

Aislamiento de cepas fúngicas de una poza de relaves para la biorremediación de plomo y cadmio

Isolation of fungal strains from a tailings pond for lead and cadmium bioremediation

APAZA-AQUINO, Hugo¹; VALDERRAMA VALENCIA, María del Rosario²

¹Universidad Católica de Santa María

²Universidad Nacional de San Agustín

RESUMEN

La contaminación ambiental por metales pesados representa un problema grave para el ser humano y el ecosistema por su grado de toxicidad, es por ello que es necesario tener alternativas de tratamiento para su disposición. Se realizó el proceso de biorremediación de los metales plomo (II) y cadmio (II); mediante el empleo de hongos nativos aislados de la poza de oxidación del laboratorio metalúrgico de la Universidad Nacional de San Agustín, Arequipa – Perú; en medios de cultivo Sabouraud dextrosa y caldo papa dextrosa se cultivaron las cepas fúngicas para realizar los ensayos de remoción de plomo (II) y cadmio (II), se trabajó en sistema batch y se determinó el porcentaje de remoción. Se logró aislar e identificar a *Rhizopus sp* y *Aspergillus niger*; en los ensayos de remoción se determinó que *Rhizopus sp* fue la cepa que más removió plomo (II) en 86,39 %, cadmio (II) en 69,23 % y la mezcla en 74,82 %. Por otra parte *Aspergillus niger* remueve plomo (II) en 74,19 %, cadmio (II) en 44,72 % y la mezcla en 66,90 % y para el consorcio de las biomasas *Aspergillus niger-Rhizopus sp* remueve plomo (II) en 84,17 %, cadmio (II) en 43,42 %, y la mezcla en 53,43 %. La biomasa fúngica de *Rhizopus sp* y *Aspergillus niger* remueven eficientemente los metales de plomo (II) y cadmio (II), representando una alternativa potencial para procesos de biorremediación.

Palabras clave: *Aspergillus niger*, biomasa, metales pesados, remoción, *Rhizopus sp*.

ABSTRACT

Environmental contamination by heavy metals represents a serious problem for humans and the ecosystem due to its degree of toxicity, which is why it is necessary to have treatment alternatives for its disposal. The bioremediation process of the lead (II) and cadmium (II) metals was carried out; through the use of native fungi isolated from the oxidation pool of the metallurgical laboratory of the National University of San Agustín, Arequipa - Peru; in Sabouraud dextrose and potato dextrose broth culture media, the fungal strains were cultivated to carry out the lead (II) and cadmium (II) removal tests, a batch system was used and the removal percentage was determined. *Rhizopus sp* and *Aspergillus niger* were isolated and identified; in the removal tests it was determined that *Rhizopus sp* was the strain that most removed the lead (II) in 86.39 %, cadmium (II) in 69.23 % and the mixture in 74.82 %. On the other hand *Aspergillus niger* removes lead (II) in 74.19 %, cadmium (II) in 44.72 % and the mixture in 66.90 % and for the biomass consortium *Aspergillus niger-Rhizopus sp* removes lead (II) in 84.17 %, cadmium (II) in 43.42 %, and the mixture at 53.43 %. *Rhizopus sp* and *Aspergillus niger* fungal biomass efficiently removes lead (II) and cadmium (II) metals, representing a potential alternative for bioremediation processes.

Keywords: *Aspergillus niger*, biomass, heavy metals, removal, *Rhizopus sp*.

© Los autores. Este artículo es publicado por la Revista UCV HACER Campus Chiclayo. Este es un artículo de acceso abierto, distribuido bajo los términos de la Licencia Creative Commons Atribución - No Comercial - Compartir Igual 4.0 Internacional. (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/4.0/>), que permite el uso no comercial, distribución y reproducción en cualquier medio, siempre que la obra original sea debidamente citada.

