

Agraria

Revista

Científica

Facultad de Ciencias Agrarias



UNJu
Universidad
Nacional de Jujuy

Vol. X N° 17 - Año 2017

Autoridades
Universidad Nacional de Jujuy

Rector: **Lic. Rodolfo Alejandro Tecchi**
Vicerrector: **Lic. Jorge Eugenio Griot**

Secretaría de Extensión Universitaria
Dra. Elena Belli

Facultad de Ciencias Agrarias

Decano: **MSc. Ing. Agr. Mario César Bonillo**
Vicedecano: **Ing. Agr. Jorge Horacio Schimpf**
Sec. de Académica: **Ing. Agr. Dante Hormigo**
Sec. de Administración: **Ing. Agr. Rodolfo Aguado**
Sec. de Extensión y Difusión: **Dra. Natalia Avila Carreras**
Sec. de Ciencia y Técnica: **MSc. Ing. Agr. Silvia del V. Abarza**

*Queda hecho el depósito
que marca la ley*
ISSN 2362-4035
Año 2017

Comité Editor:

Dr. Osvaldo H. Ahumada
Dra. Noemí Bejarano
MSc. Ing. Agr. Claudia Gallardo

Edición y Diseño:

D.G Marina Schimpf



Agraria es producida por la
Facultad de Ciencias Agrarias
de la Universidad Nacional de Jujuy
Alberdi N° 47 - C.P. 4600 - San Salvador de Jujuy

El presente volumen fue financiado
por la Facultad de Ciencias Agrarias

**AGRARIA agradece a los siguientes investigadores el arbitraje
de los artículos publicados en este tomo:**

Mg. Ing. Agr. Susana Álvarez

Dr. Osvaldo Ahumada

Mic. Gustavo Ancasi

Dra. Noemí Bejarano

Dra. Leonor Carrillo

Dra. Marcela De Paul

Dr. Leonardo Serio

Dra. María Inés Zamar

SELECCIÓN DE CEPAS DE *Trichoderma* spp. TOLERANTES AL ARSÉNICO Y CON CAPACIDAD DE REMOCIÓN EN MEDIO LÍQUIDO

SELECTION OF STRAINS OF *Trichoderma* spp. TOLERANT TO ARSENIC AND CAPABLE OF REMOVAL IN LIQUID MEDIUM

Yañez L. M.^{1a}, Alfaro J. A.², Bovi Mitre G.³

RESUMEN

En este trabajo se seleccionó cepas de *Trichoderma* spp. con capacidad de tolerar y remover arsénico (As). La metodología utilizada para las pruebas de tolerancia fue la exposición a 500 y 1000 mg L⁻¹ de As (III) en medio sólido. El estudio de remoción de As se realizó en medio líquido, cuantificando la concentración de As mediante espectrometría de absorción atómica con generación de hidruros. Los resultados obtenidos indican que de las 4 cepas de *Trichoderma* spp. bajo estudio las cepas T4R3 y T01 mostraron los menores porcentajes de inhibición 20,2% y 18,7% a 500 mg L⁻¹ y 4,1% y 8,7% a 1000 mg L⁻¹ respectivamente a las 24 h de cultivo. Estas mismas cepas presentaron los mayores índices de tolerancia con valores de 0,80 a 0,93 a las 24 h de cultivo. En medio líquido con 1,44 mg L⁻¹ de As las cepas que presentaron mayor crecimiento fueron Mai y T4R3 con 3,63 y 3,88 g L⁻¹ respectivamente. La que mostro mayor efectividad en la remoción de As luego de 72 h de exposición fue la cepa T1R3 con 40,52%. Estos resultados demuestran el potencial de la cepa T1R3 para ser utilizada en estudios de mitigación del As.

Palabras claves: Contaminación. Arsénico. *Trichoderma* spp.. Selección.

SUMMARY

In this work selected strains of *Trichoderma* spp. with the ability to tolerate and remove arsenic (As). The methodology used for the tolerance tests was exposure to 500 and 1000 mg L⁻¹ of As (III) in solid medium. The As removal study was performed in liquid medium, quantifying the concentration of As by atomic absorption spectrometry with hydride generation. The results indicate that of the 4 strains of *Trichoderma* spp. under study the T4R3 and T01 strains showed the lowest percentages of inhibition 20.2% and 18.7% at 500 mg L⁻¹ and 4.1% and 8.7% at 1000 mg L⁻¹ respectively at 24 h culture. These same strains presented the highest tolerance indices whit values from 0.80 to 0.90 at 24 h of culture. In liquid medium whit 1.44 mg L⁻¹ of arsenic the strains that presented the greatest growth were Mai and T4R3 with 3.63 an 3.88 g L⁻¹ respectively. The one that showed greater effectiveness in the removal of arsenic after 72 h of exposure was the strain T1R3 with 40.52%. These results demonstrate the potential of strain T1R3 to be used in As mitigation studies.

