipos de cáncer (Aguirre –Córtez, 2022), por lo que, se necesitan soluciones biotecnológicas sustentables, como es la biorremediación y será dirigida a diferentes lugares que estén contaminados.

Aunque es un proceso prometedor, la biorremediación de suelos contaminados con metales pesados enfrenta desafíos, ya que estos elementos no se degradan fácilmente. Sin embargo, algunos microorganismos pueden captar, transformar o inmovilizar estos metales, lo que ayuda a disminuir su toxicidad (Covarrubias y Cabriales., 2017). La forma en la que las bacterias realizan esto puede involucrar uno o varios de los siguientes mecanismos: bioacumulación, biosorción, quelación de iones, secreción de exopolisacáridos (Timková et al., 2018). La identificación del mecanismo específico permite conocer las ventajas y limitaciones del uso de los microorganismos en procesos de biorremediación.

En el caso de las actinobacterias, este conocimiento es escaso, pero guarda un inmenso potencial. En Brasil se aislaron 2152 especies de actinobacterias y se demostró que la población de estos microorganismos no se ve alterada por una alta concentración de aluminio en el suelo (Silva et al., 2013). Por otra parte, algunas cepas de *Streptomyces spp* tienen alta tolerancia a diferentes concentraciones de metales pesados, como es *S. mirabilis* que puede crecer 130 mM de sulfato de níquel (Bragensch et al., 2022), o *Arthrobacter spp* que tiene una gran versatilidad metabólica, que le confiere degradar hidrocarburos y xenobióticos, tal como Arsénico, Vanadio, Níquel, Plomo, Selenio, Zinc, Cadmio, Cromo y Cobre (Silva et al., 2013). En otro estudio, se encontró cepas de *Streptomyces spp* con un 94% de eficacia en la remoción de cromo en medios líquidos y sólidos, pero en pruebas in vivo la remoción disminuyó al 50% (Mawang et al., 2021). Por otra parte, se conoce que las actinobacterias son capaces de producir sideróforos, siendo una característica importante para la supervivencia en ambientes altamente tóxicos con metales pesados como Ni^{2+} y Cu^{2+} (Patel et al., 2018).

En el filo *Actinomycetota*, la investigación acerca de los mecanismos de resistencia a metales pesados ha sido insuficiente, ya que los estudios se han centrado en otros

compuestos bioactivos como los antibióticos. No obstante, la resistencia a metales pesados es una capacidad reportada de este filo y a medida que la contaminación por estas sustancias sigue aumentando, es imperativo buscar estrategias sostenibles y efectivas con la finalidad de aminorar las consecuencias del impacto ambiental que generan. Mediante esta investigación se propone dar a conocer que las actinobacterias, por sus mecanismos de resistencia y capacidades metabólicas, son microorganismos eficientes para la degradación de diferentes tipos de metales pesados. Para ello, se explorará cada uno de los mecanismos conocidos, las especies de actinobacterias en las que éstos han sido identificados y las metodologías que se usan para este tipo de experimentos. Con esta información se tendrá una perspectiva general para proyectar la aplicabilidad de las actinobacterias en el área de biorremediación agrícola que sirva como sustento para futuras investigaciones experimentales.

4. OBJETIVOS

4.1 OBJETIVO GENERAL

Examinar la literatura científica con relación a los mecanismos de resistencia a metales pesados usados por las actinobacterias, infiriendo el uso potencial de estos microorganismos en biorremediación.

4.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- 1 Exponer los mecanismos de resistencia a metales pesados reportados en actinobacterias
- 2 Comparar metodologías de evaluación de la capacidad de resistencia a metales pesados.
- 3 Explicar los posibles usos de actinobacterias específicas en procesos de biorremediación con base en la información recopilada.

5. DESARROLLO TEÓRICO

5.1 CARACTERÍSTICAS DE LAS ACTINOBACTERIAS

5.1.1 DEFINICIÓN Y CLASIFICACIÓN

El término “actinobacteria”, se deriva de palabras griegas “*aktis*” y “*mukēs*”, que indican rayo y hongo respectivamente. La conexión con dichas palabras hace alusión al crecimiento de las actinobacterias que se da por una combinación entre la extensión y la ramificación de la hifa (Miao y Davis, 2010). Tomando en consideración que, anteriormente las actinobacterias eran consideradas como una transformación entre los hongos y bacterias (Barka et al., 2015), esto se da por su morfología con forma filamentosa que poseen, siendo la esporulación su forma de reproducción.

Las actinobacterias poseen un alto contenido de guanina y citosina que contienen su información genética y son bacterias ubicuas, filamentosas, Gram positivas (Miao y Davis, 2010), lo último puede verse demostrado en la Figura 1. Al ser filamentosas, les confiere ventajas en relación con la producción de metabolitos secundarios, así como también su supervivencia en entornos difíciles. De igual manera, al estar presentes en todos los ecosistemas y a su vez en una amplia variedad de ecosistemas su clasificación con los años ha ido cambiando, pero la clasificación original taxonómica actualizada se hizo en base al gen ARNr 16S (Miao y Davis, 2010). Aunque también, se han usado otros marcadores genéticos como son genes *housekeeping* y entre ellos están *rpoB* y *ssgB* (González - Nava, 2021), esto con la finalidad de disminuir los sesgos de errores en la clasificación.

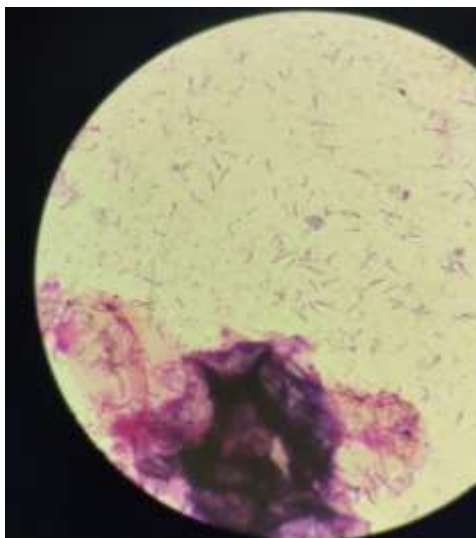


Figura 1. Análisis microscópico de una cepa de actinobacteria. Bacterias Gram positivas alargadas, mayormente agrupadas y en cadenas. Imagen inédita.

Al haber un vasto número de órdenes y de especies bacterianas, la clasificación se analiza por varios enfoques entre ellos por su morfología, como se observa en la Figura 2, y también por mecanismos moleculares. De igual manera, se puede analizar a partir de criterios quimiotaxonómicos que abarcan la composición de la pared celular, fosfolípidos y el contenido de azúcares (González - Nava, 2021).



Figura 2. Colonia de actinobacteria en medio agar caseína almidón. Demostración de las características morfológicas de las colonias de actinobacteria, presentando una coloración blanca, sin bordes definidos y de textura polvorienta. Imagen inédita.

De esta forma, este grupo de bacterias pertenece al filo Actinomycetota y este filo se divide en 6 clases que son: Actinobacteria, Acidimicrobiia, Coriobacteriia, Nitrospirae, Nitriliruptoria,

Rubrobacteria y Thermoleophilia. La clase Actinobacteria tiene 16 órdenes que son: Actinopolysporales, Actinomycetales, Bifidobacteriales, Catenulesporales, Corynebacteriales, Frankiales, Glycomycetales, Jiangellales, Kineosporiales, Micrococcales, Micromonosporales, Propionibacteriales, Pseudonocardiales, Streptomycetales, Streptosporangiales y Geodermatophilales. No obstante, entre gran cantidad de órdenes, la que más se destaca es Actinomycetales (Barka et al., 2015), debido al amplio uso de especies pertenecientes a dicho orden en diferentes sectores.

Actinomycetales se destaca porque los géneros pertenecientes a este orden, representa el grupo más abundante de microorganismos relacionados con la producción de compuestos bioactivos, específicamente antibióticos. Enfatizando que, del 40% de metabolitos secundarios generados a partir de actinobacterias, el 80% es exclusivamente de *Streptomyces spp* (Claverías et al., 2015). Lo más representativo de este orden es que, en comparación con el resto de las bacterias que poseen cromosomas circulares, en el orden Actinomycetales las especies de *Streptomyces spp* y algunas especies de *Rhodococcus spp* poseen cromosomas lineales (Kirby, 2011), entre la especie con cromosoma lineal es *Rhodococcus jostii* (Iino et al., 2012), siendo una característica poco común entre bacterias.

5.1.2 GÉNEROS RELEVANTES

Dentro de la clase de Actinobacteria, hay que destacar la importancia del género *Streptomyces spp*. Es una bacteria que se distingue morfológicamente por ser Gram positiva, filamentosa y con formación de esporas en el extremo de sus hifas aéreas, confiriendo la característica macroscópica general, colonias polvorosas. (Alam et al., 2022), distintiva de gran parte del filo. Desde el punto de vista quimiotaxonómico, *Streptomyces spp* tiene un contenido de guanina – citosina relativamente alto, mismo que alcanza un porcentaje que oscila entre 69% a 78%. Su pared celular es de tipo I, misma que posee ciertos aminoácidos como el ácido diaminopimélico y glicina (Duangupama et al., 2023), siendo el ácido

diaminopimélico un aminoácido esencial para la caracterización de este género. La importancia de *Streptomyces spp*, radica en su amplia producción de metabolitos secundarios durante su fase de crecimiento. Entre los metabolitos que más destacan, se encuentran aquellos relacionados con el área clínica como los antibióticos, específicamente la estreptomicina (Quinn et al., 2020). Precisamente, dichos metabolitos le confieren al género bacteriano ciertas propiedades antibacterianas, inhibiendo a la competencia de su entorno.

De forma similar a otras clases con géneros influyente, en la clase Acidimicrobiia, el género *Acidimicrobium sp* tiene una gran relevancia científica. Morfológicamente, el género se caracteriza por ser Gram positivo y con forma de bacilos con longitudes variables. Hasta el momento, no se ha reportado la presencia de endosporas en este género bacteriano (Arroyo et al., 2014). En cuanto, a su composición quimiotaxonómica este género posee ácido diaminopimélico en su pared celular (Stackebrandt, 2014), un rasgo que comparte con otras clases bacterianas, pero con sus respectivas particularidades. La importancia de *Acidimicrobium sp* se le atribuye en estudios referentes al área de biorremediación.

Se ha reportado que el género *Acidomicrobium sp*. puede degradar contaminantes persistentes como las sustancias perfluoralquiladas y polifluoralquiladas (PFAS) mediante la ruptura de enlaces carbono y flúor (Bentel et al., 2019). Dicha capacidad se fundamenta principalmente en su habilidad para oxidar amonio mientras reduce el hierro presente en su entorno, conllevando a una relación directa entre la cantidad de amonio oxidado y la eficiencia en la desfluoración. Además, posee un gen llamado *rdhA* que codifica la enzima deshalogenasa reductora (Jaffé et al., 2024), permitiendo la ruptura de los enlaces C-F y a su vez la degradación de forma más efectiva de estos contaminantes químicos persistentes en la naturaleza.

Siguiendo a la clase Nitriliruptoria, el género *Nitriliruptor sp*. es de gran interés. Al igual que en el resto de los géneros, las características morfológicas bacterianos permiten una

diferenciación entre clases. Este género es Gram positivo, con sus células en forma de bacilos cortos, no motiles y sin capacidad de formar esporas (Sorokin et al., 2009). Desde la perspectiva quimiotaxonómica, este género tiene una gran diferencia con relación a las clases anteriores porque *Nitriliruptor sp* en su pared celular contiene ácido meso diaminopimélico y es un diamino crucial para la diferenciación de este género (Sorokin et al., 2009). La importancia del género, particularmente de la especie *Nitriliruptor alkaliphilus* se enfoca en el área de biorremediación.

La especie *Nitriliruptor alkaliphilus*, desempeña un papel sumamente importante en la biorremediación, mediante la degradación de nitrilos. Aunque hay otras bacterias con esta capacidad, *Nitriliruptor alkaliphilus* degrada el nitrilo por completo mediante la vía nitrilo hidrolasa y se encarga de transformar compuestos químicos como el isobutironitrilo en amoníaco (Shivlata y Satyanarayana, 2015). De esta forma la presente especie puede degradar contaminantes industriales que son tóxicos para el ambiente y para la vida cercana a su entorno, ya que fuerza a los microorganismos a efectuar mecanismos de resistencia.