Recibido: 24 de julio de 2020

Aceptado: 21 de setiembre de 2020

Publicado: 02 de octubre de 2020

¹Ingeniero Biotecnólogo, Investigador – Asociación de Investigación Científica BIOS, e-mail: hapaza89@gmail.com,  <https://orcid.org/0000-0002-1592-7461>

²Biólogo, e-mail: marov52@yahoo.com,  <https://orcid.org/0000-0002-1515-3195>

INTRODUCCIÓN

Como resultado de las actividades industriales, mineras, agrícolas y domésticas se genera contaminación con metales pesados como mercurio, plomo, arsénico, cadmio, cobre y cromo (Londoño-Franco et al., 2016; Pérez Bou et al., 2018; Qayyum et al., 2016). Los metales pesados son considerados como uno de los contaminantes más tóxicos en el medio ambiente por tener efectos nocivos que afecta a todo nivel en la cadena trófica (Beltrán-Pineda & Gómez-Rodríguez, 2016), se caracterizan por ser persistentes y no biodegradables (Pérez Bou et al., 2018). La exposición a Cd y Pb causan efectos adversos crónicos en la salud (Cabral et al., 2015), desencadenan diversas intoxicaciones causando daños como efectos teratogénicos, cáncer e incluso la muerte (Londoño-Franco et al., 2016).

Si los metales pesados no son eliminados adecuadamente se acumulan en suelos o en aguas; tal es el caso que se da en Puno-Perú, donde se ha encontrado presencia de metales pesados en la bahía interior del Lago Titicaca (Moreno et al., 2017) y este problema se agrava aún más cuando las aguas que son vertidas a este lago no son tratadas de forma eficiente (Moreno et al., 2018); dado que diversas actividades que se desarrollan en este lago como la pesca, turismo entre otros, los contaminantes llegan al ser humano ya sea por los alimentos que consume, el agua que bebe, entre otros. Por lo descrito urge disminuir las cantidades de metales pesados en la industria, minería y en el sector agropecuario (Londoño-Franco et al., 2016); pero si la contaminación ya está dada se tiene aplicar tecnologías para remediar.

Existen diversos métodos para la eliminación de los metales pesados tales como filtros, resinas de intercambio iónico, precipitación, electrocoagulación, etc.; como una alternativa se tiene a la biorremediación que mediante la aplicación de hongos, bacterias, algas, etc. es una estrategia prometedora para la eliminación de contaminantes (Choe & Sheppard, 2016; Singh et al., 2020; Verma & Kuila, 2019); la biosorción es la capacidad de los materiales

biológicos para absorber o adsorber metales pesados de fuentes contaminados (Khan et al., 2013).

Los hongos son eficientes y resistentes a metales pesados (Qayyum et al., 2016) y tienen la capacidad para acumular iones metálicos (Choe & Sheppard, 2016); diversas reacciones bioquímicas se dan en su interior así como en el exterior, los metales pesados son sustratos que pueden ser inmovilizados o transformados por estos organismos (Beltrán-Pineda & Gómez-Rodríguez, 2016); los hongos pueden adaptarse a distintas condiciones ambientales y tienen potencial uso como agentes de biorremediación, biosorción y biosensores (Choe & Sheppard, 2016). Existen diversos hongos que tienen potencial para remediar metales pesados tales como *Rhizopus microsporus* (Oladipo, Awotoye, Olayinka, Bezuidehout, & Maboeta, 2018), *Phanerochaete chrysosporium* (Zhao et al., 2016), *Aspergillus* (Choe & Sheppard, 2016); en particular *Aspergillus niger*, tiene la capacidad de tolerar altas concentraciones de metales tales como plomo, el zinc y cromo (Villalba-Villalba, Cruz-Campas, & Azuara-Gómez, 2018).

En los estudios mencionados anteriormente reportan el uso de biomasa que fue aislada de suelos contaminados, de mineras etc.; pero no de una poza de relaves, es por ello que en el presente estudio se cultiva cepas fúngicas nativas y con ello se pretende ofrecer una alternativa de solución a la problemática de contaminación con metales pesados. Se tiene como objetivo principal determinar la remoción de plomo (II) y cadmio (II) por parte de los hongos aislados de la poza de relaves del laboratorio metalúrgico de la UNSA - Arequipa.

METODOLOGÍA

Recolección y análisis fisicoquímico de las muestras:

Se extrajo muestras de la poza de relaves del laboratorio de concentración de minerales de la Universidad Nacional San Agustín-Arequipa con coordenadas 16°24'13,2"S 71°31'32,7"W, se

recolectó 1 litro por muestra elegidas al azar de 3 puntos distintos; para la determinación de plomo (II) y cadmio (II) se tomó una muestra adicional de 1 litro, a esta muestra se agregó HNO₃ diluido y todas estas muestras se mantuvieron dentro de la conservadora a una temperatura promedio de 4° C hasta su transporte al laboratorio. El análisis de plomo (II) y cadmio (II) se realizó con el espectrofotómetro de absorción atómica marca Shimadzu AA-6170IF; para el análisis de pH, temperatura y conductividad se realizó con un multiparámetro marca Hanna, también se determinó la densidad (método del picnómetro), color y olor (organolépticamente).