Key words: Contamination. Arsenic. *Trichoderma* spp.. Selection.

1a-Becario Doctoral CONICET. Facultad de Ciencias Agrarias-UNJu (4600). Alberdi Nº 47, San Salvador de Jujuy, lumaya12@hotmail.com;

2-Facultad de Ciencias. Agrarias-UNJu; 3- Profesora Titular. Cátedra Toxicología de los Alimentos. Facultad de Ciencias Agrarias-UNJu.

INTRODUCCIÓN

El arsénico (As) es considerado uno de los tóxicos más peligrosos para el ambiente y particularmente en ecosistemas empleados para la agricultura (Su y otros, 2010). Su presencia natural (suelo, aire, agua, alimentos), así como en procesos industriales (la minería, fábricas textiles, producción de diferentes sustancias químicas) han dado lugar a una contaminación generalizada en muchas áreas del mundo generando exposición de un gran sector de la población humana (Ali y otros, 2009).

Jujuy (Argentina) es una de las provincias cuyas características geogénicas hacen que el agua de algunas zonas del noroeste (región Puna), contengan altas concentraciones de As (Ponce y otros, 2006). Estudios cuantitativos revelaron valores entre 5 y 10.000 $\mu\text{g L}^{-1}$ de As (Tschambler y otros, 2007). En particular, la localidad de Pastos Chicos ubicada a 3843 metros sobre el nivel del mar en el departamento de Susques, (cuyas coordenadas: 23°45'58,48"S-66°26'13,86"O), presenta concentraciones de As en agua superiores a los límites máximos permitidos (Fariás y otros, 2008). Hossain (2006) y Brammer (2009) observaron que el uso de agua subterránea contaminada con As empleada para el riego está aumentando los niveles del mismo en los suelos transformándolos inadecuados para la agricultura. Los cultivos producidos en estos suelos contaminados con As también pueden ser una fuente de exposición para los seres humanos (Williams y otros, 2005). Varios autores reportaron que el As ingresa en la cadena alimenticia por el consumo de estos cultivos contaminados (Roychowdhury y otros, 2005).

La transformación microbiana de los elementos del suelo es el resultado de procesos asimilatorios en los que se los incorpora en la biomasa celular y/o procesos disimilatorios en los que la transformación da lugar a la generación de energía, oxidación/reducción y/o detoxificación (Srivastava y otros, 2011).

La bioacumulación de As es un proceso natural de inmovilización que ayuda a la biorremediación de ambientes contaminados con este elemento. El empleo de organismos como hongos, bacterias y algas sirven para este propósito (Su y otros, 2010).

El género *Trichoderma* alcanzó una posición especial en el campo de la agricultura. Son muy conocidos por ser hongos rizosféricos, capaces

de colonizar todo el sistema radicular y persistir activamente en la planta (Tucci y otros, 2011). Existen informes sobre su potencial aplicación para remediar la contaminación del suelo y agua, ya que presenta gran tolerancia a una gama de contaminantes persistentes incluyendo metales pesados, plaguicidas e hidrocarburos poliaromáticos (Tripathi y otros, 2012). Ejemplos de estas biotecnologías fueron publicados por Siddiquee (2013), quienes evaluaron la absorción de iones de metales pesados utilizando *Trichoderma aureoviride*, *T. harzianum* y *T. virens* en la limpieza de áreas contaminadas. Su (2010), estudiaron la bioacumulación y biovolatilización de As pentavalente por *Trichoderma asperellum*.

La selección de cepas de *Trichoderma* spp. tolerantes al As permitirá escoger aquellas especies con habilidades de remoción del tóxico. Se propone iniciar investigaciones en la Puna Jujeña ensayando procesos de mitigación de As en el ambiente mediante el uso de estos hongos. Teniendo en cuenta lo anteriormente mencionado **el Objetivo de este trabajo** consiste en seleccionar cepas de *Trichoderma* spp. tolerantes al As con capacidad de disminuir la concentración de este elemento en el ambiente.

MATERIALES Y MÉTODOS

Cepas de *Trichoderma* spp.

Las cepas de *Trichoderma* spp. estudiadas T4R4, T1R3 y Mai fueron provistas por el laboratorio de Fitopatología de la Facultad de Ciencias Agrarias de la Universidad Nacional de Jujuy, mientras que la cepa T01 se aisló previamente del suelo de la localidad de Maimará (Jujuy).