En contraste con los lugares contaminados donde se está empezando a implementar la biorremediación, existen otros entornos externos como aquellos expuestos a altas dosis de radiación, causando severos daños a las células bacterianas, porque ocasiona daños fotoquímicos a su material genético y también puede generar mutaciones e incluso a rompimiento de las cadenas dobles o simples del ADN (Ragon et al., 2011). Pese a las consecuencias mencionadas por dicha exposición existen bacterias que son radioresistentes y entre ellas se encuentra *Rubrobacter spp*, perteneciente a la clase Rubrobacteria. La morfología de este género bacteriano comprende la forma de bacilos cortos y algunas especies son pleomórficas, Gram positivas y no mótils y asporogénicas (Kouřilová et al., 2021), el último punto se refiere a que no puede producir esporas. La especie en particular con un mayor grado de importancia es *Rubrobacter radiotolerans* que se caracteriza por sobrevivir y a su vez realizar sus funciones metabólicas aún expuesta a dosis altas de

radiación. La notable resistencia de *Rubrobacter radiotolerans* se debe en mayor parte a la formación de comunidades endolíticas, generalmente en rocas, también debido a la reparación efectiva del ADN y pigmentos carotenoides, siendo ésta última característica necesaria para protegerse contra el estrés oxidativo (Ragon et al., 2011) y a la desecación, siendo factores asociados a la exposición frente a radiaciones altas.

En comparación con los géneros previamente mencionados cuya importancia radica en el ámbito de la biorremediación y resistencia a la radiación, la clase Coriobacteriia alberga a *Atopobium spp.* Morfológicamente, el género presenta una forma celular que puede ser bacilos elípticos cortos, como *Atopobium minutum*, o cocos pequeños como es el caso de *Atopobium vaginae*. Las células pueden tener varias agrupaciones ya sean en pares, grupos o cadenas cortas. Son bacterias Gram positivas, no móviles y no forman esporas (Liu, 2011). Quimiotaxonómicamente, esta clase bacteriana tiene un contenido de guanina – citocina bajo en comparación con el resto de las clases, teniendo un valor que oscila entre 45.7% a 49% GC (Nouioui et al., 2018). Poseen paredes celulares en las que el componente principal es el ácido meso diaminopimélico, también conocido como DAP (Bai et al., 2024). La especie microbiana que tiene relevancia es *Atopobium vaginae* cuya importancia se le atribuye netamente al ámbito clínico.

Esta especie, *Atopobium vaginae*, se asocia comúnmente a infecciones vaginales y la estimulación en la producción de biofilms junto con otras bacterias patógenas tal como *G.vaginalis*, cuyo rol de este último es actuar como un colonizador para que *A.vaginae* pueda unirse (Mendling et al., 2019), esta interacción agrava aún más a los pacientes de sexo femeninos ya que potencia la patogenicidad bacteriana de *Gardnerella vaginalis*.

Finalmente, la clase Thermoleophilia es poco estudiada y esta clase cuenta con solo 2 especies que son *Thermoleophilum minutum* y *Thermoleophilum album*, ambas termófilas. *Thermoleophilum spp.*, es parcialmente diferente al resto de clases, son bacilos cortos Gram

negativos, no mótils y no formadores de esporas (Shivlata y Satyanarayana, 2015). Desde el punto de vista quimiotaxonómico, su contenido de guanina – citocina es bastante alto, llegando a tener un valor entre 68.8% a 70.4%. Además, su aminoácido principal para la formación de su pared celular es el ácido diaminopimélico (Perry, 2015). *Thermoleophilum album* se caracteriza por la síntesis de enzimas, específicamente las catalasas de manganeso que son comúnmente usadas para la defensa bacteriana contra el peróxido de hidrógeno (Whittaker, 2011).

5.2 MECANISMOS DE RESISTENCIA A METALES PESADOS POR ACTINOBACTERIAS

Los metales pesados se encuentran en un amplio rango de lugares como los sistemas acuáticos, suelos y la atmósfera. Abarcan a algunos elementos como el cadmio, plomo y mercurio (Dagdag et al., 2023). Son un grupo de metaloides y metales cuyas densidades superan a los 4 g/cm³. Ese valor, hace alusión a una elevada densidad, mismo que es un factor relacionado con los efectos adversos de los metales pesados al ser liberados al medio ambiente, razón por la cual se les cataloga como contaminantes químicos por sus características propias de contaminantes tales como persistentes y bioacumulables (Ali et al., 2021).

La persistencia de los metales pesados se relaciona intrínsecamente con su resistencia a la degradación (Briffa et al., 2020), convirtiéndolos en una amenaza latente a los ecosistemas y a los organismos vivos, entre ellos a los microorganismos, por su toxicidad. La presencia de metales pesados pone en juego diferentes funciones de los microorganismos porque compromete la sensibilidad de las comunidades microbianas, dado que los metales pesados afectan su capacidad metabólica, procesos de información genética, así como también roles en los ciclos biogeoquímicos como el ciclo de nitrógeno y carbono (Li et al.,

2020), disminuyendo negativamente la diversidad de microorganismos en un entorno con altas concentraciones de metales.

A pesar de los efectos negativos por la presencia de metales pesados, ciertos microorganismos han adaptado diversas rutas metabólicas, diferentes a la original para su supervivencia, tal como las actinobacterias. Tomando en consideración que, las rutas metabólicas centrales en este gran filo bacteriano constan de la glucólisis y ciclo de Krebs (Martín et al., 2021). La presencia de contaminantes supone una alteración en el metabolismo de las actinobacterias y a su vez el uso de alguna otra ruta metabólica en presencia de metales pesados. Sin embargo, el conocimiento de las rutas metabólicas alternativas de las actinobacterias con iones metálicos es escaso, pese a este vacío de conocimiento, las bacterias dentro de este filo han generado mecanismos de resistencia que favorecen su supervivencia mediante adaptaciones.

5.2.1 TIPOS DE MECANISMOS: BIOSORCIÓN, BIOACUMULACIÓN, BIOTRANSFORMACIÓN, SECRECIÓN DE EXOPOLISACÁRIDOS, PRODUCCIÓN DE METALÓFOROS

La capacidad de resistencia a metales pesados depende netamente de las propiedades estructurales, adaptaciones fisiológicas y genéticas del microorganismo, así como también de la cantidad del metal en su entorno (Timková et al., 2018). Entre los mecanismos conocidos para hacer frente a estos contaminantes están: la producción de exopolisacáridos (EPS), sideróforos, biotransformación, biosorción y bioacumulación.

El primer mecanismo que se detallará en los mecanismos de resistencia frente a los metales pesados es la biosorción. Este proceso se refiere a un proceso físico y químico porque involucra intercambios iónicos, así como también fuerzas químicas como la de Van der Waals que permiten la unión de la solución contaminante a la superficie de la biomasa

(Sala et al., 2010). Desde el aspecto biológico, es un proceso metabólicamente pasivo que usa biomasa viva o muerta y tras la interacción entre la solución de contaminante y la biomasa, la solución se adhiere a la pared de la célula, en este caso bacteriana (Derco y Vrana, 2018). Así la biosorción, representa un anclaje inicial y superficial, que no demanda a las bacterias energía adicional para su cumplimiento, puesto que es metabólicamente pasivo. Este proceso es reversible y su acción se radica cuando el ion metálico del metal se adhiere en la pared celular bacteriana y los grupos amina, hidroxilo, fosfato y carboxilo, que son grupos funcionales de la pared relacionados con su estructura y estabilidad, aparecen y forman interacciones iónicas (Timková et al., 2018), que permiten la retención inicial del metal.

La eficiencia con la que las actinobacterias llevan a cabo la biosorción se da por tres factores cruciales. El primer factor es por los grupos funcionales de la pared celular que actúan como centros activos que facilitan la unión entre el metal y la superficie bacteriana, porque se relacionan con la carga de la pared y la orientación de los metales (Presentato et al., 2020). Dicha eficiencia, se sustenta porque la pared celular de las actinobacterias es negativa y atraen a compuestos con carga positiva, entre ellos los metales o metaloides (Jean et al., 2024).

El segundo factor es su pequeño tamaño celular y el último factor es por su alta relación superficie – volumen, misma que le permite tener una interacción mucho más amplia con la superficie (Presentato et al., 2020). Siendo este último beneficioso para las actinobacterias porque tendrán superficies de contacto más extensas permiten a los iones metálicos unirse. No obstante, la naturaleza reversible de la biosorción, permite que las sustancias contaminantes pueden ser nuevamente liberadas a su entorno, lo que enfatiza la necesidad de mecanismos que lo complementen, como la bioacumulación.

Al ser un proceso complementario, la bioacumulación tiene mayores ventajas, distinguiéndose principalmente por involucrar únicamente biomasa viva porque es un proceso

metabólicamente activo. Si bien la biosorción y bioacumulación se asemejan en la interacción iónica entre las sustancias metálicas y la pared celular de las bacterias, este último proceso puede retener al metal (Timková et al., 2018). El componente metálico es transportado en contra del gradiente de concentración hacia la membrana y ahí se acumulará, lo que conlleva a un gran gasto energético, por H^+ - ATPasa, tras internalizar el metal al citoplasma, proteínas ricas en grupos sulfhidrilos actuarán sobre el (Pande et al., 2022). Es importante resaltar que, los iones metálicos pueden ser incorporados al citoplasma e incluso a compartimentos intracelulares mediante endocitosis, proteínas transportadoras de membrana y canales iónicos, (Pande et al., 2022). La internalización subsiguiente de los iones metálicos reduce el riesgo de posibles contaminaciones secundarias porque los microorganismos retienen a los metales en su interior.

Por otra parte, la bioacumulación abarca la relación bioquímica entre los grupos funcionales y los metales presentes en las paredes celulares, siendo este proceso eficiente entre las capacidades metabólicas especiales y con las proteínas como las metalotioneínas. También conocidas como MT's, quienes juegan un rol importante en la relación microorganismo-metal (Roy et al., 2023), lo que facilita la absorción y la transformación especialmente de Cd, Zn y Cu. Las metalotioneínas tienen una capacidad única para unirse a diferentes iones metálicos porque son ricas en cisteína (Darwin, 2015). La cisteína es un aminoácido que contiene un grupo tiol (-SH), que está conformado por un átomo de azufre unido a un átomo de hidrógeno (Poole, 2014). La estructura química del grupo tiol, confiere a las MT's una alta afinidad para unirse a iones metálicos (Darwin, 2015). Esta afinidad es especialmente fuerte cuando el grupo tiol se desprotona, es decir que pierde un átomo de hidrógeno en forma de protón (H^+) y cuando esto ocurre el tiol se transforma en un anión tiolato. En donde, el azufre adquiere una carga completamente negativa al conservar el electrón que compartía con el átomo de hidrógeno (Poole, 2014), por lo que el azufre se queda con un electrón extra. Dado que los iones metálicos tienen una carga positiva, se sienten atraídos por la carga negativa del anión tiolato presente en las cisteínas.

Complementando a la biosorción y bioacumulación, se da lugar a la biotransformación, que permite una adecuada regulación de los metales pesados que las actinobacterias bioacumulen, esto lo harán disminuyendo la carga tóxica del contaminante (Emenike et al., 2018). La biotransformación implica la alteración de las propiedades físicas y químicas de los metales pesados para descomponer a los metales pesados (Kondakindi et al., 2024). Específicamente, este mecanismo a partir de la alteración de la estructura química de un compuesto, en este caso los metales pesados, genera moléculas que son más solubles en agua (Pande et al., 2022), permitiendo que las actinobacterias metabolicen de manera más eficiente a los metales debido a la polaridad del producto de la reacción. Para llevar a cabo dichas transformaciones, las actinobacterias deberán recurrir a varias reacciones incluyendo, la producción de nuevos enlaces con carbono, metilación, desmetilación, hidrólisis, reacciones REDOX (reducción y oxidación) e incorporación de grupos funcionales (Pande et al., 2022). El objetivo final de las transformaciones se da para que la toxicidad disminuya y la bacteria pueda ser capaz de vivir sin afectar su actividad biológica o provocando daños en su estructura celular.