Aislamiento y caracterización de microorganismos:

Se homogenizó la muestra y se dejó sedimentar por 2 minutos, se tomó 5 mL de alícuota la cual se inoculó en un matraz conteniendo 100 ml de medio caldo Sabouraud dextrosa (Difco, 30 g/1000 mL) suplementado con 3 ppm de plomo (II) y cadmio (II), las cuales se obtuvieron a partir de las siguientes sales portadoras: Pb(NO₃)₂, Cd(NO₃)₂*4H₂O. El pH fue regulado con la adición de ácido Clorhídrico y/o Hidróxido de Sodio. Una vez desarrollado la biomasa en el caldo Sabouraud, se procedió aislar los hongos en agar Sabouraud (Merck, 65 g/1000 mL) suplementado con 3 ppm de ambos metales, se sembró por técnica punción y se incubó a temperatura ambiente por 6 días. Las colonias que crecieron en las placas se purificaron por resiembras sucesivas hasta tener colonias puras, realizándose en total 4 repiques en medio agar Sabouraud.

Para caracterizar las cepas fúngicas purificadas, se realizó la descripción de sus características morfológicas macroscópicas y se realizó observaciones microscópicas en montajes con azul de Lactofenol; para la identificación se realizó según el manual de identificación de hongos oportunistas (Guevara et al., 2007). Para los ensayos de remoción de plomo (II) y cadmio (II) se cultivó los hongos en frascos de vidrio de 100 mL y 5,2 cm de diámetro, en la cual se depositó 65 mL de medio de cultivo caldo papa dextrosa, se incubó sin agitación y a temperatura ambiente. Para realizar los ensayos de remoción

la biomasa fungal previamente fue lavada con agua destilada estéril.

Determinación de la capacidad de remoción de plomo (II) y cadmio (II):

Se trabajó en régimen batch, en frascos de plástico estériles se depositó 300 mL de cada solución de metal a una concentración de 100 ppm y en mezcla de 50 ppm de cada metal, todos los frascos tuvieron un volumen final de 300 mL, luego se añadió los micelios fúngicos (lavados), se operó a pH 5 y temperatura ambiente y se mantuvo con agitación en un shaker modelo SK 300 a 90 rpm; se sacaron alícuotas con una jeringa acondicionada con un filtro a distintos tiempos (4, 8, 20, 24 horas), para posteriormente realizar la lectura en el espectrofotómetro de absorción atómica. Los resultados se expresaron en porcentajes de remoción (%R) y se determinó mediante la ecuación:

$$\%R = \left(\frac{C_0 - C_t}{C_0} \right) \times 100$$

Donde:

%R: Porcentaje de remoción

C₀: Concentración inicial (ppm)

C_t: Concentración final (ppm)

RESULTADOS

Tabla 1

Caracterización fisicoquímica de la muestra la poza de relaves del laboratorio de concentración de minerales.

Parámetro	Valor
Valor de pH	6,12
Temperatura (°C)	18,5°C
Conductividad(μS/cm)	730
Densidad	1,09
Cd (mg/L)	2,14
Pb (mg/L)	2,58

Fuente: elaboración propia.

En la poza de relaves se concentra diversos metales producto de las diversas prácticas que realizan en dicho laboratorio. En el análisis inicial

de la muestra se tiene un valor de 2,14 ppm para cadmio (II) y 2,58 para plomo (II), valores relativamente bajos, pero estas aguas contaminadas al ser expuestas a cielo abierto varios de los contaminantes se volatilizan y de ahí la importancia de tratar estas aguas.

Caracterización de las cepas fúngicas:

En el medio Sabouraud se evidenció el desarrollo de la biomasa fúngica, se desarrollaron en total 4 microorganismos, 3 pertenecientes a hongos y 1 a bacteria; a pesar de que el medio de cultivo Sabouraud favorece el desarrollo de hongos, en una placa se encontró Bacilos (gram+). Se purificó las tres cepas fúngicas que se presentaban casi en todas las placas a las que se denominó 1H, 2H y 3H tal como se aprecia en la Figura 1. Posteriormente se realizó la caracterización morfológica macroscópica de las cepas purificadas 1H y 2H. La cepa 1H presentaba un aspecto granuloso, de color amarillento-negro y textura granular en cambio la cepa 2H de aspecto algodonoso, color blanquecino-negro y textura lanosa.