Ensayo de tolerancia al arsénico

Para evaluar la tolerancia al As cada una de las cepas fue cultivada en el medio Agar Papa Dextrosa (PDA) (Britania), al que se le adicionó por diseminación superficial 200 μL de una solución de 500 y 1000 mg L^{-1} de As (III) preparada a partir de trióxido de arsénico marca Mallinckrodt (USA). Discos de 5 mm de agar con micelio se colocaron en el centro de las cajas de Petri estériles (90 mm de diámetro) las que se incubaron posteriormente a 27 °C durante 120 h. Como control positivo de crecimiento se utilizó el medio PDA no suplementado con As (III). El ensayo se realizó con un diseño

completamente aleatorizado con 3 repeticiones por tratamiento (Srivastava y otros, 2011).

El crecimiento radial (mm) de las cepas de *Trichoderma* spp. se registró a las 24, 48 y 72 h después de la inoculación (Behzad 2010). El porcentaje de inhibición del crecimiento radial se midió utilizando la fórmula indicada por Sarkar y colaboradores (2010).

$$\text{Porcentaje de Inhibición (\%I)} = [(X-Y / X) \times 100]$$

X = crecimiento radial (mm) de las placas de control

Y = crecimiento radial (mm) de las placas tratadas

Índice de tolerancia al arsénico

Con los datos de crecimiento radial se determinó el Índice de Tolerancia (IT), el cual es un indicador de la respuesta del organismo al estrés causado por el As. Este índice se calculó a partir del crecimiento de la cepa expuesta al As dividido por el crecimiento en la placa de control. Cuanto mayor sea el IT, mayor es la resistencia (Fazli y otros, 2015).

Ensayo de remoción de arsénico por cepas de *Trichoderma* spp.

Las cepas de *Trichoderma* spp. fueron evaluadas según su capacidad de remover el As en medio de cultivo Sabouraud Dextrosa Caldo (Britania) suplementado con 0,05 g L⁻¹ de cloranfenicol (Sigma) (SDC). Para ello se extrajeron con sacabocados estériles discos de 8 mm de diámetro de los cultivos puros de 7 días de crecimiento en medio PDA y se inocularon en frascos que contenían 50 mL de SDC. Los medios de cultivos se prepararon con agua proveniente del Río Pastos Chicos (cuyas coordenadas son: 23°70'88,3"S-66°44'55,8"O), la cual contenía una concentración de As de 1,44 mg L⁻¹.

Cada ensayo se realizó por triplicado y como controles se utilizaron medios SDC no inoculados (control abiótico) y sin As (control biótico). Todos los frascos se incubaron a 27 °C en un agitador rotatorio a 150 rpm durante 72 h, luego se filtraron empleando un filtro Millipore de 0,45 µm y la biomasa retenida se secó por 12 h a 65 °C en estufa de secado para determinar crecimiento por peso seco (g L⁻¹) (López

Errasquin y otros, 2003). En el filtrado se analizó la concentración de As total residual.

Cuantificación de arsénico total

La concentración de As se determinó mediante espectrometría de absorción atómica con generación de hidruros a través de un sistema de flujo continuo (FIAS) en un equipo FIAS 400 acoplado a un espectrómetro AAnalyst 100 (marca Perkin Elmer). La técnica presenta un límite de detección de 0,1 µg L⁻¹ y de cuantificación de 0,3 µg L⁻¹ con una respuesta lineal de hasta 5 µg L⁻¹ (r=0,998). Se trabajó con un error relativo del 10% verificando la sensibilidad del equipo mediante el empleo de patrones externos.

Análisis estadísticos

Los resultados obtenidos se expresaron como Media (M) ± Desviación Estándar (DE). Los cuales fueron sometidos a un análisis de varianza (ANOVA). La prueba de comparación de medias se realizó mediante el test de Duncan, con nivel de significancia de P ≤ 0,05. Todos los análisis estadísticos se llevaron a cabo empleando el programa estadístico InfoStat (versión 2008).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Tolerancia al arsénico por las cepas de *Trichoderma* spp.

Para seleccionar las cepas de *Trichoderma* spp. tolerantes al As se utilizó el Porcentaje de Inhibición (%I) y el Índice de Tolerancia (IT).

Las cepas de *Trichoderma* spp. expuestas a As (III) (500 y 1000 mg L⁻¹), a medida que se realizaron las mediciones, presentaron una menor elongación del micelio en los ensayos de exposición en comparación con los controles, evidenciando un posible efecto inhibitorio del tóxico (Tabla 1 y 2).

Los resultados de crecimiento radial de las cepas expuestas a 500 mg L⁻¹ de As (III) durante 72 h de cultivo se muestran en la Tabla 1.

