

**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA JÚLIO DE MESQUITA
FILHO - CAMPUS DE JABOTICABAL
FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS E VETERINÁRIAS**

**GENÔMICA APLICADA À PREDIÇÃO DOS
MECANISMOS MOLECULARES DE RESISTÊNCIA
AOS METAIS POTENCIALMENTE TÓXICOS E
PROMOÇÃO DE CRESCIMENTO VEGETAL EM
Rhizobium sp. LBMP-C04**

**Daiane Silva Bonaldi
Bióloga**

RESSALVA

Atendendo solicitação do(a)
autor(a), o texto completo desta tese
será disponibilizado somente a partir
de 14/09/2022.

**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA JÚLIO DE MESQUITA
FILHO - CAMPUS DE JABOTICABAL
FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS E VETERINÁRIAS**

**GENÔMICA APLICADA À PREDIÇÃO DOS
MECANISMOS MOLECULARES DE RESISTÊNCIA
AOS METAIS POTENCIALMENTE TÓXICOS E
PROMOÇÃO DE CRESCIMENTO VEGETAL EM
Rhizobium sp. LBMP-C04**

Daiane Silva Bonaldi

Orientadora: Profa. Dra. Lucia Maria Carareto Alves

Co-orientadores: Prof. Dr. Daniel Guariz Pinheiro

Dr. Luciano Takeshi Kishi

Tese apresentada à Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias UNESP, Campus de Jaboticabal, como parte das exigências para obtenção do título de Doutora em Microbiologia Agropecuária.

B697g Bonaldi, Daiane Silva
Genômica aplicada à predição dos mecanismos moleculares de resistência aos metais potencialmente tóxicos e promoção de crescimento vegetal em *Rhizobium* sp.
LBMP-C04 / Daiane Silva Bonaldi. -- Jaboticabal, 2021
86 p. : tabs., fotos

Tese (doutorado) - Universidade Estadual Paulista (Unesp), Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Jaboticabal
Orientadora: Lucia Maria Carareto Alves
Coorientador: Daniel Guariz Pinheiro

1. Biorremediação. 2. Fitorremediação. 3. Genes de resistência. 4. Metais pesados. 5. Sequenciamento genético. I. Título.

Sistema de geração automática de fichas catalográficas da Unesp. Biblioteca da Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Jaboticabal. Dados fornecidos pelo autor(a).

Essa ficha não pode ser modificada.

CERTIFICADO DE APROVAÇÃO

TÍTULO DA TESE: GENÔMICA APLICADA À PREDIÇÃO DOS MECANISMOS MOLECULARES DE RESISTÊNCIA AOS METAIS POTENCIALMENTE TÓXICOS E PROMOÇÃO DE CRESCIMENTO VEGETAL EM *Rhizobium* sp. LBMP-C04

AUTORA: DAIANE SILVA BONALDI


ORIENTADORA: LUCIA MARIA CARARETO ALVES


COORIENTADOR: DANIEL GUARIZ PINHEIRO

COORIENTADOR: LUCIANO TAKESHI KISHI


Aprovada como parte das exigências para obtenção do Título de Doutora em MICROBIOLOGIA AGROPECUÁRIA, pela Comissão Examinadora:

Profa. Dra. LUCIA MARIA CARARETO ALVES (Participação Virtual) 
Departamento de Tecnologia / FCAV / UNESP - Jaboticabal

Profa. Dra. MARA CRISTINA PESSOA DA CRUZ (Participação Virtual) 
Departamento de Ciências da Produção Agrícola / FCAV / UNESP - Jaboticabal

Prof. Dr. EVERLON CID RIGOBELLO (Participação Virtual) 
Departamento de Ciências da Produção Agrícola / FCAV - UNESP - Jaboticabal

Prof. Dr. RODRIGO MATHEUS PEREIRA (Participação Virtual) 
Faculdade de Ciências Biológicas e Ambientais-FCBA/UFMG / Dourados/MSS

Profa. Dra. FATIMA MARIA DE SOUZA MOREIRA (Participação Virtual) 
Departamento de Ciência do Solo-UFLA / Lavras/MG

Jaboticabal, 14 de setembro de 2021

DADOS CURRICULARES DA AUTORA

Daiane Silva Bonaldi – Filha de Celso Roberto Bonaldi e Helena Silva Bonaldi, nasceu aos 02 de novemnro de 1990, no município de Aguaí, Estado de São Paulo. Bacharel em Ciências Biológicas pela Universidade Federal de Lavras, no ano de 2014; Mestre em Microbiologia Agrícola pela mesma Universidade em 2017. Ingressou no programa de Pós-Graduação em Microbiologia Agropecuária da Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias – Universidade Estadual Paulista, no ano de 2017.