Como se puede apreciar en la Figura 1, los hongos aislados generaron abundante cantidad de esporas llegando a cubrir toda la placa Petri, no se trabajó con la cepa 3H. Posteriormente se realizó repiques sucesivos en agar Sabouraud hasta obtener colonias puras; se procedió a la observación microscópica en tinción con azul Lactofenol, la cepa 2H presentaba estolones y rizoides, además los esporangióforos no eran ramificados, presentaban esporangios esféricos y presentaba esporangiosporas angulares, con una apariencia elipsoidal. Respecto a la cepa 1H, en la observación microscópica se evidenció que la vesícula era globosa y que presentaba filidies alrededor de esta, se pudo apreciar la presencia de los conidios que tenían como principal característica la forma globosa, al consultar el manual de identificación de hongos descrito por Guevara, Urcia, & Casquero (2007) y de acuerdo a lo observado se determinó que la cepa 2H corresponde a *Rhizopus sp* y la cepa 1H a *Aspergillus niger*.

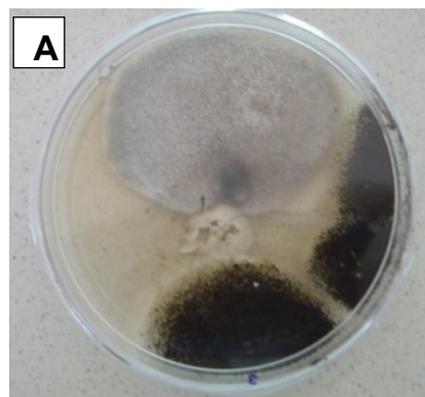
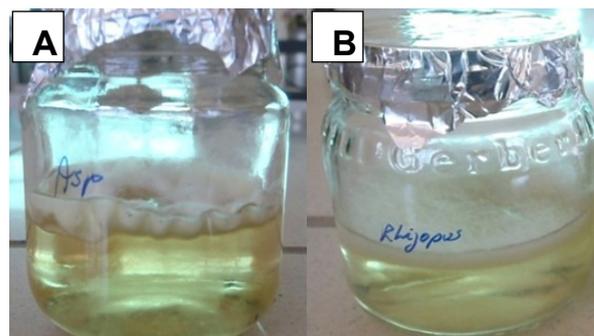


Figura 1. Placas de los hongos aislados, (A) se aprecia a la cepa 1H en la parte baja y (B) la cepa 2H y 3H.

En la generación de biomasa a los 5 días el micelio de *Aspergillus niger* se desarrolló por completo lo mismo sucedió con el micelio de *Rhizopus sp*, pero ligeramente más rápido se desarrollaba el micelio de *Aspergillus niger*.



En la generación de biomasa a los 5 días el micelio de *Aspergillus niger* se desarrolló por completo lo mismo sucedió con el micelio de *Rhizopus sp*, pero ligeramente más rápido se desarrollaba el micelio de *Aspergillus niger*.

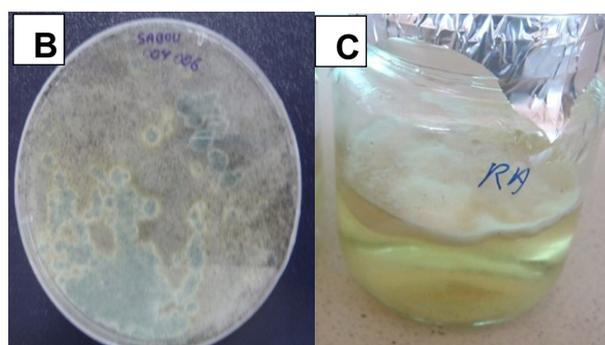


Figura 2. Micelios fungales, (A) *Aspergillus niger*, (B) *Rhizopus sp* y (C) consorcio (*Aspergillus niger* y *Rhizopus sp*).

Ensayos de remoción de plomo (II) y cadmio (II)

Tal como se aprecia en la Figura 3, 4 y 5 la cepa *Rhizopus sp* fue la cepa fungal que más metal removió plomo (II) en 86,39 %, cadmio (II) en 69,23 % y mezcla en 74,82 %; tras realizar el análisis estadístico al tiempo final mediante la prueba de Tuckey, se determinó que no existe diferencia estadística entre los porcentajes de remoción para plomo (II) por parte de *Rhizopus sp* y consorcio con un valor de $P > 0,05$. En cuanto a cadmio (II) no existe diferencia $P > 0,05$ entre *Aspergillus niger* y consorcio. Para la mezcla de ambos metales se obtiene $P < 0,05$ por lo que sí existe diferencia estadística entre los porcentajes de remoción por parte de *Aspergillus niger*, *Rhizopus sp* y consorcio.