Tabla 1. Crecimiento radial (mm) de las cepas de *Trichoderma* spp. cultivadas en medio APG suplementadas con 500 mg L⁻¹ de As (III)

Crecimiento radial (mm)			
Cepas	24 h	48 h	72 h
T01	8,7 ± 0,6	29 ± 1	45
Control	10,7 ± 0,6	31,7 ± 0,6	45
Mai	8,3 ± 0,6	27 ± 1	43,7 ± 1,5
Control	11,7 ± 0,6	32 ± 1,7	45
T4R3	7,7 ± 0,5	31,3 ± 1,2	45
Control	9,7 ± 0,6	32,7 ± 1,5	45
T1R3	5,5 ± 0,7	21 ± 1,4	45
Control	7,3 ± 0,6	27,3 ± 1,2	45

Los valores están expresados en M ± DE con n=3.

El crecimiento radial de las cepas expuestas a 1000 mg L⁻¹ de As (III) durante 72 h de cultivo se muestran en la Tabla 2.

Tabla 2. Crecimiento radial (mm) de las cepas de *Trichoderma* spp. cultivadas en un medio APG suplementadas con 1000 mg L⁻¹ de As^{III}

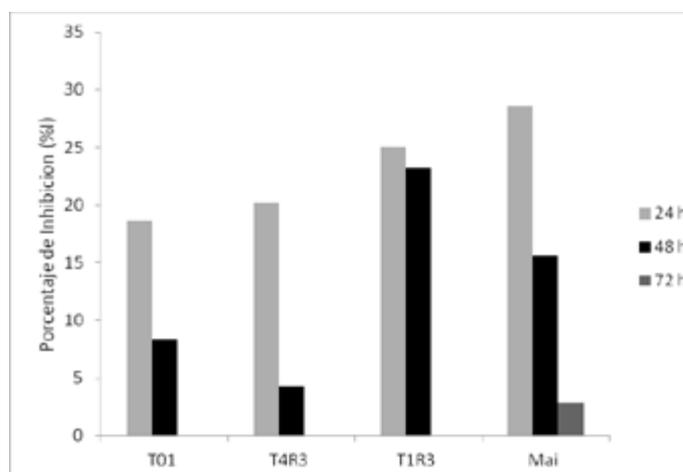
Crecimiento radial (mm)			
Cepas	24 h	48 h	72 h
T01	11,3 ± 0,5	30,5 ± 0,6	45
Control	12,3 ± 0,6	31,7 ± 0,6	45
T4R3	9,3 ± 1	29,5 ± 0,6	45
Control	9,7 ± 0,6	30,3 ± 0,6	45
Mai	9,2 ± 0,8	28 ± 1,2	45
Control	11,7 ± 0,6	32 ± 1,7	45
T1R3	4,1 ± 0,6	20,3 ± 2,1	43,4 ± 2,2
Control	6 ± 1	21,7 ± 0,6	45

Los valores están expresados en M ± DS con n=3.

Los resultados obtenidos en el presente trabajo concuerdan con lo informado por Ngu (1998) y Srivastava (2011), quienes expusieron diferentes cepas de *Trichoderma* spp. a las mismas concentraciones de As (V) (500 y 1000 mg L⁻¹). Estos investigadores observaron un buen crecimiento radial, una elevada tolerancia a medida que transcurría el tiempo de exposición y una estimulación en el crecimiento radial de algunas cepas en presencia de diferentes concentraciones de As.

Con las cepas ensayadas se observó una disminución del porcentaje de inhibición (%I) a medida que transcurrió el periodo de exposición al tóxico. Las cepas T01 (18,7%) y T4R3 (20,2%) expuestas a 500 mg L⁻¹ de As (III) mostraron los menores %I a las 24 h de cultivo y los menores %I a las 48 h de cultivo con valores de 8,4% y 4,3% respectivamente. Cabe destacar que a las 72 h de cultivo la cepa Mai presentó una inhibición del 2,9%, el resto de los hongos cubrieron la totalidad de la caja de Petri (90 mm de diámetro) por lo no se determinó el %I respecto al control (Fig. 1).

Figura 1. Porcentaje de inhibición de las cepas de *Trichoderma* spp. frente a 500 mg L⁻¹ de As (III)



A concentraciones de 1000 mg L⁻¹ de As (III), las cepas T01 (8,1%) y T4R3 (4,1%) mostraron los menores %I a las 24 h de cultivo. Estas mismas cepas presentaron los %I más bajos a las 48 h de cultivo con valores de 3,8% y 2,6% respectivamente. La cepa T1R3 presentó una inhibición del 3,5% a las 72 h de cultivo, el resto de los hongos se desarrollaron cubrieron la totalidad de la caja de Petri por lo no se determinó el %I respecto al control (Fig. 2).