Continuando con las estrategias de resistencia de las actinobacterias, el siguiente mecanismo es, la secreción de exopolisacáridos (EPS). Aunque realmente su estudio es bastante definido en bacterias, su conocimiento y exploración es limitado en las actinobacterias. Estos biopolímeros con alto peso molecular se relacionan con varias funciones que ayudan al microorganismo, como son la adhesión al sustrato, resistencia a materiales exógenos tóxicos o dañinos para la célula y previenen la desecación. Además de estas funciones generales, la naturaleza aniónica les da la capacidad de inmovilizar iones metálicos de su matriz (Behera y Das, 2023). De igual manera, el rol de los EPS es absorber y quelar iones metálicos, reduciendo así la biodisponibilidad de los contaminantes en el entorno (Zhang et al., 2024), lo que potencia el primer mecanismo, biosorción, y enfatiza la importancia de los EPS en la biorremediación.

La capacidad de los expolisacáridos para actuar como agentes bioabsorbentes se fundamenta principalmente en su composición química. Los EPS están conformados por varios grupos funcionales importantes, como el grupo fosfato, carboxilo, fenol e hidroxilo, que poseen afinidad con los metales (Behera y Das, 2023). Por lo tanto, la presencia de los grupos funcionales ayuda a la formación de complejos superficiales y al intercambio iónico (Zhang et al., 2024). Es importante recalcar que la secreción de los expolisacáridos es sensible y eficaz para capturar a los iones de los metales pesados incluso en concentraciones bajas (Gupta y Diwan, 2016). Además, de la quelación de metales pesados que los expolisacáridos efectúan mediante los grupos funcionales en su estructura, las actinobacterias también producen sideróforos para la captación específica de hierro y de otros iones metálicos.

Los sideróforos son moléculas de bajo peso molecular y de alta afinidad que se unen a los iones de hierro. Aunque, recientemente, se ha ampliado el concepto de sideróforo a metalóforo, a fin de abarcar las interacciones con metales distintos del hierro (Canchignia et al., 2021). Cabe recalcar que, hay tres tipos de metalóforos: hidroxamatos, carboxilatos y catecolatos, mismos que se diferencian por los grupos funcionales que usan en el momento de la captura del ion (Behera y Das, 2023). Los sideróforos de tipo hidroxamatos son también llamados como desferrioxaminas (Cruz – Morales et al., 2017). Como tal, la síntesis de los metalóforos se da cuando hay deficiencia de hierro en el interior de la célula bacteriana y al ser el hierro un elemento esencial para su supervivencia, se busca alternativas que específicamente se dan a partir de péptidos sintetizados no ribosomales (NRPS) o por los sistemas mixtos NRPS sintetasa policétidas (NRPS-PK) (Serrano y Moreno, 2024).

Una vez sintetizados los sideróforos, son liberados al medio extracelular por transportadores específicos. En el medio exterior, los sideróforos se unen al hierro (Fe^{3+}), formando un complejo sideróforo - metal. Luego, dicho complejo es reconocido por las proteínas de superficie y transportado al citoplasma mediante un transportador específico de tipo ABC (Serrano y Moreno, 2024). Este tipo de transportador consta de 2 proteínas que son

las encargadas de, primero, actuar como permeasa para que la membrana bacteriana se separe, y segundo, brinda la energía para que los iones de hierro logren entrar al citoplasma mediante reductasas citoplasmáticas para reducir al hierro en ión ferroso (Fe^{2+}) (Serrano y Moreno, 2024), siendo la forma de hierro más biodisponible para los microorganismos.

Por lo tanto, los metalóforos confieren ventajas significativas a los microorganismos. Entre los beneficios se encuentra la liberación de iones metálicos de forma eficiente y conceder la entrada de aquellos que no pueden ingresar de forma intracelular, así como también la quelación o captura del hierro que está en su entorno, y sobrevivir a diferentes tipos de suelo y entornos (García - Portales, 2021), por lo que la producción de metalóforo es considerada una técnica de movilización por hacer que los metales pesados se vuelvan más disponibles para las actinobacterias (Behera y Das, 2023), siendo una característica crucial en los procesos de biorremediación.

5.2.2 FACTORES QUE INFLUYEN EN LOS MECANISMOS: CONCENTRACIÓN DE METALES, PH, TEMPERATURA, SALINIDAD

La capacidad que poseen las actinobacterias para resistir a un entorno con presencia de diferentes metales pesados, pueden ser moduladas por condiciones ambientales. Entre los factores a considerar se encuentran: la concentración de metales y duración del contacto, el pH del ambiente en el que la bacteria se encuentra, biomasa bacteriana, temperatura y la salinidad. A continuación, se procede a explicar cómo cada uno de los factores ambientales, influye en la respuesta a la resistencia de las actinobacterias.

El primer factor determinante en la eficiencia de mecanismos de resistencias es la cantidad de iones metálicos. A concentraciones bajas, hay una mayor biosorción porque hay una alta cantidad de iones metálicos que se pueden adherir a la superficie bacteriana y a sus sitios activos (Timková et al., 2018). Sin embargo, cuando hay una concentración bastante

elevada de metales pesados, la eficiencia de su remoción se ve comprometida. Esto sucede porque los sitios activos del bioadsorbente se colapsan y no hay una completa eliminación de los metales (Timková et al., 201), por lo que no hay suficientes sitios activos para tantos iones metálicos que están presentes. Esta saturación inicial conlleva a efectos negativos en el funcionamiento de los mecanismos de resistencia posteriores a la biosorción, afectando la actividad enzimática necesaria para la bioacumulación y biotransformación (Hamdan et al., 2021), e incluso empezaría a ser tóxica para la bacteria al tener niveles de metales muy altos.

Directamente relacionado con la eficiencia de la biosorción, el tiempo de contacto entre los iones metálicos y el microorganismo, aparece como otro parámetro crítico. La duración de contacto tiene que óptima, pero esta interacción no es universal porque va a depender no solo de la cepa de actinobacteria, sino también en relación del tipo de metal pesado (Karnwal, 2024). Se han reportado estudios que un primer contacto inicial adecuado entre el metal pesado y la superficie bacteriana resulta en una máxima remoción, con estudios en *Streptomyces spp.* Su tiempo de eliminación óptima del cobre oscila entre 1 y 3 horas para una concentración metálica inicial de 50 mg/L (Hamdan et al., 2021). No obstante, cuando la concentración inicial del metal supera los límites de tolerancia bacterianos, se requiere de un tiempo de contacto más extenso para alcanzar el equilibrio entre lo absorbido y capacidad máxima, tiene que ser superior (Karnwal, 2024). A pesar de este aumento con el tiempo de contacto, la tasa de adsorción disminuirá progresivamente, a medida que los sitios activos de la superficie bacteriana se saturen.

Más allá de la interacción física entre la célula bacteriana y los metales, las condiciones químicas del entorno juegan un papel esencial, siendo el pH un factor a ser tratado, enfatizando que el valor de pH óptimo es de 4 a 6 (Elnahas et al., 2021). Este factor desempeña un papel crucial al relacionarse con la actividad enzimática, el metabolismo celular y la carga de la superficie de las actinobacterias (Pande et al., 2022). En condiciones de un pH extremadamente ácido, las enzimas tienden a desnaturalizarse y perder su

estructura tridimensional (Bartee y Brook, 2016). En contraste, varios estudios han demostrado que la capacidad adecuada de adsorción de bacterias Gram positivas, incluyendo actinobacterias, experimenta una notable mejora en pH que se acercan más a la neutralidad (Ausuri et al., 2022). Puede deberse porque a valores neutros o ligeramente ácidos de pH hay un incremento en los grupos funcionales que se encuentran adheridos a la superficie celular bacteriana y eso hará que mayores cationes metálicos se unan mediante atracciones electrostáticas (Hamdan et al., 2021), un suceso que a menudo se relaciona con un incremento en su densidad celular (Ausuri et al., 2022). Precisamente, la cantidad de biomasa en un entorno contaminado es otra condición por considerar.

La biomasa microbiana, es decir la cantidad total de células bacterianas presentes en un determinado entorno, condiciona la cantidad de iones metálicos a bioacumular (Polti et al., 2019). Se ha evidenciado que una masa bacteriana adecuada para la remoción de cromo en campo es de al rededor 40 kg/Ha de suelo que está contaminado (Polti et al., 2019). Sin embargo, al igual que en la concentración inicial excesiva de metales puede saturar los sitios de unión, una elevada biomasa conlleva a la generación de efectos contraproducentes al interferir las células entre sí (Kumari et al., 2023). La interferencia se debe a las interacciones electrostáticas entre las mismas células y los grupos funcionales (Timková et al., 2018), reduciendo la cantidad de sitios disponibles para la unión con los iones metálicos. Además, el equilibrio en la biomasa de células microbianas, también se relaciona con la disponibilidad de nutrientes, un factor que también se asocia a la cantidad de exopolisacáridos secretados por la bacteria.

La secreción de exopolisacáridos al ser una estrategia para inmovilizar metales y brindar protección a las células, está directamente influenciada por la disponibilidad de nutrientes. Al haber mayor abundancia de nutrientes, habrá una mayor actividad metabólica que propicien la producción de EPS, mismas que se generan durante las fases de crecimiento exponencial (Kaur y Dey, 2023). En ese sentido, se ha demostrado que las diferentes fuentes

de carbono influyen drásticamente en la cantidad de EPS producidas por parte de las actinobacterias. Por ejemplo, estudios relacionados con *Streptomyces spp* han evidenciado que el almidón soluble se relaciona con una mayor cantidad de exopolisacáridos. Esto se debe, probablemente, a que las actinobacterias al requerir una gran cantidad de energía para la producción de EPS, metabolizan de forma más efectiva polímeros más largos con cadenas de carbohidratos ramificados (Elnahas et al., 2021). Además de la nutrición, las condiciones físicas del entorno tal como el pH y temperatura, también desempeña un rol significativo en este proceso.

La temperatura es otro factor que altera la estructura y función de las enzimas. Cuando el entorno no alcanza el rango de temperatura óptimo, alrededor de los 35°C, la actividad enzimática puede verse severamente comprometida (Elnahas et al., 2021). En ambientes hipersalinos o a elevadas temperaturas, las enzimas pueden ser desnaturalizadas, perdiendo su estructura tridimensional y a su vez funcionalidad. Por otro lado, a temperaturas extremadamente frías, estas biomoléculas ralentizan su actividad. Aunque las enzimas pueden seguir cumpliendo con sus funciones, lo hacen de forma más lenta porque la frecuencia de interacción entre la enzima y el sustrato disminuye (Bartee y Brook, 2016). Esta alteración en la actividad enzimática se debe a que la temperatura tiende a modificar las estructuras de las proteínas y también a los grupos funcionales que están adheridos a la superficie bacteriana (Fathollahi et al., 2020). Esto puede inferir posibles cambios en la pared celular de las bacterias, tanto en temperaturas extremas como en ambientes altamente salinos, impactando su capacidad interactuar con el entorno y su supervivencia.

Por tanto, la actividad enzimática, que involucra a la mayor parte de las funciones que realizan los mecanismos de las actinobacterias, requiere rangos óptimos de, temperatura y de sal porque de lo contrario a parámetros elevados entonces se perderá la estructura deseada de las enzimas, siendo su forma tridimensional la que garantiza su funcionalidad.

5.2.3 ASPECTOS BIOQUÍMICOS: ENZIMAS Y GENES INVOLUCRADOS EN LOS MECANISMOS

La actividad enzimática como se mencionó en el apartado anterior es de suma importancia en las actinobacterias y su relación con los mecanismos que posee. Entre las enzimas relacionadas con la quelación y degradación de metales pesados se encuentran las enzimas catalíticas, como son las enzimas superóxido dismutasa, oxidorreductasa, entre otras (Behera y Das, 2023).

La enzima superóxido dismutasa (SOD) se ha evidenciado en *Streptomyces seoulensis* y es una enzima que es dependiente del níquel, permitiendo la protección a la célula bacteriana de las especies reactivas de oxígeno, mejor conocidas como ROS (Behera y Das, 2023), esto se da porque en presencia de concentraciones elevadas de níquel (Ni) conlleva al estrés oxidativa de la bacteria y a su vez de ROS y en presencia de níquel éste actuará como un cofactor. De igual manera, la presencia del níquel en esta cepa es la encargada de regular el gen que codifica esta enzima (Behera y Das, 2023).

La SOD es la encargada de transformar los radicales superóxidos en oxígeno molecular y peróxido de hidrógeno que a su vez conlleva a que la catálisis de forma más rápida (Perry et al., 2009), es decir que la conversión de los radicales superóxidos se transforma en compuestos menos dañinos. Les facilita a las bacterias sobrevivir al estrés oxidativo por la presencia del metal. Sin embargo, cabe recalcar que las SOD no depende únicamente del níquel, pero en el caso de *Streptomyces seoulensis* si lo es.