Con los resultados obtenidos se afirma que el tipo de micelio fungal afecta significativamente en la remoción de los metales de plomo (II) y cadmio (II), esto se debe principalmente a la composición que tiene cada biosorbente.

En la Figura 3 se aprecia hay una mayor remoción de plomo (II) por parte de *Rhizopus sp*. En la Figura 4 se observa que hay mayor remoción por parte de *Rhizopus sp*, esta diferencia en las capacidades de remoción difieren por la segregación de metabolitos que usualmente quedan residuos en el micelio y en la Figura 5, se observa que la mayor remoción de la mezcla de plomo (II) y cadmio (II) se da al trabajar con la biomasa de *Rhizopus sp* seguido de la biomasa de *Aspergillus niger*.

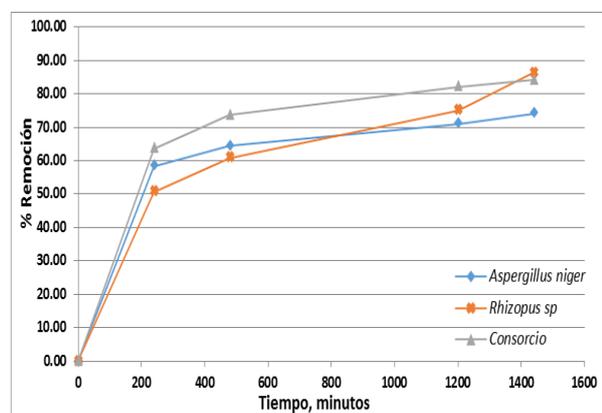


Figura 3. Cinética de remoción de plomo (II) por *Aspergillus niger*, *Rhizopus sp* y consorcio.

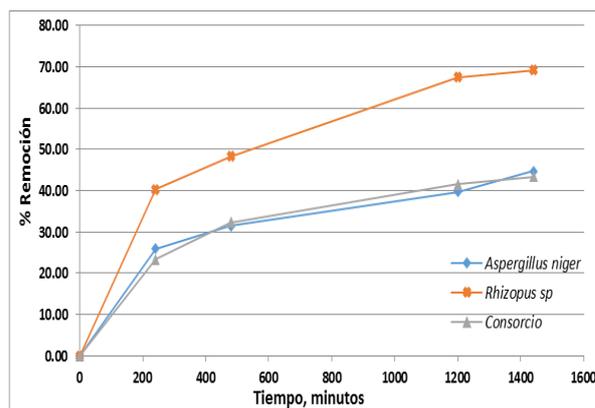


Figura 4. Cinética de remoción de cadmio (II) por *Aspergillus niger*, *Rhizopus sp* y consorcio.

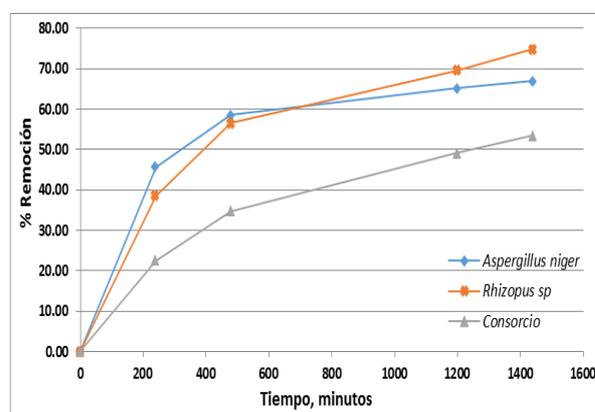


Figura 5. Cinética de remoción de plomo (II) y cadmio (II) por *Aspergillus niger*, *Rhizopus sp* y consorcio.

A pesar de que existen muchas técnicas para la descontaminación de metales pesados como la precipitación química, filtración, electroquímica, osmosis inversa, entre otras cada una de estas presentan sus ventajas y desventajas ya sea en cuanto a costo, maniobra, infraestructura, tecnología entre otros. La biorremediación es una alternativa viable para la descontaminación de metales pesados ya sea de compartimientos ambientales de agua, suelo incluso del aire.