La disminución de los valores de %I de las cepas de *Trichoderma* spp., a la exposición a 500 y 1000 mg L⁻¹ de As (III), se relaciona con el aumento en los índices de tolerancia estimando que los hongos desarrollan diferentes estrategias de tolerancia o mecanismos de resistencias (Srivastava y otros, 2011).

Figura 2. Porcentaje de inhibición de las cepas de *Trichoderma* spp. frente a 1000 mg L⁻¹ de As (III)

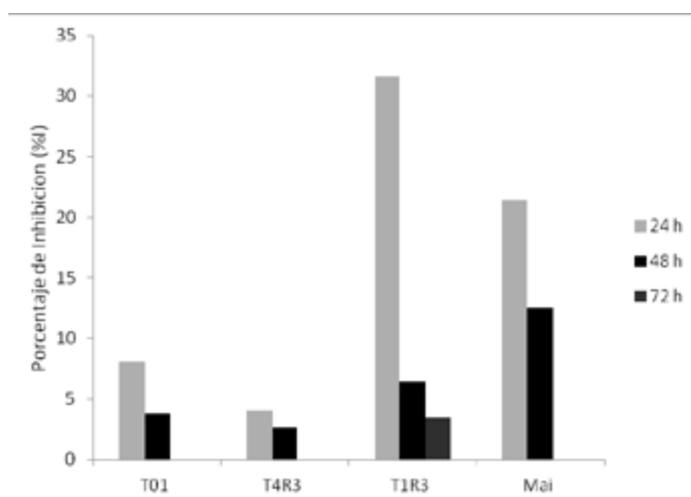
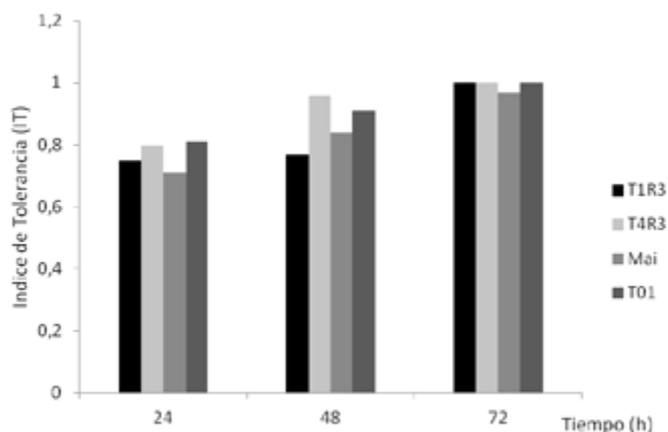
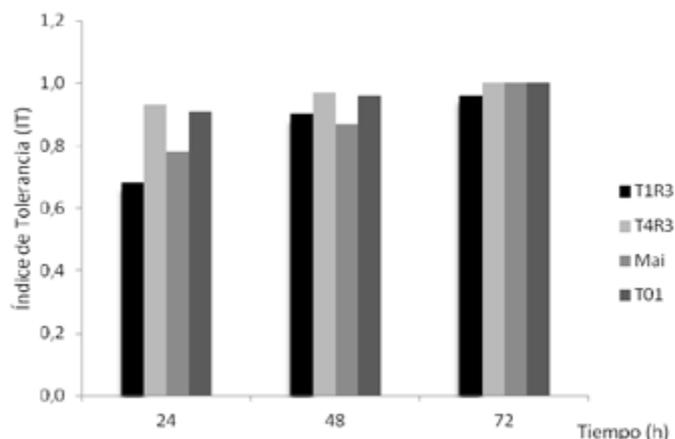


Figura 3. Índice de tolerancia de cepas de *Trichoderma* spp. frente a 500 mg L⁻¹ de As (III)



A concentraciones de 1000 mg L⁻¹ de As (III), las cepas T4R3 y T01 nuevamente mostraron la mayor tolerancia con valores de 0,91 y 0,93 a las 24 h respectivamente (Fig. 4).

Figura 4. Índice de tolerancia de cepas de *Trichoderma* spp. frente a 1000 mg L⁻¹ de As (III)



A las 24 y 48 h de cultivo, a concentraciones de 500 y 1000 mg L⁻¹ de As (III), pudo observarse variación en los valores de IT de las cepas bajo estudio. Estos resultados concuerdan con los informados por Muñoz y otros (2012), quienes probaron la teoría de que cepas del mismo género (*Paecilomyces* sp. 9, *Paecilomyces* sp. G) y (*Aspergillus multicolor*, *Aspergillus fumigatus*) no necesariamente desarrollan la misma tolerancia. La tolerancia no es inherente a los microorganismos sino que es adquirida del medio ambiente (Fazli y otros, 2015). Cabe aclarar que la similitud de los valores de IT obtenidos a las 72 h se debió a que las cepas ensayadas se desarrollaron cubriendo la totalidad de la caja de Petri.