“Não fui eu que lhe ordenei? Seja forte e corajoso! Não se apavore, nem se desanime, pois o Senhor, o seu Deus, estará com você por onde você andar.”

Josué 1:9

DEDICO

Aos meus amados pais Celso Roberto Bonaldi e Helena Silva Bonaldi,
grandes responsáveis pela minha formação, que sempre estiveram
comigo e me incentivaram a acreditar em meu potencial
em todos os momentos nessa caminhada.

AGRADECIMENTOS

À Deus, por me abençoar, proteger e me dar forças nessa caminhada;

Aos meus pais Celso e Helena, por tornarem esse sonho possível, pelo amor e carinho;

Ao Caio Henrique, é um presente ter você na minha vida, te ver crescer e ter o seu amor, pelos inúmeros sorrisos e alegria que tenho quando estou com você.

À Amora, por encher minha vida de alegria, pelo seu carinho e companheirismo;

À minha amiga Ednara, por acreditar em mim e sempre me incentivar;

À Andelita, pelos sábios ensinamentos, sem sua ajuda nada disso seria possível;

À minha querida orientadora prof. Dra. Lucia Maria Carareto Alves por abrir as portas do laboratório, acreditar em mim, pelo apoio e disponibilidade sempre; um grande exemplo de profissional e pessoa;

Ao meu co-orientador Daniel Guariz pelas contribuições e sugestões para melhoria deste trabalho;

À professora Luciana Saram pelas valiosas contribuições e disponibilidade em ajudar sempre que preciso;

À Michelli Gonçalves, a qual foi indispensável para realização deste trabalho;

Aos meus orientados Henrique Laurito, João Vitor Tinti e Bruno Bachega pela ajuda neste trabalho, e pela oportunidade de orientá-los e contribuir para seus aprendizados;

À Unesp/FCAV e aos professores que contribuíram para minha melhor formação;

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) - Código de Financiamento 001.

SUMÁRIO

	Página
1 INTRODUÇÃO.....	1
2 REVISÃO DE LITERATURA.....	2
2.1 Poluição por metais potencialmente tóxicos.....	2
2.2 Biorremediação	3
2.2.1 Fitorremediação.....	4
2.3 Mecanismos de resistência bacteriana a metais potencialmente tóxicos.....	7
2.4 Remoção de metais potencialmente tóxicos por bactérias e sua alocação.....	12
2.5 Gênero <i>Rhizobium</i>	12
3 MATERIAL E MÉTODOS.....	17
3.1 Isolamento bacteriano.....	17
3.2 Análises moleculares de bioinformática.....	18
3.2.1 Extração de DNA, Amplificação e Purificação.....	18
3.2.2 Sequenciamento dos fragmentos 16S rRNA, Análise das seqüências e homologia com banco de dados.....	18
3.2.3 Extração de DNA e sequenciamento do genoma completo.....	19
3.2.4 Processamento dos dados e montagem do genoma.....	19
3.2.5 Análises filogenômicas.....	19
3.2.6 Comparação genômica.....	20
3.2.7 Anotação funcional.....	20
3.3 Análises laboratoriais bioquímicas, microbiológicas e de resistência a metais.....	20
3.3.1 Solubilização de fosfato de cálcio.....	20
3.3.2 Produção de sideróforos.....	21
3.3.3 Produção de compostos indólicos.....	22
3.3.4 Teste de nodulação e eficiência simbiótica do isolado <i>Rhizobium</i> sp. LBMP-C04 em <i>Leucaena leucocephala</i>	22