Sin embargo, la regulación y expresión de las enzimas se ven condicionadas por la presencia de genes específicos. La enzima superóxido dismutasa está condicionada por la activación del gen *nur* y este actuará como un detector de iones de níquel y también controla a los genes *sod* de la enzima superóxido dismutasa (Behera y Das, 2023). El gen *sodN* está

presente comúnmente en varias actinobacterias y aquel gen codifica la NiSOD de forma autónoma o en conjunto con el superóxido dismutasa de hierro (FeSOD), superóxido dismutasa de manganeso (MnSOD) o superóxido dismutasa de cobre-zin (CuZnSOD). En el caso de *Streptomyces spp* alberga tanto a sodN y sodF pero se producen de manera antagónica para mitigar la toxicidad y en un entorno con contaminante al ión níquel, el gen *sodN* se activa y se une al *sodF* e inhibe su expresión y el microorganismo deja de producir FeSOD (Kim et al., 2013) e induce a la activación de *sodN*.

Además de la regulación mediada por el superóxido dismutasa, las actinobacterias emplean otras estrategias mediadas por los clústeres de genes biosintéticos. Los BGCs se relacionan con sistemas enzimáticos, como la síntesis de péptidos no ribosomales (NRPS) y de policétidos tipo 1 (PKS-I). Los clústeres PKS-I se encargan de sintetizar policétidos formados por unidades de acetilo acetato, butirato y propionato, mientras que los PKS-II sintetizan policétidos aromáticos (Singh y Dubey, 2018). Ambos generan metabolitos secundarios relacionados con su defensa y comunicación tal como compuestos antifúngicos, antibióticos, etc (Galeano – Villadero, 2022). Así como también, la biosíntesis de los sideróforos, por ejemplo, en *Nocardia mangyaensis*, se ha demostrado que algunas NRPS involucradas en la producción de metalóforos están reguladas por proteínas específicas como las proteínas reguladoras de captación de zinc (Zur) o represoras de níquel (NuR) (Khilyas et al., 2024).

Por otra parte, el grupo de enzimas oxidorreductasas participan activamente en las reacciones redox y a su vez en procesos de detoxificación de sustancias tóxicas (Legesse y Assefa, 2021), transformando o disminuyendo la toxicidad, en este caso de los metales pesados. Además, es un grupo de enzimas responsables de la mayor parte de supervivencia de bacterias extremófilas, algunas especies de actinobacterias. Las enzimas de este grupo son catalasas, oxidasas, oxigenasas, peroxidasas, deshidrogenasas y lacasas (Espina et al, 2021).

La importancia de dichas enzimas se magnifica en ambientes con co-contaminaciones, generalmente bajo la presencia paralela de metales pesados con algún otro contaminante como hidrocarburos o pesticidas (Zhang et al., 2020). En este contexto, las oxigenasas y peroxidasas son importantes no solo para mitigar el estrés oxidativo a la célula, sino también para dar paso a diferentes vías de degradación de hidrocarburos (Oliart et al., 2016). No obstante, la capacidad de detoxificación dual es un gasto energético bastante alto. A pesar de tener mecanismos como la captación intracelular y la eliminación de iones metálicos, éstos tienen un límite (Diep et al., 2018), y al superarlos la eficiencia de los sistemas enzimáticos disminuye, y consigo la supervivencia bacteriana.

En este caso la regulación de la detoxificación de metales pesados, que a su vez se relaciona con su detección están los genes *furA* y *catR*, sensor de hierro y peróxido respectivamente, dichos genes están también involucrados con la regulación de los genes de la catalasa (Behera y Das, 2023). Por tanto, se infiere que, en la enzima, catalasa, se vería regulado por la cantidad de peróxido de hidrógeno que se encuentre en el ambiente y al haber un aumento pues se induce un mecanismo de respuesta para proteger a la célula bacteriana. De igual manera, el gen *zur* está involucrado en la homeostasis y transporte del zinc (Behera y Das, 2023).

Todas las enzimas mencionadas con anterioridad participan en procesos redox, así como también en la biosíntesis de moléculas indispensables para que las actinobacterias puedan seguir viviendo. Por su parte, hay enzimas específicas para la creación de moléculas particulares como son las NRPS, que están relacionados con la biosíntesis de metalóforos en varios géneros bacterianos (Cruz – Morales et al., 2017), entre ellos las actinobacterias.

Los grupos de genes biosintéticos o BGCs en las actinobacterias son los encargados de la codificación de los metalóforos, los cuales, en su mayoría son de tipo hidroxamato (Cruz – Morales et al., 2017). Dichos BGCs no solo están relacionados con la producción de

metalóforos, sino también con la síntesis de compuestos bioactivos como los metabolitos secundarios (Vargas - Flórez, 2022). En este contexto, la propiedad de quelación se relaciona intrínsecamente con su capacidad de unirse a diferentes iones metálicos, lo que genera la disminución de estos. Adicionalmente, la capacidad de osmorregulación ayuda a las actinobacterias a resistir frente al estrés generado por los iones metálicos, permitiéndoles adaptarse y reaccionar rápidamente a cambios bruscos en las condiciones ambientales adversas para las bacterias.

5.2.4 METODOLOGÍAS EXPERIMENTALES

La identificación de actinobacterias capaces de sobrevivir en ambientes contaminados por metales pesados, es un paso crucial para comprender sus mecanismos y sus usos posteriores. Para lograrlo, se requiere abarcar varias metodologías que desempeñen diferentes funciones desde las más generales hasta las más específicas; entre ellas está el ensayo en placa de metalotolerancia, concentración mínima inhibitoria, espectrofotometría de absorción atómica, ensayo CAS y para complementar, análisis bioinformático. Un resumen de éstas se muestra en la Tabla 1.

La primera metodología, es evaluar la metalotolerancia de la bacteria, es decir hasta que concentración dicha cepa de actinobacteria puede aún crecer (Musani y Das, 2024). La técnica de ensayo en placa, ejemplificada en la Figura 3, brinda información cualitativa y comparativa (Dayma et al., 2024). Este ensayo es el más recurrente en la mayor parte de artículos científicos porque da una visión preliminar de las cepas que se puede seguir analizando para estudios posteriores. Si bien el ensayo en placa aporta un panorama general acerca de la tolerancia, la necesidad de valores más precisos conduce a la siguiente metodología, la determinación de concentración mínima inhibitoria (CMI).

Tabla 1. Comparación de metodologías experimentales para el estudio de mecanismos de resistencia a metales pesados en actinobacterias.

<i>Metodología</i>	Microdilución para concentración mínima inhibitoria	Ensayo en placa	Espectrofotometría de absorción atómica	Ensayo Chromo azurol S (CAS) modificado	Prueba de Arnov y Atkin	Secuenciación + bioinformática
<i>Información obtenida</i>	Mínima concentración de metal que inhibe el crecimiento.	Tolerancia a diferentes concentraciones del metal.	Metales pesados bioacumulados en la biomasa bacteriana.	Producción de metalóforos (quelación evidenciada por cambio de color).	Producción de sideróforos.	Genes asociados a metalóforos conocidos.
<i>Ventajas</i>	<ul style="list-style-type: none"> • Relativamente sencilla • Análisis cuantitativo • Costo bajo • Menor desperdicio de recursos 	<ul style="list-style-type: none"> • Prueba sencilla • Proporciona información preliminar útil para diseños experimentales posteriores 	<ul style="list-style-type: none"> • Análisis cuantitativo a niveles traza • Costo moderado 	<ul style="list-style-type: none"> • Rango amplio de iones metálicos capturados • Análisis cualitativo en agar y cuantitativo con espectrofotometría • Detección de metalóforos de diversas estructuras 	<ul style="list-style-type: none"> • Análisis cuantitativo • Diferencia tipos de sideróforos • Prueba rápida 	<ul style="list-style-type: none"> • Altamente confiable • No requiere ensayos en laboratorio, sólo extracción de ADN
<i>Limitaciones</i>	<ul style="list-style-type: none"> • Requiere instrumentación específica • Sólo indica resistencia, no el mecanismo 	<ul style="list-style-type: none"> • Resultados únicamente cualitativos • Riesgo de contaminación 	<ul style="list-style-type: none"> • Baja sensibilidad para algunos metales pesados. 	<ul style="list-style-type: none"> • Algunos reactivos son costosos y tóxicos • Sensible a variaciones mínimas de pH • Cada metal requiere modificaciones; el ensayo original es sólo para sideróforos 	<ul style="list-style-type: none"> • Riesgo de interferencias 	<ul style="list-style-type: none"> • Altamente costosa • Uso de equipos y software específicos • No es útil para estructuras nuevas
<i>Referencias</i>	Baz et al., 2015; Cimermanova et al., 2021; Hamdan et al., 2021	Alvarez et al., 2016; Dayma et al., 2024; Lladó - Fernández, 2012; Musani y Das, 2024; Abdelmonem et al., 2025	Vinod – Kumar et al., 2014	Ahmed, 2024; Anwar et al., 2016; Gomes et al., 2024; Himpel y Mobley, 2019; Hofman et al., 2021; Loudon et al., 2011; Retamal – Morales et al., 2018; Schwabe, 2022	Rehan et al., 2022	Kim et al., 2022; Rehan et al., 2022



Figura 3. Prueba de metalotolerancia mediante siembra en placa de metavanadato de amonio en 1000mg/L. Visualización de cuatro cepas de actinobacterias 7 días después de haber sido sembradas e incubadas a 28°C. El NH_4VO_3 inhibió el crecimiento de la cepa sembrada en la parte inferior. Imagen inédita.

La concentración mínima inhibitoria, se define como la mínima concentración de un compuesto, en este caso metales pesados, capaz de inhibir totalmente el crecimiento de los microorganismos después de un periodo de incubación (Cimermanova et al., 2021). Por lo tanto, esta metodología permite corroborar los resultados generados por los ensayos en placa y, a su vez disminuir el sesgo de error en la evaluación de tolerancia. Esta prueba cuantitativa puede ser realizada mediante macro o micro diluciones en tubos de ensayo o microplacas, respectivamente, siendo la elección dependiente de ciertos factores como el número de muestras (Donoso - Piñol, 2013), material y tiempo disponible. La cuantificación de la concentración mínima inhibitoria se basa en el análisis de crecimiento bacteriano, en relación con la turbidez del medio de cultivo (Baz et al., 2015), parámetro que brinda resultados precisos mediante un espectrofotómetro. Esta sería una metodología eficiente si es que se desea determinar únicamente la concentración tolerable del microorganismo. No obstante, si el estudio abarca a más mecanismos de resistencia, como la producción de metalóforos por parte de las actinobacterias, se debe recurrir a otros protocolos.

Se puede estudiar posibles cepas con capacidad de capturar iones metálicos del entorno a partir de biología molecular, específicamente la extracción del ADN para su posterior secuenciación del genoma, con la finalidad de encontrar regiones que codifican grupos de genes biosintéticos (BGCs). (Rehan et al., 2022). El ensamblaje del genoma y la visualización de la distribución de las regiones BGCs, son principalmente demostrados a partir de enfoques bioinformáticos (Kim et al., 2022), mediante programas específicos como, antiSMASH y GECCO, herramientas complementarias entre sí.

AntiSMASH es un software que permite detectar BGCs conocidos y vinculados a la producción de metabolitos como alcaloides, policétidos sintetizados ribosómicamente y aquellos modificados pos-traduccionalmente. Sin embargo, posee limitaciones en el momento de analizar conjunto de genes a gran escala y a su vez para la localización de nuevas regiones de BGCs (Lai et al., 2025). Por consiguiente, se puede emplear GECCO, una herramienta bioinformática que utiliza algoritmos de aprendizaje automáticos y favorece la detección de BGCs en actinobacterias (Yang, 2024). Es importante enfatizar que este programa, al incorporar machine learning permite detectar grupos de genes biosintéticos que no reconocidos por antiSMASH (Van Nassauw, 2023). Esto se debe a que antiSMASH detecta BGCs con estructuras ya definidas, mientras que GECCO analiza aquellas regiones genómicas en donde la técnica anterior no detectó nada, o bien, realiza una revisión más exhaustiva en las regiones que ambas técnicas han identificado. De esta forma, la posibilidad de encontrar BGCs relacionados con resistencia a metales pesados en actinobacterias, se potencia aún más a partir de un enfoque bioinformático.