La variedad de valores de tolerancia al As obtenida en el uso de las diferentes cepas de *Trichoderma* spp. podría deberse a la presencia de estrategias o mecanismos de resistencia tales como la precipitación extracelular, cristalización, biosorción en la pared celular y pigmentación (Gadd 2004), reducción del As (V) a As (III), el cual es expulsado de la célula (Cernanský y otros, 2009), unión del As (III) con glutatión o secuestro en el interior de vacuolas (Canovas y de Lorenzo, 2007), metilación a formas orgánicas menos tóxicas (Qin y otros, 2006), oxidación de As (III) a As (V) (Gihring y otros, 2001).

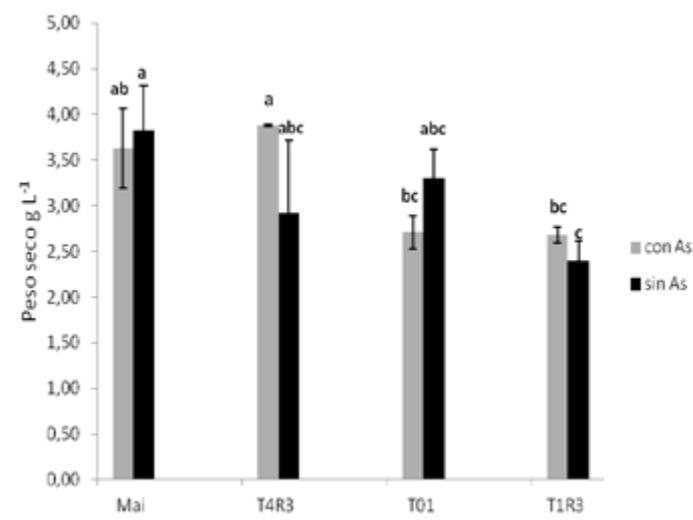
Remoción de arsénico por cepas de *Trichoderma* spp.

El crecimiento fúngico obtenido como peso seco y al ser expuesto al tóxico, se pudo observar que existió una diferencia estadísticamente significativa entre las cepas Mai (3,63 g L⁻¹) y T4R3 (3,88 g L⁻¹),

las cuales crecieron más rápidamente, respecto a las cepas T01 (2,71 g L⁻¹) y T1R3 (2,68 g L⁻¹).

Al comparar el crecimiento de cada cepa expuesta al As respecto a los controles se observó que T4R3 y T1R3 tuvieron mayor crecimiento (Fig. 3).

Figura 3. Crecimiento de las cepas de *Trichoderma* spp. expuestas al As



Las columnas con letras diferentes son significativamente diferentes según el método de Duncan con (P ≤ 0,05). Las barras verticales indican

la desviación estándar de los promedios (n = 3).

Estos resultados se asemejan a los informados por Zeng (2010) y Su (2011), quienes publicaron que una concentración adecuada de As (V) es propicia para el aumento de la biomasa fúngica y simultáneamente favorece la reducción del As (V). Se postula que algunos microorganismos podrían ganar energía a través de la reducción de As (V) y promover así su crecimiento (Takai y otros, 2002). Sin embargo, Oremland y Stolz (2003) sugieren que algunos microorganismos ganan energía para su crecimiento no sólo por la reducción de As (V), sino también por la oxidación de As (III).

Al realizar las determinaciones de As total en medio líquido se pudo estimar la habilidad de las 4 cepas de *Trichoderma* spp. para remover As después del periodo de incubación de 72 h.

Pudo determinarse que la cepa T1R3 fue la más eficiente entre las cepas bajo estudio, con una remoción de 40,52%, mostrando una diferencia significativa entre las demás cepas (Tabla 3). Resultados semejantes obtuvieron Visoottivisetth y Panvirroj (2001), quienes aislaron hongos tolerantes al As (V) con capacidad de remoción en medio líquido del 40% en un período de 120 h de incubación.

Tabla 3. Remoción de As por las cepas de *Trichoderma* spp. en medio líquido

Cepas	As residual en SDC (mg L ⁻¹)	As removido (mg L ⁻¹)	% de remoción
T1R3	0,86 ± 0,12	0,58 ± 0,12	40,52 ± 8,50 (a)*
T01	1,11 ± 0,01	0,33 ± 0,01	22,92 ± 0,98 (b)
T4R3	1,11 ± 0,04	0,33 ± 0,04	22,74 ± 2,50 (b)
Mai	1,12 ± 0,01	0,32 ± 0,01	22,26 ± 0,83 (b)

El As removido se calculo por diferencia entre la concentración de As en el control abiótico ([As]= 1, 44 mg L⁻¹) y la concentración de As residual en SDC. Los valores están expresados como M ± Ds, con n=3. *a y b valores significativamente diferentes (P ≤ 0,05).