3.3.5 Teste de resistência aos antibióticos.....	24
3.3.6 Preparação de soluções estoque de metais potencialmente tóxicos.....	24
3.3.7 Concentrações mínimas inibitórias: ensaio de resistência aos metais potencialmente tóxicos.....	25
3.3.8 Efeito dos metais potencialmente tóxicos na curva de crescimento.....	25
3.3.9 Análise de espectroscopia de absorção atômica.....	26
3.3.10 Microscopia eletrônica de transmissão.....	26
4. RESULTADOS e DISCUSSÃO.....	26
4.1 Montagem do Genoma.....	26
4.2 Identificação do isolado pela amplificação do gene 16S rRNA.....	28
4.3 Análises filogenéticas.....	30
4.4 Comparação dos genomas.....	31
4.5 Anotação Funcional do <i>Rhizobium</i> sp. LBMP-C04.....	34
4.5.1 Kegg.....	34
4.5.2 BacMet.....	38
4.5.3 Genes promotores de crescimento vegetal.....	44
4.6 Solubilização de fosfato de cálcio.....	45
4.7 Produção de sideróforos.....	49
4.8 Produção de compostos indólicos - Quantificação por colorimetria.....	50
4.9 Teste de nodulação e eficiência simbiótica do isolado <i>Rhizobium</i> sp. LBMP-C04 em <i>Leucaena leucocephala</i>	52
4.10 Sensibilidade aos antibióticos e padrão de resistência.....	54
4.11 Concentração Mínima Inibitória dos metais potencialmente tóxicos.....	57
4.12 Efeitos dos metais potencialmente tóxicos na curva de crescimento.....	60
4.13 Remoção dos metais potencialmente tóxicos.....	64
4.14 Microscopia Eletrônica de Transmissão.....	69
5. CONCLUSÃO.....	73
6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	74

GENÔMICA APLICADA À PREDIÇÃO DOS MECANISMOS MOLECULARES DE RESISTÊNCIA AOS METAIS POTENCIALMENTE TÓXICOS E PROMOÇÃO DE CRESCIMENTO VEGETAL EM *Rhizobium* sp. LBMP-C04

RESUMO - A associação de microrganismos com plantas hiperacumuladoras de metais potencialmente tóxicos (MPT) para remover, transferir ou estabilizar esses elementos do solo é uma ferramenta adequada para processos de biorremediação de ambientes contaminados. A capacidade dos microrganismos em resistir a esses ambientes depende de fatores bioquímicos, estruturais, fisiológicos e de adaptação genética deles. Sendo assim, o objetivo desse trabalho consiste na avaliação da capacidade do isolado *Rhizobium* sp. LBMP-C04 em ser usado para biorremediação e promoção de crescimento vegetal em solos contaminados com metais. Para isso, nesse trabalho foi realizada a predição de genes relacionados ao metabolismo de MPT, genes de promoção de crescimento e genes de resistência a antimicrobianos, bem como a realização de testes bioquímicos para comprovar essas características *in vitro* da bactéria *Rhizobium* sp. LBMP-C04. Através das anotações funcionais do genoma sequenciado foi possível prever uma variedade de genes relacionados à resistência aos MPT, de promoção de crescimento vegetal e resistência a antimicrobianos no genoma bacteriano. Os genes de resistência estão associados principalmente a mecanismos relacionados a bombas de efluxo, reparo de danos ao DNA e na importação ou exportação de metal nas células bacterianas, a fim de manter a homeostase celular. Os genes que promovem o crescimento vegetal estão relacionados com os mecanismos de tolerância ao estresse osmótico, solubilização de fosfato, metabolismo do nitrogênio, fixação biológica de nitrogênio, formação de biofilme, respostas ao choque térmico e a biossíntese de ácido indol-3-ácetico (AIA), de triptofano e de ácidos orgânicos. Os resultados bioquímicos indicam que o isolado *Rhizobium* sp. LBMP-C04 é capaz de solubilizar fosfato de cálcio, produzir sideróforos e compostos indólicos *in vitro*; o isolado foi resistente aos antibióticos ampicilina, amoxicilina, rifampicina, ácido nalidíxico e trimetopina. O isolado *Rhizobium* sp. LBMP-C04 apresentou MIC de 5, 14, 13, 12, 48 e 401 mmol dm⁻³ respectivamente aos metais Cd²⁺, Cu²⁺, Cr⁶⁺, Cr³⁺, Zn²⁺ e Ni²⁺, além de ter sido detectado acúmulo intracelular desses metais, demonstrado pela remoção de metais do meio de cultivo e por microscopia eletrônica de transmissão. Os resultados observados indicam a possibilidade de se utilizar o isolado *Rhizobium* sp. LBMP-C04 como uma bactéria eficiente em processos de biorremediação e fitorremediação de ambientes contaminados por metais potencialmente tóxicos por apresentar resistência a diversos metais e ter possibilidade de atuar como promotora de crescimento em plantas bioacumuladoras