De forma complementaria a las predicciones bioinformáticas, es importante determinar la capacidad experimental de quelación de metales pesados por parte de las actinobacterias mediante el ensayo del Cromo Azurol S, ampliamente conocido como ensayo CAS. Es importante destacar que el ensayo CAS modificado tiene la capacidad de detectar la quelación de una gama más amplia de iones metálicos, y no solo del hierro. Este ensayo

colorimétrico utiliza el cromo azurol S como un indicador, sumado del bromuro hexadeciltrimetilamonio (HDTMA) (Patel et al., 2018). Estos compuestos forman un complejo con el hierro férrico, u otros iones metálicos, generando una coloración azul en el medio. Cuando una actinobacteria es capaz de producir metalóforos y de esta forma remover el metal del complejo CAS/HDTMA, entonces se cambiará el color azul del medio sólido a naranja alrededor de la colonia (Louden et al., 2011). La formación del halo naranja evidencia una correlación directa entre la formación de los complejos de los metalóforos y los iones metálicos presentes, lo que generalmente conlleva a la investigación sobre la identidad estructural de los metalóforos.

En el caso que se desee determinar el tipo estructural del metalóforo, existen pruebas químicas, el ensayo de Arnow para la detección de metalóforos tipo catecol y el ensayo de Atkin para la detección de hidroxamatos. Lo ventajoso de estas pruebas es que además de diferenciar entre el tipo de metalóforo, también permite cuantificar la concentración de metalóforos capturados a partir de longitudes de onda determinadas (Rehan et al., 2022). Lo negativo de estas pruebas es únicamente la poca cantidad de revisiones bibliográficas, especialmente su aplicación en actinobacterias. Si bien, la cuantificación dada por estas técnicas es precisa, existen técnicas que cuantifican los iones metálicos capturados por las actinobacterias de forma general, sin diferenciación, como la espectrofotometría de absorción atómica.

La espectrofotometría de absorción atómica (AAS), es una técnica analítica avanzada que permite esclarecer los mecanismos de resistencia a través de la cuantificación precisa de los elementos que han sido acumulados por parte de las actinobacterias (Krüger et al, 2024). La AAS se considera una prueba cuantitativa porque analiza el sobrenadante del metal pesado junto con la actinobacteria inoculada, determinando la concentración del metal remanente mediante espectrofotometría (Vinod et al., 2014).

5.3 ESTRATEGIAS Y APLICACIONES BASADAS EN ACTINOBACTERIAS PARA MEJORAR LA REMEDIACIÓN DE CONTAMINANTES METÁLICOS

5.3.1 APLICACIONES DE ACTINOBACTERIAS EN LUGARES CONTAMINADOS POR METALES PESADOS

Las actinobacterias han sobresalido en el ámbito de la biorremediación, abarcando a varias aplicaciones como la bioaumentación, biodegradación, biosorción, producción de biosurfactantes y promoción de crecimiento vegetal. Es imprescindible, destacar que la efectividad de dichas aplicaciones se relaciona intrínsecamente con los mecanismos de resistencia y características propias de las actinobacterias. En particular, su importante capacidad de remoción de contaminantes inorgánicos, como los metales pesados, han recibido especial atención en el ámbito biotecnológico debido al potencial para desarrollar soluciones sostenibles para la descontaminación ambiental (Álvarez et al., 2017). Al momento de abordar las siguientes aplicaciones, es importante recordar que cada una se sustenta en la interacción de las actinobacterias con los iones metálicos, ya sea mediante mecanismos de internalización, modificación o inmovilización de los contaminantes.

El área de la biorremediación abarca la empleabilidad de microorganismos, plantas e incluso de sus enzimas que tengan la capacidad de disminuir o eliminar sustancias nocivas. Dentro de este amplio espectro, la bioaumentación se define como una técnica específica de biorremediación en donde se añade un inóculo de microorganismo con ciertas propiedades al área afectada (Hassan et al., 2019). Generalmente, la técnica de bioaumentación se considera cuando posterior a la realización de un recuento en placa de microorganismos, su número de microorganismos autóctonos con la capacidad de degradar contaminantes es insuficiente (Mawang et al., 2021). En consecuencia, las cepas seleccionadas para la bioaumentación no obligatoriamente tienen que ser propias del mismo lugar de donde se

recolectó la muestra, pero es crucial priorizar la capacidad de supervivencia de los microorganismos seleccionados en un entorno contaminado.

En la selección de cepas en la bioaumentación, se hace énfasis en aquellas que demuestran una gran capacidad de degradación y tolerancia a hidrocarburos, facilidad de cultivo de las cepas bacterianas, crecimiento rápido, supervivencia a variadas condiciones ambientales y una interacción adecuada con los microorganismos indígenas e introducidos (Mawang et al., 2021). Esta última característica señala la importancia del sinergismo microbiano, donde la colaboración entre microorganismos asegura la remoción de metales pesados. El entendimiento de estos criterios de preselección es crucial para relacionar las cepas de actinobacterias con las aplicaciones existentes. Aunque esta aplicación en específico conlleva avances biotecnológicos importantes, aún se presentan limitaciones.

A pesar de su potencial, la bioaumentación en actinobacterias no es un tema estudiado a profundidad, lo que limita el número de cepas bien caracterizadas para esta aplicación. Sin embargo, entre las cepas más estudiadas se encuentran *Streptomyces spp*, *Amycolaptosis tucumensis* y *Rhodococcus spp*, con capacidad de degradar a partir de bioaumentación el cromo y cadmio, *A.tucumensis* para el cobre y *Rhodococcus spp* para plomo, cobre y cadmio (Mawang et al., 2021). Estos hallazgos iniciales sugieren una conexión propia entre actinobacterias y la biorremediación. Más aun, investigaciones recientes han potenciado el uso de bioaumentación a partir de la combinación de diferentes especies y cepas de actinobacteria, como *Streptomyces sp. M7*, *Streptomyces sp. MC1*, *Streptomyces sp A5* y *A. tucumensis*, su conjunto eliminó con una eficacia del 86% al cromo hexavalente en suelos contaminados (Kurniawan et al., 2022). Este avance significativo subraya el valor de explorar consorcios microbianos para optimizar aplicaciones, mismo que permite considerar otras estrategias de biorremediación donde la capacidad degradativa de este grupo de microorganismos juega un rol influyente.

La biodegradación representa otra aplicación fundamental, que al igual que las técnicas anteriores, implica el uso de microorganismos solos o junto con material vegetal que contribuye a la disminución de los metales pesados en zonas determinadas (Castebianco, 2018). En el caso de las actinobacterias, numerosos estudios han contribuido para corroborar su eficiencia para degradar, no solo metales pesados e hidrocarburos, sino también pesticidas y xenobióticos (Behera y Das, 2023). Esta versatilidad ha convertido a la biodegradación realizada por actinobacterias, en un área de investigación exhaustiva, con varias cepas identificadas para esta función siendo *Streptomyces spp*, *Nocardia spp* y *Rhodococcus spp* (Behera y Das, 2023), algunas de las cepas más representativas. La extensa cantidad de sustratos que pueden degradar las actinobacterias, resalta su potencial para abordar sitios con contaminantes mixtos, mismos que son facilitados por la posible movilización o inmovilización de metales pesados, como los biosurfactantes.

Una aplicación con la misma importancia que las mencionadas con anterioridad, es la producción de biosurfactantes, misma que consiste en compuestos tensoactivos. Esta aplicación es generada a partir de células vivas, en este contexto microorganismos, y se relacionan con la emulsificación de contaminantes, esto se debe por su gran capacidad de biodegradabilidad, riesgo reducido de toxicidad, compuesto estable a largo plazo y lo más importante es que su funcionalidad no se ve alterada pese a condiciones ambientales extremas (Bjerk et al., 2021). Por estas propiedades, la producción de biosurfactantes es una estrategia ideal en la eliminación y limpieza de contaminantes metálicos en diferentes entornos, siendo una aplicación que incluye a varias cepas de diferentes clases del filo.

Entre las cepas relacionadas con esta aplicación están: *Microbacterium spp*, *Nocardia otitidiscaviarum*, *Nocardiosis alba* y *Kocuria rosea* (Del Carmen Lara – Severino et al., 2017). Adicionalmente, la cepa *Streptomyces sp* aislada del Río Salí en Argentina, tiene alta resistencia a metales pesados, pues a pesar de que el Río haya estado contaminado con cadmio, dicha cepa sobrevivió. Su capacidad de resistencia fue medida mediante el método

de difusión en agar y se visualizó una zona de inhibición de 10mm frente al metal (Kannabiran, 2010). Esta interacción, donde la bacteria mitiga de cierta forma al metal sin afectar su crecimiento, da paso a la biosorción.

La biosorción, además de ser un mecanismo de resistencia como tal, es considerada una aplicación porque desde un punto de vista físico - químico, la biosorción es más ecológicamente sostenible y altamente económica (Presentato et al., 2020). La alta afinidad hacia los iones metálicos que poseen las actinobacterias, les permite ser considerados en procesos de biorremediación (Polti et al., 2014). Un ejemplo es *A. tucumensis* DSM 45259, cuya capacidad de biosorción de cobre es notable, almacenándolo extracelularmente hasta un 40%, una peculiaridad que ha sido confirmada a partir de técnicas como la del reactivo de Timm (Polti et al., 2014).

Finalmente, un factor de las actinobacterias relacionadas en cierta forma con las plantas es la liberación de hormonas vegetales, que promueven el crecimiento vegetal, siendo una aplicación que va más allá de la acción sobre metales pesados. En ambientes altamente tóxicos la liberación de fitohormonas como el ácido indolacético, giberelinas, citoquinas y auxinas (Singh y Dubey, 2018), ayudan a las plantas a establecerse y crecer pese a que el ambiente no es favorecedor. Promover el crecimiento vegetal es una estrategia complementaria a la fitorremediación, a partir de productos resultado del metabolismo de las actinobacterias, como los metabolitos.

Las actinobacterias liberan metabolitos secundarios, como los metalóforos, que ayudan a las plantas a absorber los metales del suelo para su crecimiento como son zinc y cadmio (Singh y Dubey, 2018). Las actinobacterias al tener la capacidad de convertir compuestos que son insolubles en solubles, brinda beneficios a las plantas porque dichos compuestos ya son biodisponibles para las plantas. Tal es el caso de *Rhodococcus spp* que, en estudios experimentales, ha demostrado un incremento en la eficiencia de fitorremediación

a partir de suelos contaminado por metales pesados, misma que fue obtenida de las raíces de la planta *Brassica juncea*. Evidenciando que, *Rhodococcus spp* estimuló el crecimiento radicular (Khatoon et al., 2024).

5.3.2 LIMITACIONES EN EL USO DE ACTINOBACTERIAS COMO BIORREMEDIADORES

A pesar del prometedor potencial de las aplicaciones biotecnológicas en actinobacterias, es imperativo reconocer que su implementación enfrenta algunas adversidades que restringen su potencial. Entre las primeras barreras que delimitan el uso de las actinobacterias, radica en el contraste entre la eficiencia en la eliminación de metales pesados *in vitro* e *in vivo*. Lo anteriormente señalado, ha sido demostrado a partir de investigaciones en donde, al probar con actinobacterias en medios líquidos se ha logrado obtener hasta un 94% de quelación de cromo. Sin embargo, en los ensayos que fueron realizados en campo el porcentaje de eliminación disminuyó al 50% (Mawang et al., 2021). Esta evidente disminución de la eficiencia enfatiza la influencia de las condiciones que no pueden ser controladas en laboratorio, como son las condiciones ambientales (Beltrán y Gómez, 2015).

La divergencia en términos de eficiencia, entre el laboratorio y el campo se debe, en parte a las condiciones de simulación. Los estudios *in vitro* son realizados a partir de suelo contaminado cuyas condiciones son específicas, inspeccionadas y controladas. Además, la distribución y segregación del contaminante metálico no refleja la dificultad de una contaminación real (Kurniawan et al., 2022). Por tanto, el porcentaje de diferencia se asocia a la falta de representatividad en condiciones de escala de laboratorios, mismo que conlleva a errores y sobrevaloraciones de las aplicaciones, como es el caso de la bioaumentación en escenarios reales. La simplificación de las variables ambientales y la evidente complejidad de

una contaminación en un escenario real es un factor que también influye en la percepción necesaria del tiempo para alcanzar una remediación efectiva en un tiempo determinado.