DISCUSIÓN

En el presente trabajo se aisló los hongos *Aspergillus niger* y *Rhizopus sp* de una poza que contiene metales pesados, lo cual es una ventaja trabajar con microorganismos que toleran metales pesados; por su parte Villanueva (2015) aisló el hongo *Wallemia* y la microalga *Scenedesmus obliquus* a partir de efluentes de las lagunas de oxidación del parque industrial de Río Seco (PIRS) – Arequipa, Perú y Qayyum et al. (2016), lograron aislar cepas de hongos de suelos contaminados con Pb (26385,44 mg.kg⁻¹); esto demuestra que en lugares con alta concentración de metales existe microorganismos que con el paso del tiempo se adaptaron y se desarrollan en esas condiciones, siendo una alternativa potencial por su capacidad de tolerar metales.

En los resultados obtenidos en contraste con los que reporta Naeimi, Foroutan, Ahmadi, Sadeghzadeh, & Ramavandi (2018) trabajando con *Rhizopus* a una concentración inicial de plomo y cadmio de 10 mg/L la eliminación máxima de Pb (II) y Cd (II) es 95,66% y 94,55% respectivamente y por su parte Bhateria & Dhaka (2019) reportan que *Aspergillus niger* remueve 93% de cadmio (II) partiendo de una concentración inicial de 100 mg/L; en el presente estudio difiere de estos resultados probablemente porque se empleó biomasa que aun tenía residuos de ácido en el micelio lo cual pudo formar complejos con los metales plomo (II) y cadmio (II), probablemente se dio un proceso de sorción en las paredes celulares de los hongos; como mencionan Khan, Umer, y Rehman (2013) la capacidad de remoción se le atribuye a los grupos funcionales tales como las aminas y grupos carboxílicos. *Aspergillus* en un medio toxico empieza a sintetizar mayores cantidades de metalotioneínas para quelar los metales pesados (Pal & Das, 2005), estas propiedades hicieron posible la remoción de plomo (II) y cadmio (II) de un medio acuoso.

En la biosorción los principales factores que influyen son: el tipo de microorganismo, edad fisiológica del cultivo, temperatura, pH y concentración de los iones metálicos (Pérez Bou

et al., 2018); se trabajó a pH 5 obteniendo buenos resultados, algunos estudios (Acosta et al., 2007; Amini & Younesi, 2009; Sanchez et al., 2014) también obtienen buena eficiencia de remoción trabajando a pH ácido.

En los procesos de biorremediación es importante que la biomasa empleada sea fácil de cultivar para generar grandes cantidades ya que el micelio es una superficie reactiva (Albert et al., 2018), donde se darán los procesos de sorción. La biomasa fungal es fácil de cultivar (Shakya et al., 2016), se empleó un medio económico como el caldo papa dextrosa el cual resulto adecuado para la formación de la biomasa de *Aspergillus niger* y *Rhizopus sp*.

La biomasa de *Rhizopus* no solo remueve metales como plomo (II) o cadmio (II) también se reporta que remueve eficientemente Cr(VI) (Espinoza-Sánchez et al., 2019) y arsénico (Vala & Sutariya, 2012); esto es ideal ya que en un efluente industrial se tiene una mezcla de distintos metales. Gran parte de los estudios sobre biorremediación fue estudiado ampliamente a nivel laboratorio, pero aún falta profundizar ensayos a nivel campo, lo cual implicaría suplementar con nutrientes, oxígeno, entre otros (Mukherjee, 2016).

CONCLUSIONES

Se aisló e identificó los microorganismos de la poza de oxidación del laboratorio metalúrgico de la Universidad Nacional de San Agustín, siendo los hongos *Aspergillus niger* y *Rhizopus sp*, se determinó experimentalmente que *Rhizopus sp* fue el hongo que más removió el metal plomo (II) en 86,39%, cadmio (II) en 69,23% y la mezcla en 74,82% presentando una mayor afinidad en la remoción de plomo (II). Este sistema de remoción de metales pesados basado en biomasa fungal no requiere condiciones especiales, es económico, presenta alta eficiencia de remoción, es fácil y la superficie del micelio es extensa lo cual es adecuado para los procesos de biosorción.