Los resultados obtenidos en este trabajo sugieren que la capacidad de remoción no es proporcional al nivel de tolerancia. Observaciones similares se

han informado anteriormente respecto a la falta de correlación entre la tolerancia y la capacidad de eliminación de un tóxico (Zafar y otros, 2007; Pan y otros, 2009).

CONCLUSIÓN

Las cepas de *Trichoderma* spp. expuestas a As (III) (500 y 1000 mg L⁻¹) presentaron menor inhibición y mayor tolerancia a medida que transcurrió el período

de exposición al tóxico. Las cepas que mostraron mayor tolerancia a las concentraciones expuestas fueron T4R3 y T01. En medio líquido, la cepa T1R3 fue la más eficiente entre las cepas bajo estudio, con una remoción de $(40,52\% \pm 8,50)$. Es necesario realizar estudios de remoción de As en diferentes matrices e investigar cuales son los mecanismos de tolerancia y/o remoción del tóxico utilizados por estos hongos. Estos resultados reflejan el potencial de estas cepas para el desarrollo de futuras estrategias con un enfoque basado en la biorremediación de los suelos y ambientes agrícolas contaminados con As.

AGRADECIMIENTOS

A la Cátedra de Fitopatología de la Facultad de Ciencias Agrarias - Universidad Nacional de Jujuy.

Este trabajo se llevo a cabo con financiamiento del proyecto PIO-UNJu-CONICET (14020140100136 CO).

BIBLIOGRAFÍA

- Ali W., Isayenkov S. V., Zhao F. J., Maathuis F. J. M. 2009. Arsenite transport in plants. *Cellular and Molecular Life Sciences*. 66:2329-2339.

- Behzad H. 2010. Effect of some metal-containing compounds and fertilizers on mycoparasite *Trichoderma* species mycelia growth response. *African Journal of Biotechnology*. 9(26):4025-4033.

- Brammer H. 2009. Mitigation of arsenic contamination in irrigated paddy soils in South and South-East Asia. *Environ Int*. 35:856-63.

- Canovas D. y de Lorenzo V. 2007. Osmotic stress limits arsenic hyper-tolerance in *Aspergillus* sp. P37. *FEMS Microbiol Ecol*. 61:258-63.

- Cernanský S., Cík K.M., Ševc J., Urík M., Hiller E. 2009. Fungal Volatilization of Trivalent and Pentavalent Arsenic under Laboratory. Conditions, *Bioresour. Technol*. 100:1037-1040.

- Farías S. S., Escalante J., Servant R. E., Bianco de Salas G., Bovi Mitre M. G., Ávila Carreras N. E., Ponce R.I. 2008. Survey of arsenic in drinking water and assessment of the intake of arsenic from water

in Argentine Puna. 1:397-407.

- Fazli M. M., Soleimani N., Mehrasbi M., Darabian S., Mohammadi J., Ramazani A. 2015. Highly cadmium tolerant fungi: their tolerance and removal potential. *Journal of Environmental Health Science & Engineering*. 13:19.

- Gadd G. M. 2004. Microbial influence on metal mobility and application for bioremediation. *Geoderma*. 122:109-19.

- Gihring T. M., Druschel G. K., McCleskey R. B., Hamers R. J., Banfield J. F. 2001. Rapid Arsenite Oxidation by *Thermus aquaticus* and *Thermus sthermophilus*: Field and Laboratory Investigations. *Environ. Sci. Technol*. 35:3857-3862.

- Hossain M.F. 2006. Arsenic contamination in Bangladesh—an overview. *Agr. Ecosyst. Environ*. 113:1-16.

- Lopez Errasquin E., Vazquez C. 2003. Tolerance and uptake of heavy metals by *Trichoderma atroviride* isolated from sludge. *Chemosphere*. 50:137-143.

- Muñoz A.J., Ruiz E., Abriouel H., Gálvez A., Ezzouhri L., Lairini K. 2012. Heavy metal tolerance of microorganisms isolated from wastewaters: Identification and evaluation of its potential for biosorption. *Chem. Eng. J*. 210:325-32.

- Ngu M., Moya E., Magan N. 1998. Tolerance and uptake of cadmium, arsenic and lead by *Fusarium* pathogens of cereals. *Int. Biodeter. Biodegr*. 42:55-62.

- Oremland R. S. and Stolz J. F. 2003. The Ecology of Arsenic. *Science*. 300:939-944.