Por tanto, otro factor limitante es el tiempo requerido para que los microorganismos cumplan con su función. Haciendo hincapié que, los niveles de limpieza y a su vez de remoción de contaminantes deben estar en un rango aceptable bajo determinadas normativas (Lladó - Fernández, 2012). Las actinobacterias tienen una velocidad relativamente lenta para degradar o realizar quelación de los iones metálicos (Meenakshi et al., 2024), y esta velocidad puede inclusive aminorar conforme pasa el tiempo a medida que los nutrientes indispensables para su crecimiento microbiano se agotan (Lladó - Fernández, 2012). La variabilidad con relación al tiempo de acción no es la única consideración, ya que la propiedad intrínseca de las actinobacterias para relacionarse con diferentes contaminantes metálicos también presenta limitaciones representativas.

Además de las limitaciones generales por parte de las aplicaciones, es imprescindible considerar la variabilidad de resistencia en diferentes cepas bacterianas (Behera y Das, 2023). No todas las cepas pueden tolerar o eliminar metales pesados en la misma concentración, a incluso cepas de la misma especie pueden diferir. Siendo el caso de *S. thermovulgaris* y *S. thermotolerans*, el más claro porque en base a revisión bibliográfica, *S. thermotolerans* es la cepa menos resistente a altas concentraciones de níquel, mientras que *S. thermovulgaris* es la cepa más resistente. De igual manera, al realizarse un estudio de bioadsorción competitiva se determinó que *Streptomyces spp* no lograba adsorber zinc y cadmio eficientemente en presencia de otro ion metálico, en este caso fue el cobre (Timková et al., 2018). Dicha investigación, da lugar a que la interacción con los metales pesados está estrechamente relacionada con mecanismos que son propios de cada cepa, por lo que su variación entre especies es algo esperado.

Finalmente, la capacidad de las actinobacterias puede estar delimitada por la producción de metalóforos. Un estudio, en donde se analizaron cepas aisladas de muestras de suelo de un lugar de Alemania se demostró mediante HPLC que *G. rubripertincta* es la cepa que menor cantidad de metalóforos produce (Schwabe, 2022). Por tanto, la variabilidad en la producción de metalóforos, enfatiza la influencia de la caracterización genética porque generalizar a las actinobacterias también puede limitar su escalabilidad en el momento de demostrar su eficacia en pruebas *in vivo*.

6. CONCLUSIONES

1. Se logró recopilar los mecanismos de resistencia en actinobacterias como biosorción, bioacumulación, biotransformación, secreción de EPS y metalóforos. El conocimiento de los fundamentos de dichos mecanismos esclarece la diversidad de respuestas adaptativas frente a metales pesados por parte de las actinobacterias. Enfatizando que, cada uno de estos procesos se interconectan entre sí, desde la adhesión superficial de los iones metálicos hasta la internalización de los contaminantes, por lo que tienen un papel clave en la supervivencia bacteriana frente al estrés ambiental.
2. La eficiencia de los mecanismos de resistencia no es constante porque depende de factores ambientales como concentraciones de metales pesados y biomasa microbiana, pH, temperatura y salinidad del medio. A nivel bioquímico, los mecanismos también se regulan por enzimas como superóxido dismutasas y a su vez con la activación de genes que responden a diferentes tipos de estrés, como el estrés metálico asegurando una adecuada homeostasis celular y a su vez la supervivencia en un entorno contaminado. Por tanto, la interrelación de los factores ambientales mencionados con la fisiología de las actinobacterias, reflejan que la biorremediación es un proceso ecológico dinámico.
3. La investigación de metalotolerancia se puede realizar experimentalmente con varias metodologías de laboratorio, cuya selección está relacionada con los objetivos propios del estudio. Para un análisis primario y cualitativo de la metalotolerancia, el ensayo en placa es la herramienta más usada. Cuando se necesita conocer la concentración del metal con capacidad de inhibir el crecimiento total de las actinobacterias, se plantea el uso de concentración mínima inhibitoria (CMI) en microdiluciones.
4. En el ámbito de la evaluación de síntesis de metalóforos se emplean metodologías complementarias la una con la otra. En términos de análisis predictivo se emplea el uso de bioinformática, a partir de las regiones que codifican grupos biosintéticos (BGCs), mediante técnicas complementarias entre sí como antiSMASH y GECCO que predicen la presencia o ausencia de genes relacionados con la capacidad de quelación de metales

pesados. Las metodologías de laboratorio a ser usadas, depende netamente del objetivo de los experimentos, ensayos en placa para análisis primario y concentración mínima inhibitoria para cuantificación precisa de tolerancia. Experimentalmente el ensayo Cromo Azurol S (CAS) modificado, ofrece una demostración experimental de quelación de metales pesados, al observar cambio de coloración del medio de cultivo de azul a naranja. Finalmente, para la cuantificación de iones metálicos internalizados a partir del sobrenadante se hace uso de espectrofotometría de absorción atómica.

5. Existen investigaciones experimentales que demuestran que las actinobacterias, al ser un grupo bacteriano ubicuo y por sus mecanismos de resistencia, tienen un vasto potencial en biorremediación, con aplicaciones probadas directamente en bioaumentación, biodegradación, biosorción y producción de biosurfactantes. La eficacia de las actinobacterias en campo se ve limitada por la discrepancia entre los resultados de eficacia *in vitro* e *in vivo*. Por tanto, la evidencia actual indica que para maximizar la aplicación de las actinobacterias en la biorremediación, es indispensable hacer uso de actinobacterias con diferentes consorcios microbianos.

7. RECOMENDACIONES

Para futuros estudios bibliográficos se recomienda lo siguiente:

- Explorar con mayor profundidad la sinergia entre biorremediación por actinobacterias y fitorremediación, para comprender la forma en la que las actinobacterias interactúan con las plantas para potenciar la eliminación de contaminantes metálicos.
- Identificar y analizar factores que reducen la eficiencia de la biorremediación *in vitro* versus la realizada *in vivo*.
- Realizar un estudio de las comunidades microbianas con potencial sinérgico con las actinobacterias para potenciar la biorremediación *in vivo*.

8. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Abdelmonem, B. H., Kamal, L. T., Elbaz, R. M., Khalifa, M. R. y Abdelnaser, A. (2025). From contamination to detection: The growing threat of heavy metals. *Heliyon*, 11(1), e41713. <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2025.e41713>
- Aguirre - Cortés, E. (2022). *La minería y los metales pesados: una relación tóxica para la salud*. La Jornada. Recuperado de <https://www.jornada.com.mx/2022/10/15/delcampo/articulos/mineria-metales-pesados.html#:~:text=Los%20efectos%20de%20la%20miner%C3%ADa,pesados%20C%20sustancias%20t%C3%B3xicas%20y%20carb%C3%B3n.>
- Ahmed, M. (2024). *Bacterial Metallophores as Potential Agents in Heavy Metal Bioremediation* (Tesis de doctorado, Universidad de Mississippi). Repositorio Institucional – Universidad de Mississippi. <https://egrove.olemiss.edu/cgi/viewcontent.cgi?article=4048&context=etd>
- Alam, K., Mazumder, A., Sikdar, S., Zhao, Y., Hao, J., Song, C., Wang, Y., Sarkar, R., Islam, S., Zhang, Y. y Li, A. (2022). Streptomyces: The biofactory of secondary metabolites. *Frontiers in Microbiology*, 13. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2022.968053>
- Ali, M. M., Hossain, D., Al-Imran, N., Khan, M. S., Begum, M. y Osman, M. H. (2021). Environmental Pollution with Heavy Metals: A Public Health Concern. *In IntechOpen eBooks*. <https://doi.org/10.5772/intechopen.96805>
- Alvarez, A., Saez, J. M., Costa, J. S. D., Colin, V. L., Fuentes, M. S., Cuozzo, S. A., Benimeli, C. S., Polti, M. A. y Amoroso, M. J. (2016). Actinobacteria: Current research and perspectives for bioremediation of pesticides and heavy metals. *Chemosphere*, 166, 41–62. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2016.09.070>
- Anwar, S., Ali, B. y Sajid, I. (2016). Screening of rhizospheric actinomycetes for various in-vitro and in-vivo plant growth promoting (PGP) traits and for agroactive compounds. *Frontiers in Microbiology*, 7. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2016.01334>

- Arroyo, F. A., Siering, P. L., Hampton, J. S., McCartney, A., Hurst, M. P., Wolfe, G. V. y Wilson, M. S. (2014). Isolation and Characterization of Novel Iron-Oxidizing Autotrophic and Mixotrophic Bacteria from Boiling Springs Lake, an Oligotrophic, Acidic Geothermal Habitat. *Geomicrobiology Journal*, 32(2), 140–157. <https://doi.org/10.1080/01490451.2014.935533>
- Ausuri, J., Dell'Anno, F., Vitale, G. A., Esposito, F. P., Funari, V., Franci, G., Galdiero, M., Della Sala, G., Tedesco, P., Coppola, D. y De Pascale, D. (2022). Bioremediation of Multiple Heavy Metals Mediated by Antarctic Marine Isolated *Dietzia psychralcaliphila* J11D. *Journal of Marine Science and Engineering*, 10(11), 1669. <https://doi.org/10.3390/jmse10111669>
- Bai, L., Paek, J., Shin, Y., Kim, H., Kim, S. H., Shin, J. H., Kook, J. y Chang, Y. (2024). Description of an anaerobic actinobacterium, *Kribbibacterium absianum* gen. nov., sp. nov., a new member of the novel family Kribbibacteriaceae fam. nov., and reclassification of the genera *Granulimonas* and *Leptogranulimonas*. *International journal of systematic and evolutionary microbiology*, 74(5). <https://doi.org/10.1099/ijsem.0.006382>
- Barka, E. A., Vatsa, P., Sanchez, L., Gaveau-Vaillant, N., Jacquard, C., Klenk, H., Clément, C., Ouhdouch, Y. y Van Wezel, G. P. (2016). Taxonomy, physiology, and natural products of actinobacteria. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*, 80(1), 1–43. <https://doi.org/10.1128/mnbr.00019-15>
- Bartee, L. y Brook, J. (2016). *Changes in enzyme activity*. Pressbooks. <https://openoregon.pressbooks.pub/mhccbiology112/chapter/changes-in-enzyme-activity/#:~:text=Both%20acidic%20and%20basic%20pH,structure%20of%20the%20protein%20to>
- Baz, S. E., Baz, M., Barakate, M., Hassani, L., Gharmali, A. E. y Imziln, B. (2015). Resistance to and Accumulation of Heavy Metals by Actinobacteria Isolated from Abandoned Mining Areas. *The Scientific World Journal*, 2015(1). <https://doi.org/10.1155/2015/761834>

- Beltrán, M. y Gómez, A. (2015). Metales pesados (Cd, Cr y Hg): su impacto en el ambiente y posibles estrategias biotecnológicas para su remediación. *Revista I3+*, 2(2), 82 – 112. <https://doi.org/10.24267/23462329.113>
- Bentel, M. J., Yu, Y., Xu, L., Li, Z., Wong, B. M., Men, Y. y Liu, J. (2019). Defluorination of Per- and Polyfluoroalkyl Substances (PFASs) with Hydrated Electrons: Structural Dependence and Implications to PFAS Remediation and Management. *Environmental Science & Technology*, 53(7), 3718–3728. <https://doi.org/10.1021/acs.est.8b06648>
- Behera, S. y Das, S. (2023). Potential and prospects of Actinobacteria in the bioremediation of environmental pollutants: Cellular mechanisms and genetic regulations. *Microbiological Research*, 273, 127399. <https://doi.org/10.1016/j.micres.2023.127399>
- Briffa, J., Sinagra, E. y Blundell, R. (2020). Heavy metal pollution in the environment and their toxicological effects on humans. *Heliyon*, 6(9), e04691. <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2020.e04691>
- Carranza - Hernández, X. (2017). *La bioprospección de microorganismos en Colombia como uso sostenible a la biodiversidad* (Tesis de maestría, Universidad Militar Nueva Granada). Repositorio Institucional – Universidad Militar Nueva Granada. <https://repository.umng.edu.co/server/api/core/bitstreams/f11f2eed-f80e-4c47-ad51-6eb1d9e2c656/content>
- Canchignia, F., Auhing, J., Cedeño, Á., Carrillo, M. y Bravo, D. (2021). *Guía 12: Mitigación de cadmio por microorganismos. Caja de herramientas para la prevención y mitigación de la contaminación de cadmio en la cadena de cacao-Ecuador* (1.ª ed., pp. 1-32). Quito, Ecuador. https://cefaecuador.org/wp-https://balcon.mag.gob.ec/mag01/magapaldia/Caja%20de%20Herramientas_Cadmio_Cacao/Guia_12.pdf
- Chalen – Santos, W.S. (2021). *Evaluación de la bioacumulación de metales pesados en bivalvos en provincias costeras del Ecuador por medio de recopilación bibliográfica* (Tesis de grado, Universidad Estatal Península de Santa Elena). Repositorio Institucional – Universidad Estatal Península de Santa Elena.