REFERENCIAS

- Acosta, I., Moctezuma-Zárate, M. de G., Cárdenas, J. F., & Gutiérrez, C. (2007). Bioadsorción de cadmio (II) en solución acuosa por biomasas fúngicas. *Información Tecnológica*, 18(1), 9–14. <https://doi.org/10.4067/S0718-07642007000100003>
- Albert, Q., Leleyter, L., Lemoine, M., Heutte, N., Rioult, J. P., Sage, L., Baraud, F., & Garon, D. (2018). Comparison of tolerance and biosorption of three trace metals (Cd, Cu, Pb) by the soil fungus *Absidia cylindrospora*. *Chemosphere*, 196, 386–392. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2017.12.156>
- Amini, M., & Younesi, H. (2009). Biosorption of Cd(II), Ni(II) and Pb(II) from aqueous solution by dried biomass of *Aspergillus niger*: Application of response surface methodology to the optimization of process parameters. *Clean Soil Air Water*, 37(10), 776–786. <https://doi.org/10.1002/clen.200900090>
- Beltrán-Pineda, M. E., & Gómez-Rodríguez, A. M. (2016). Biorremediación de metales pesados cadmio (Cd), cromo (Cr) y mercurio (Hg), mecanismos bioquímicos e ingeniería genética: una revisión. *Revista Facultad de Ciencias Básicas*, 12(2), 172–197. <https://doi.org/10.18359/rfcb.2027>
- Bhateria, R., & Dhaka, R. (2019). Optimization and statistical modelling of cadmium biosorption process in aqueous medium by *Aspergillus niger* using response surface methodology and principal component analysis. *Ecological Engineering*, 135(September 2018), 127–138. <https://doi.org/10.1016/j.ecoleng.2019.05.010>
- Cabral, M., Toure, A., Garçon, G., Diop, C., Bouhsina, S., Dewaele, D., Cazier, F., Courcot, D., Tall-Dia, A., Shirali, P., Diouf, A., Fall, M., & Verdin, A. (2015). Effects of environmental cadmium and lead exposure on adults neighboring a discharge: Evidences of adverse health effects. *Environmental Pollution*, 206, 247–255. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2015.06.032>
- Choe, S. I., & Sheppard, D. C. (2016). Bioremediation of Arsenic Using an *Aspergillus* System. In *New and Future Developments in Microbial Biotechnology and Bioengineering* (pp. 267–274). Elsevier B.V. <https://doi.org/10.1016/B978-0-444-63505-1.00034-8>
- Espinoza-Sánchez, M. A., Arévalo-Niño, K., Quintero-Zapata, I., Castro-González, I., & Almaguer-Cantú, V. (2019). Cr(VI) adsorption from aqueous solution by fungal bioremediation based using *Rhizopus* sp. *Journal of Environmental Management*, 251(February), 109595. <https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2019.109595>
- Guevara, M., Urcia, F., & Casquero, J. (2007). *Manual de procedimientos y técnicas de laboratorio para la identificación de los principales hongos oportunistas causantes de micosis humanas*. [http://www.ins.gob.pe/insvirtual/images/otrpubs/pdf/Manual_HONGOS\[1\].pdf](http://www.ins.gob.pe/insvirtual/images/otrpubs/pdf/Manual_HONGOS[1].pdf)
- Khan, S., Umer, A. S. M., & Rehman, W. (2013). Biosorption of Lead by *Rhizopus stolonifer* Biomass: Role of Functional Groups. *Journal of Ecophysiology and Occupational Health*, 13(3/4), 21–28. <https://doi.org/10.18311/jeoh/2013/1715>
- Londoño-Franco, L. F., Londoño-Muñoz, P. T., & Muñoz-García, F. G. (2016). Los riesgos de los metales pesados en la salud humana y animal. *Biotechnología En El Sector Agropecuario y Agroindustrial*, 14(2), 145–153. [https://doi.org/10.18684/bsaa\(14\)145-153](https://doi.org/10.18684/bsaa(14)145-153)
- Moreno, E., Argota, G., Alfaro, R., Aparicio, M., Atencio, S., & Goyzueta, G. (2017). Determinación interactiva de metales totales en las aguas de la bahía interior del Lago Titicaca- Puno Perú. *Revista de Investigaciones Altoandinas*, 19(2), 125–134. <https://doi.org/10.18271/ria.2017.271>
- Moreno, E., Argota, G., Alfaro, R., Aparicio, M., Atencio, S., & Goyzueta, G. (2018). Cuantificación de metales en sedimentos superficiales de la bahía interior, lago