- Pan R., Cao L., Zhang R. 2009. Combined effects of Cu, Cd, Pb, and Zn on the growth and uptake of consortium of Cu-resistant *Penicillium* sp. A1 and Cd-resistant *Fusarium* sp. A19. *J. Hazard Mater*. 171:761-6.

- Ponce R., Farías S., Bovi Mitre G., Vélez D., Montoro R. 2006. Determinación de arsénico total e inorgánico en carne y vísceras de camélidos (*Lama glama*) autóctonos de la provincia de Jujuy, Argentina. *Rev. Facultad de Agronomía UBA*. 26:105-109.

- Qin J., Rosen B. P., Zhang Y., Wang G. J., Franke S., Rensing C. 2006. Arsenic Detoxification and Evolution of Trimethylarsine Gas by a Microbial Arsenite S-Adenosylmethionine Methyltransferase, Proc. Natl. Acad. Sci. 103: 2075–2080.
- Roychowdhury T., Tokunaga H., Uchino T., Ando M. 2005. Effect of arsenic-contaminated irrigation water on agricultural land soil and plants in West Bengal, India. Chemosphere. 58:799–810.
- Sarkar S., Satheshkumar A., Jayanthi R., Premkumar R. 2010. Biosorption of Nickel by Live Biomass of *Trichoderma harzianum*. Research Journal of Agricultural Sciences. 1:69-74.
- Siddiquee S., Aishah S. N., Azad S. A., Shafawati S. N., Naher L. 2013. Tolerance and biosorption capacity of Zn²⁺, Pb²⁺, Ni³⁺ and Cu²⁺ by filamentous fungi (*Trichoderma harzianum*, *T. aureoviride* and *T. virens*). Advances in Bioscience and Biotechnology. 4:570-583.
- Srivastava P. K., Vaish A., Dwivedi S., Chakrabarty D., Singh N., Tripathi R. D. 2011. Biological removal of arsenic pollution by soil fungi. Science of the Total Environment. 409:2430–2442
- Su S. M., Zeng X. B., Bai L. Y., Jiang X. L., Li L. F. 2010. Bioaccumulation and biovolatilisation of pentavalent arsenic by *Penicillium janthinellum*, *Fusarium oxysporum* and *Trichoderma asperellum* under laboratory conditions. Curr. Microbiol. 61:261–6.
- Su S. M., Zeng X. B., Bai L. Y., Li L. F., Duan R. 2011. Arsenic Biotransformation by Arsenic-Resistant Fungi *Trichoderma asperellum* SM-12F1, *Penicillium janthinellum* SM-12F4, and *Fusarium oxysporum* CZ- 8F1, Sci. Total Environ. 409: 5057–5062.
- Takai K., Hirayama H., Sakihama Y., Inagaki F., Yamato Y., Horikoshi K. 2002. Isolation and Metabolic Characteristics of Previously Uncultured Members of the Order Aquificales in a Subsurface Gold Mine. Appl. Environ. Microbiol. 68:3046–3054.
- Tripathi P., Singh P. C., Mishra A., Chauhan P. S., Dwivedi S., Bais R. T., Tripathi R. D. 2012. *Trichoderma*: a potential bioremediator for environmental clean up. Clean Techn Environ Policy. DOI 10.1007/s10098-012-0553-7.
- Tucci M., Ruocco M., De Masi L., De Palma M., Lorito M. 2011. The beneficial effect of *Trichoderma* spp. on tomato is modulated by the plant genotype. Mol. Plant Pathol. 12:341–54.
- Tschambler J., Cabrera R., Bovi-Mitre G. 2007. Georreferenciamiento del contenido de Arsénico en aguas de la Provincia de Jujuy-Argentina, XV Congreso Argentino de Toxicología, 26 al 28 de setiembre, Neuquén, Libro de resúmenes p 48.
- Visoottiviseth P. and Panviroj N. 2001. Selection of Fungi Capable of Removing Toxic Arsenic Compounds from Liquid Medium. Science Asia. 27:83-92.
- Williams P. N., Price A. H., Raab A., Hossain S. A., Feldmann J., Meharg A. A. 2005. Variation in arsenic speciation and concentration in paddy rice related to dietary exposure. Environmental Science and Technology. 39:5531-5540.
- Zafar S., Aqil F., Ahmad I. 2007. Metal tolerance and biosorption potential of filamentous fungi isolated from metal contaminated agricultural soil. Bioresour Technol. 98:2557–61.
- Zeng X. B., Su S. M., Jiang X. L., Li L. F., Bai L. Y., Zhang Y. R. 2010. Capability of Pentavalent Arsenic Bioaccumulation and Biovolatilization of Three Fungal Strains under Laboratory Conditions. Clean – Soil Air Water. 38:238–241.