- Claverías, F. P., Undabarrena, A., González, M., Seeger, M. y Cámara, B. (2015). Culturable diversity and antimicrobial activity of Actinobacteria from marine sediments in Valparaíso bay, Chile. *Frontiers in Microbiology*, 6. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2015.00737>
- Cimermanova, M., Pristas, P. y Píknova, M. (2021). Biodiversity of Actinomycetes from Heavy Metal Contaminated Technosols. *Microorganisms*, 9(8), 1635. <https://doi.org/10.3390/microorganisms9081635>
- Covarrubias, S. A. y Cabriales, J. P. (2017). Contaminación ambiental por metales pesados en México: Problemáticas y estrategias de fitorremediación. *Revista Internacional de Contaminación Ambiental*, 33(esp01), 7-21. <https://doi.org/10.20937/rica.2017.33.esp01.01>
- Cruz-Morales, P., Ramos-Aboites, H. E., Licon-Cassani, C., Selem-Mójica, N., Mejía-Ponce, P. M., Souza-Saldívar, V. y Barona-Gómez, F. (2017). Actinobacteria phylogenomics, selective isolation from an iron oligotrophic environment and siderophore functional characterization, unveil new desferrioxamine traits. *FEMS Microbiology Ecology*, 93(9). <https://doi.org/10.1093/femsec/fix086>
- Dagdag, O., Quadri, T. W., Haldhar, R., Kim, S., Daoudi, W., Berdimurodov, E., Akpan, E. D. y Ebenso, E. E. (2023). An overview of heavy metal pollution and control. In *ACS symposium series* (pp. 3–24). <https://doi.org/10.1021/bk-2023-1456.ch001>
- Darwin, K. H. (2015). Mycobacterium tuberculosis and Copper: A Newly Appreciated Defense against an Old Foe? *Journal of Biological Chemistry*, 290(31), 18962–18966. <https://doi.org/10.1074/jbc.r115.640193>
- Dayma, P., Choudhary, N., Ali, D., Alarifi, S., Dudhagara, P., Luhana, K., Yadav, V. K., Patel, A. y Patel, R. (2024). Exploring the Potential of Halotolerant Actinomycetes from Rann of Kutch, India: A Study on the Synthesis, Characterization, and Biomedical Applications of Silver Nanoparticles. *Pharmaceuticals*, 17(6), 743. <https://doi.org/10.3390/ph17060743>

- Derco, J. y Vrana, B. (2018). Introductory chapter: Biosorption. In *Biosorption*. InTech eBooks.
<https://doi.org/10.5772/intechopen.78961>
- Diep, P., Mahadevan, R. y Yakunin, A. F. (2018). Heavy metal removal by bioaccumulation using genetically engineered microorganisms. *Frontiers in Bioengineering and Biotechnology*, 6. <https://doi.org/10.3389/fbioe.2018.00157>
- Donoso - Piñol, P. (2013). *Bacterias resistentes a cobre y arsénico aisladas de la zona de Puchuncavi* (Tesis de grado – Universidad de Valparaíso). Repositorio Institucional – Universidad de Valparaíso.
<https://repositoriobibliotecas.uv.cl/serveruv/api/core/bitstreams/e0076278-2dce-4b46-b5ca-292d3008b55c/content>
- Duangupama, T., Pratuangdejkul, J., Chongruchiroj, S., Pittayakhajonwut, P., Intaraudom, C., Tadtong, S., Nunthanavanit, P., Samee, W., He, Y., Tanasupawat, S. y Thawai, C. (2023). New insights into the neuroprotective and beta-secretase1 inhibitor profiles of tirandamycin B isolated from a newly found *Streptomyces composti* sp. nov. *Scientific Reports*, 13(1). <https://doi.org/10.1038/s41598-023-32043-3>
- Elnahas, M. O., Hou, L., Wall, J. D. y Majumder, E. L. (2021). Bioremediation Potential of *Streptomyces* sp. MOE6 for Toxic Metals and Oil. *Polysaccharides*, 2(1), 47–68.
<https://doi.org/10.3390/polysaccharides2010004>
- Emenike, C., Jayanthi, B., Agamuthu, P. y Fauziah, S. (2018). Biotransformation and removal of heavy metals: a review of phytoremediation and microbial remediation assessment on contaminated soil. *Environmental Reviews*, 26(2), 156–168.
<https://doi.org/10.1139/er-2017-0045>
- Espina, G., Atalah, J. y Blamey, J. M. (2021). Extremophilic Oxidoreductases for the Industry: Five successful examples with promising projections. *Frontiers in Bioengineering and Biotechnology*, 9. <https://doi.org/10.3389/fbioe.2021.710035>
- Fathollahi, A., Khasteganan, N., Coupe, S. J. y Newman, A. P. (2020). A meta-analysis of metal biosorption by suspended bacteria from three phyla. *Chemosphere*, 268, 129290. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2020.129290>

- Galeano – Villadero, R.F. (2022). *Sistemas biosintéticos NRPS y PKS en actinobacterias*. (Tesis de grado, Universidad Autónoma Metropolitana Xochimilco). Repositorio Institucional - Universidad Autónoma Metropolitana Xochimilco. <https://repositorio.xoc.uam.mx/jspui/retrieve/2dce96de-001b-4c0f-803e-2f6648bd193a/250445.pdf>
- García - Portales, J. M. (2021). *Caracterización de Actinobacterias de zonas áridas y su efecto promotor de crecimiento en Arabidopsis thaliana y Zea mays* (Tesis de maestría, Universidad Autónoma de San Luis Potosí). Repositorio Institucional – Universidad Autónoma de San Luis Potosí. <https://repositorioinstitucional.uaslp.mx/xmlui/handle/i/7473>
- Gomes, A., Sousa, E. y Resende, D. I. S. P. (2024). A practical toolkit for the detection, isolation, quantification, and characterization of siderophores and metallophores in microorganisms. *ACS Omega*, 9(25), 26863–26877. <https://doi.org/10.1021/acsomega.4c03042>
- González - Nava. (2021). *Detección de sistemas biosintéticos implicados en la producción de metabolitos secundarios en actinobacterias de origen clínico* (Tesis de doctorado, Universidad Autónoma del Estado de México). Repositorio Institucional – Universidad Autónoma del Estado de México. <http://hdl.handle.net/20.500.11799/112601>
- Gupta, P. y Diwan, B. (2016). Bacterial Exopolysaccharide mediated heavy metal removal: A Review on biosynthesis, mechanism and remediation strategies. *Biotechnology Reports*, 13, 58–71. <https://doi.org/10.1016/j.btre.2016.12.006>
- Hamdan, A. M., Abd-El-Mageed, H. y Ghanem, N. (2021). Biological treatment of hazardous heavy metals by *Streptomyces rochei* ANH for sustainable water management in agriculture. *Scientific Reports*, 11(1). <https://doi.org/10.1038/s41598-021-88843-y>
- Himpsl, S. D. y Mobley, H. L. T. (2019). Siderophore detection using Chrome Azurol S and Cross-Feeding assays. *Methods in Molecular Biology*, 97–108. https://doi.org/10.1007/978-1-4939-9601-8_10

- Iino, T., Wang, Y., Miyauchi, K., Kasai, D., Masai, E., Fujii, T., Ogawa, N. y Fukuda, M. (2012). Specific Gene Responses of *Rhodococcus jostii* RHA1 during Growth in Soil. *Applied and Environmental Microbiology*, 78(19), 6954–6962. <https://doi.org/10.1128/aem.00164-12>
- Jaffé, P. R., Huang, S., Park, J., Ruiz-Urigüen, M., Shuai, W. y Sima, M. (2024). Defluorination of PFAS by *Acidimicrobium* sp. strain A6 and potential applications for remediation. *Methods in Enzymology on CD-ROM/Methods in Enzymology*, 287–320. <https://doi.org/10.1016/bs.mie.2024.01.013>
- Karnwal, A. (2024). Unveiling the promise of biosorption for heavy metal removal from water sources. *Desalination and Water Treatment*, 319, 100523. <https://doi.org/10.1016/j.dwt.2024.100523>
- Kaur, N. y Dey, P. (2022). Bacterial exopolysaccharides as emerging bioactive macromolecules: from fundamentals to applications. *Research in Microbiology*, 174(4), 104024. <https://doi.org/10.1016/j.resmic.2022.104024>
- Kondakindi, V. R., Pabbati, R., Erukulla, P., Maddela, N. R. y Prasad, R. (2024). Bioremediation of heavy metals-contaminated sites by microbial extracellular polymeric substances – A critical view. *Environmental Chemistry and Ecotoxicology*, 6, 408–421. <https://doi.org/10.1016/j.enceco.2024.05.002>
- Kim, D., Hong, S., Yang, Y., Choi, J. y Park, J. (2022). Chemical and genomic analyses of a marine-derived *Streptomyces* sp. V17-9 producing amino acid derivatives and siderophores. *Frontiers in Marine Science*, 9. <https://doi.org/10.3389/fmars.2022.959690>
- Kim, H. M., Shin, J., Cho, Y. y Roe, J. (2013). Inverse regulation of Fe- and Ni-containing SOD genes by a Fur family regulator Nur through small RNA processed from 3'UTR of the *sodF* mRNA. *Nucleic Acids Research*, 42(3), 2003–2014. <https://doi.org/10.1093/nar/gkt1071>
- Kirby, R. (2011). Chromosome diversity and similarity within the Actinomycetales. *FEMS Microbiology Letters*, 319(1), 1–10. <https://doi.org/10.1111/j.1574-6968.2011.02242.x>

- Khilyas, I. V., Markelova, M. I., Valeeva, L. R., Ivoilova, T. M., Shagimardanova, E., Laikov, A. V., Elistratova, A. A., Berkutova, E. S., Lochnit, G. y Sharipova, M. R. (2024). Genomic insights and anti-phytopathogenic potential of siderophore metabolome of endolithic *Nocardia mangyaensis* NH1. *Scientific Reports*, 14(1). <https://doi.org/10.1038/s41598-024-54095-9>
- Kouřilová, X., Schwarzerová, J., Pernicová, I., Sedlář, K., Mrázová, K., Krzyžánek, V., Nebesářová, J. y Obruča, S. (2021). The First Insight into Polyhydroxyalkanoates Accumulation in Multi-Extremophilic *Rubrobacter xylanophilus* and *Rubrobacter spartanus*. *Microorganisms*, 9(5), 909. <https://doi.org/10.3390/microorganisms9050909>
- Kumari, S., Agrawal, N. K., Agarwal, A., Kumar, A., Malik, N., Goyal, D., Rajput, V. D., Minkina, T., Sharma, P. y Garg, M. C. (2023). A Prominent *Streptomyces* sp. Biomass-Based Biosorption of Zinc (II) and Lead (II) from Aqueous Solutions: Isotherm and Kinetic. *Separations*, 10(7), 393. <https://doi.org/10.3390/separations10070393>
- Kurniawan, S. B., Ramli, N. N., Said, N. S. M., Alias, J., Imron, M. F., Abdullah, S. R. S., Othman, A. R., Purwanti, I. F. y Hasan, H. A. (2022). Practical limitations of bioaugmentation in treating heavy metal contaminated soil and role of plant growth promoting bacteria in phytoremediation as a promising alternative approach. *Heliyon*, 8(4), e08995. <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2022.e08995>
- Krüger, D., Matshwele, J. T. P., Mukhtar, M. D. y Baecker, D. (2024). Insights into the Versatility of Using Atomic Absorption Spectrometry in Antibacterial Research. *Molecules*, 29(13), 3120. <https://doi.org/10.3390/molecules29133120>
- Habte, M. L. y Beyene, E. A. (2020). Biological application and disease of oxidoreductase enzymes. In Mansur, M. (ed) *Oxidoreductase*. IntechOpen eBooks. <https://doi.org/10.5772/intechopen.93328>
- Lai, Q., Yao, S., Zha, Y., Zhang, H., Zhang, H., Ye, Y., Zhang, Y., Bai, H. y Ning, K. (2025). Deciphering the biosynthetic potential of microbial genomes using a BGC language