- Titicaca-Perú. *Revista de Investigaciones Altoandinas*, 20(1), 9–18. <https://doi.org/10.18271/ria.2018.326>
- Mukherjee, A. (2016). Role of *Aspergillus* in Bioremediation Process. In *New and Future Developments in Microbial Biotechnology and Bioengineering* (pp. 209–214). Elsevier B.V. <https://doi.org/10.1016/B978-0-444-63505-1.00017-8>
- Naeimi, B., Foroutan, R., Ahmadi, B., Sadeghzadeh, F., & Ramavandi, B. (2018). Pb(II) and Cd(II) removal from aqueous solution, shipyard wastewater, and landfill leachate by modified rhizopus oryzae biomass. *Materials Research Express*, 5(4), 045501. <https://doi.org/10.1088/2053-1591/aab81b>
- Oladipo, O. G., Awotoye, O. O., Olayinka, A., Bezuidenhout, C. C., & Maboeta, M. S. (2018). Heavy metal tolerance traits of filamentous fungi isolated from gold and gemstone mining sites. *Brazilian Journal of Microbiology*, 49(1), 29–37. <https://doi.org/10.1016/j.bjm.2017.06.003>
- Pal, S. K., & Das, T. K. (2005). Biochemical characterization of N-methyl N'-nitro-N-nitrosoguanidine- induced cadmium resistant mutants of *Aspergillus niger*. *Journal of Biosciences*, 30(5), 639–646. <https://doi.org/https://doi.org/10.1007/BF02703564>
- Pérez Bou, L., Salgado Bernal, I., Larrea Duarte, C., Martínez Sardiñas, A., Cruz Arias, M. E., & Carballo Valdés, M. E. (2018). Biosorción microbiana de metales pesados: características del proceso. *Revista Cubana de Ciencias Biológicas*, 6(1), 1–12. <http://www.rccb.uh.cu/index.php/RCCB/article/view/216>
- Qayyum, S., Khan, I., Maqbool, F., Zhao, Y., Gu, Q., & Peng, C. (2016). Isolation and characterization of heavy metal resistant fungal isolates from industrial soil in China. *Pakistan Journal of Zoology*, 48(5), 1241–1247. https://www.researchgate.net/publication/297732291_Isolation_and_characterization_of_heavy_metal_resistant_fungal_isolates_from_Industrial_soil_China
- Sanchez, J. G., Marrugo, J. L., & Urango, I. D. (2014). Biosorción simultanea de plomo y cadmio en solución acuosa por biomasa de hongos *Penicillium* sp. *Temas Agrarios*, 19(1), 63–72. <https://doi.org/https://doi.org/10.21897/rta.v19i1.725>
- Shakya, M., Sharma, P., Meryem, S. S., Mahmood, Q., & Kumar, A. (2016). Heavy Metal Removal from Industrial Wastewater Using Fungi: Uptake Mechanism and Biochemical Aspects. *Journal of Environmental Engineering*, 142(9). [https://doi.org/10.1061/\(ASCE\)EE.1943-7870.0000983](https://doi.org/10.1061/(ASCE)EE.1943-7870.0000983)
- Singh, R. K., Tripathi, R., Ranjan, A., & Srivastava, A. K. (2020). Fungi as potential candidates for bioremediation. In *Abatement of Environmental Pollutants* (pp. 177–191). Elsevier Inc. <https://doi.org/10.1016/b978-0-12-818095-2.00009-6>
- Vala, A. K., & Sutariya, V. (2012). Trivalent arsenic tolerance and accumulation in two facultative marine fungi. *Jundishapur Journal of Microbiology*, 5(4), 542–545. <https://doi.org/10.5812/jjm.3383>
- Verma, S., & Kuila, A. (2019). Bioremediation of heavy metals by microbial process. *Environmental Technology and Innovation*, 14, 100369. <https://doi.org/10.1016/j.eti.2019.100369>
- Villanueva Vega, J. A. (2015). *Determinación de la biorremoción de plomo (Pb+2) mediante hongos y microalgas nativas aisladas de efluentes industriales empacadas en un sistema en serie de agitación continua* [Universidad Nacional de San Agustín]. <http://repositorio.unsa.edu.pe/handle/UNSA/450>
- Zhao, M. hua, Zhang, C. sheng, Zeng, G. ming, Huang, D. lian, & Cheng, M. (2016). Toxicity and bioaccumulation of heavy metals in *Phanerochaete chrysosporium*. *Transactions of Nonferrous Metals Society of China*, 26(5), 1410–1418. [https://doi.org/10.1016/S1003-6326\(16\)64245-0](https://doi.org/10.1016/S1003-6326(16)64245-0)