- processing neural network model. *Nucleic Acids Research*, 53(7).
<https://doi.org/10.1093/nar/gkaf305>
- Li, C., Quan, Q., Gan, Y., Dong, J., Fang, J., Wang, L. y Liu, J. (2020). Effects of heavy metals on microbial communities in sediments and establishment of bioindicators based on microbial taxa and function for environmental monitoring and management. *The Science of the Total Environment*, 749, 141555.
<https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.141555>
- Liu, D. (2011). *Molecular detection of human bacterial pathogens*. CRC Press eBooks.
<https://doi.org/10.1201/b10848>
- Lladó - Fernández, S. (2012). *Biorremediación de suelos contaminados por hidrocarburos pesados y caracterización de comunidades microbianas implicadas* (Tesis de doctorado, Universitat de Barcelona). Repositorio Institucional – Universitat de Barcelona. https://diposit.ub.edu/dspace/bitstream/2445/42417/5/SLLF_TESIS.pdf
- Louden, B. C., Haarmann, D. y Lynne, A. M. (2011). Use of Blue Agar CAS Assay for Siderophore Detection. *Journal of Microbiology And Biology Education*, 12(1), 51-53.
<https://doi.org/10.1128/jmbe.v12i1.249>
- Maghembe, R., Damian, D., Makaranga, A., Nyandoro, S. S., Lyantagaye, S. L., Kusari, S. y Hatti-Kaul, R. (2020). Omics for bioprospecting and drug discovery from bacteria and microalgae. *Antibiotics*, 9(5), 229. <https://doi.org/10.3390/antibiotics9050229>
- Mawang, C., Azman, A., Fuad, A. M. y Ahamad, M. (2021). Actinobacteria: An eco-friendly and promising technology for the bioaugmentation of contaminants. *Biotechnology Reports*, 32, e00679. <https://doi.org/10.1016/j.btre.2021.e00679>
- Martín, J. F., Liras, P. y Sánchez, S. (2021). Modulation of gene expression in actinobacteria by translational modification of transcriptional factors and secondary metabolite biosynthetic enzymes. *Frontiers in Microbiology*, 12.
<https://doi.org/10.3389/fmicb.2021.630694>
- Mending, W., Palmeira-De-Oliveira, A., Biber, S. y Prasauskas, V. (2019). An update on the role of *Atopobium vaginae* in bacterial vaginosis: what to consider when choosing a

- treatment? A mini review. *Archives of Gynecology and Obstetrics*, 300(1), 1–6.
<https://doi.org/10.1007/s00404-019-05142-8>
- Meenakshi, S., Hiremath, J., Meenakshi, M. y Shivaveerakumar, S. (2024). Actinomycetes: Isolation, Cultivation and its Active Biomolecules. *Journal of Pure and Applied Microbiology*, 18(1), 118–143. <https://doi.org/10.22207/jpam.18.1.48>
- Mitra, S., Chakraborty, A. J., Tareq, A. M., Emran, T. B., Nainu, F., Khusro, A., Idris, A. M., Khandaker, M. U., Osman, H., Alhumaydhi, F. A. y Simal-Gandara, J. (2022). Impact of heavy metals on the environment and human health: Novel therapeutic insights to counter the toxicity. *Journal of King Saud University - Science*, 34(3), 101865. <https://doi.org/10.1016/j.jksus.2022.101865>
- Miao, V. y Davies, J. (2010). Actinobacteria: the good, the bad, and the ugly. *Antonie Van Leeuwenhoek*, 98(2), 143–150. <https://doi.org/10.1007/s10482-010-9440-6>
- Musani, T. y Das, M. (2024). Actinomycetes as a Possible Source of Bioremediation of Heavy Metal Cadmium from Contaminated Soil. *Current World Environment*, 19(1), 311–320. <https://doi.org/10.12944/cwe.19.1.26>
- Nouioui, I., Carro, L., García-López, M., Meier-Kolthoff, J. P., Woyke, T., Kyrpides, N. C., Pukall, R., Klenk, H., Goodfellow, M. y Göker, M. (2018). Genome-Based Taxonomic Classification of the phylum actinobacteria. *Frontiers in Microbiology*, 9. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2018.02007>
- Oliart-Ros, R., Manresa-Presas, Á. y Sánchez-Otero, M. (2016). Utilización de microorganismos de ambientes extremos y sus productos en el desarrollo biotecnológico. *Ciencia UAT*, 11 (1), 79-90, 2007 – 7858. <https://doi.org/10.29059/cienciauat.v11i1.556>
- 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, P. R., Shaikh, S. S. y Sayyed, R. Z. (2018). Modified chrome azurol S method for detection and estimation of siderophores having affinity for metal ions other than iron. *Environmental Sustainability*, 1(1), 81-87. <https://doi.org/10.1007/s42398-018-0005-3>
- Perry, J., Shin, D., Getzoff, E. y Tainer, J. (2009). The structural biochemistry of the superoxide dismutases. *Biochimica Et Biophysica Acta (BBA) - Proteins and Proteomics*, 1804(2), 245–262. <https://doi.org/10.1016/j.bbapap.2009.11.004>
- Presentato, A., Piacenza, E., Turner, R. J., Zannoni, D. y Cappelletti, M. (2020). Processing of Metals and Metalloids by Actinobacteria: Cell Resistance Mechanisms and Synthesis of Metal(loid)-Based Nanostructures. *Microorganisms*, 8(12), 2027. <https://doi.org/10.3390/microorganisms8122027>
- Poole, L. B. (2014). The basics of thiols and cysteines in redox biology and chemistry. *Free Radical Biology and Medicine*, 80, 148–157. <https://doi.org/10.1016/j.freeradbiomed.2014.11.013>
- Polti, M.A., Aparicio, J.D., Costa – Gutierrez, S.B. y Benimeli, C.S. (2019). *Procesos sustentables para la restauración de ambientes contaminados*. Jornadas científicas de la Asociación de Biología de Tucuman. <https://ri.conicet.gov.ar/handle/11336/179759#anchorAbstract>
- Quinn, G. A., Banat, A. M., Abdelhameed, A. M. y Banat, I. M. (2020). Streptomyces from traditional medicine: sources of new innovations in antibiotic discovery. *Journal of Medical Microbiology*, 69(8), 1040–1048. <https://doi.org/10.1099/jmm.0.001232>
- Ragon, M., Restoux, G., Moreira, D., Møller, A. P. y López-García, P. (2011). Sunlight-Exposed biofilm microbial communities are naturally resistant to Chernobyl Ionizing-Radiation levels. *PLoS ONE*, 6(7), e21764. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0021764><https://doi.org/10.1371/journal.pone.0021764>
- Rehan, M., Barakat, H., Almami, I. S., Qureshi, K. A. y Alsohim, A. S. (2022). Production and Potential Genetic Pathways of Three Different Siderophore Types in Streptomyces

tricolor Strain HM10. *Fermentation*, 8(8), 346.
<https://doi.org/10.3390/fermentation8080346>

- Retamal-Morales, G., Mehnert, M., Schwabe, R., Tischler, D., Zapata, C., Chávez, R., Schlömann, M. Levicán, G. (2018). Detection of arsenic-binding siderophores in arsenic-tolerating Actinobacteria by a modified CAS assay. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 157, 176–181. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2018.03.087>
- Roy, B., Maitra, D., Sarkar, S., Podder, R., Das, T., Ghosh, J. y Mitra, A. K. (2023). Biofilm and metallothioneins: A dual approach to bioremediate the heavy metal menace. *Environmental Quality Management*, 33(4), 659–676.
<https://doi.org/10.1002/tqem.22139>
- Sala, L. F., García, S. I., Gonzáles, J. C., Frascaroli, M. I., Bellú, S., Mangiameli, F., Blanes, P., Mogetta, M. H., Andreu, V., Atria, A. M. y Salas Peregrin, J. M. (2010). Biosorción para la eliminación de metales pesados en aguas de desecho. *Anales De Quimica*, 106(2), 114–120.
<https://analesdequimica.es/index.php/AnalesQuimica/article/view/311/304>
- Serrano, N. F. y Moreno. L (2024). Sideróforos de rizobacterias y su aplicación en la biorremediación. *Ciencia en desarrollo*, 15(2).
<https://doi.org/10.19053/uptc.01217488.v15.n2.2024.16996>
- Schwabe, R. (2022). *Metallophores from Selected Actinobacteria for Metal Extraction and Phytomining of Strategic Elements*. Technische Universität Bergakademie Freiberg.
[https://tubaf.qucosa.de/landing-page/?tx_dlf\[id\]=https%3A%2F%2Ftubaf.qucosa.de%2Fapi%2Fqucosa%253A82369%2Fmets](https://tubaf.qucosa.de/landing-page/?tx_dlf[id]=https%3A%2F%2Ftubaf.qucosa.de%2Fapi%2Fqucosa%253A82369%2Fmets)
- Silva, M. S., Sales, A. N., Magalhães-Guedes, K. T., Dias, D. R. y Schwan, R. F. (2013). Brazilian cerrado soil actinobacteria ecology. *BioMed Research International*, 2013, 503805. <https://doi.org/10.1155/2013/503805>

- Singh, R. y Dubey, A. K. (2018). Diversity and applications of endophytic actinobacteria of plants in special and other ecological niches. *Frontiers in Microbiology*, 9. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2018.01767>
- Shivlata, L. y Satyanarayana, T. (2015). Thermophilic and alkaliphilic Actinobacteria: biology and potential applications. *Frontiers in Microbiology*, 6. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2015.01014>
- Stackebrandt, E. (2014). The family Acidimicrobiaceae. In: Rosenberg, E., DeLong, E.F., Lory, S., Stackebrandt, E., Thompson, F. (eds) *The Prokaryotes*. Springer, Berlin, Heidelberg. https://doi.org/10.1007/978-3-642-30138-4_198
- Sorokin, D. Y., Van Pelt, S., Tourova, T. P. y Evtushenko, L. I. (2009). Nitriliruptor alkaliphilus gen. nov., sp. nov., a deep-lineage haloalkaliphilic actinobacterium from soda lakes capable of growth on aliphatic nitriles, and proposal of Nitriliruptoraceae fam. nov. and Nitriliruptorales ord. nov. *International journal of systematic and evolutionary microbiology*, 59(2), 248–253. <https://doi.org/10.1099/ijs.0.002204-0>
- Timková, I., Sedláková-Kaduková, J. y Pristaš, P. (2018). Biosorption and Bioaccumulation Abilities of Actinomycetes/Streptomyces Isolated from Metal Contaminated Sites. *Separations*, 5(4), 54. <https://doi.org/10.3390/separations5040054>
- Vargas - Flórez, M.N. (2022). *Genómica y caracterización in vitro de Actinobacterias de ambientes tropicales revela su potencial bioactivo* (Tesis de maestría, Universidad del Rosario). Repositorio Institucional – Universidad del Rosario. <https://repository.urosario.edu.co/server/api/core/bitstreams/b25e963a-8c30-499c-87ec-c42e70ef255c/content>
- Vinod - Kumar, K., Chandran, J., Thamizhmani, R., Vimal - Raj, R., Lall, C., Muruganandam, N., Govind, A., Maile, A., Reesu, R. y Chander, P. (2014). Alta resistencia a metales y propiedades de remoción de metales de Actinobacterias productoras de antibióticos aisladas de la región de la rizosfera de Casuarina equisetifolia. *International Journal of Current Microbiology and Applied Microbiology* (pp. 803-811). <https://www.ijcmas.com/vol-3-7/K.Vinod,%20et%20al.pdf>

- Whittaker, J. W. (2011). Non-heme manganese catalase – The ‘other’ catalase. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, 525(2), 111–120.
<https://doi.org/10.1016/j.abb.2011.12.008>
- Zhang, H., Wang, K., Liu, X., Yao, L., Chen, Z. y Han, H. (2024). Exopolysaccharide-Producing bacteria regulate soil aggregates and bacterial communities to inhibit the uptake of cadmium and lead by lettuce. *Microorganisms*, 12(11), 2112.
<https://doi.org/10.3390/microorganisms12112112>
- 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, 125657.
<https://doi.org/10.1016/j.cej.2020.125657>