Palavras-chave: biorremediação; fitorremediação; genes de resistência; metais pesados; sequenciamento genético

GENOMES APPLIED TO THE PREDICTION OF MOLECULAR MECHANISMS OF RESISTANCE TO POTENTIALLY TOXIC METALS AND PROMOTION OF PLANT GROWTH IN *Rhizobium* sp. LBMP-C04

ABSTRACT – The association of microorganisms with hyperaccumulating plants of potentially toxic metals (PTM) to remove, transfer or stabilize these elements from the soil is a suitable tool for bioremediation processes in contaminated environments. The ability of microorganisms to resist these environments depends on biochemical factors, physiological adaptations and their genetic adaptation. Therefore, the objective of this work is to evaluate the isolation capacity of *Rhizobium* sp. LBMP-C04 to be used for bioremediation and plant growth promotion in metal contaminated soils. For this purpose, in this work a prediction of genes related to PTM metabolism, growth promotion genes and antimicrobial resistance genes was performed, as well as the performance of biochemical tests to prove these characteristics *in vitro* of the bacterium *Rhizobium* sp. LBMP-C04. Through the linked annotations of the sequenced genome, it was possible to predict a variety of genes related to PTM resistance, plant growth promotion and antimicrobial resistance in the bacterial genome. Resistance genes are mainly associated with components related to efflux pumps, repair of DNA damage and the import or export of metal in bacterial cells, in order to maintain cell homeostasis. Genes that promote plant growth are related to mechanisms of osmotic stress tolerance, phosphate solubilization, nitrogen metabolism, biological nitrogen correction, biofilm formation, heat shock responses and indole-3-acetic acid biosynthesis (IAA), tryptophan and organic acids. The biochemical results indicate that the isolate *Rhizobium* sp. LBMP-C04 is able to solubilize calcium phosphate, produce siderophores and indole compounds *in vitro*; it was an isolate resistant to the antibiotics ampicillin, amoxicillin, rifampicin, nalidixic acid and trimethoprim. The isolate *Rhizobium* sp. LBMP-C04 presented MIC of 5, 14, 13, 12, 48 and 401 mmol dm⁻³ respectively to the metals Cd²⁺, Cu²⁺, Cr⁶⁺, Cr³⁺, Zn²⁺, and Ni²⁺, in addition to having detected intracellular accumulation of these, demonstrated by metal metals metals in the culture medium and by transmission electron microscopy. The observed results indicate the possibility of using the isolate *Rhizobium* sp. LBMP-C04 as an efficient bacterium in bioremediation and phytoremediation processes in environments contaminated by potentially toxic metals due to its resistance to several metals and being able to act as a growth promoter in bioaccumulating plants

Keywords: bioremediation; phytoremediation; genetic sequencing; heavy metals; resistance gene

1 INTRODUÇÃO

Os metais potencialmente tóxicos (MPT) (Ali and Khan, 2018) podem causar desnaturação de proteínas (Hg^{2+} , Pb^{2+} , Cd^{2+}); inibir a divisão celular (Hg^{2+} , Pb^{2+} , Cd^{2+} e Zn^{2+}), a atividade enzimática (Hg^{2+} , Pb^{2+} , Cd^{2+} , Cu^{2+} , Ni^{2+} e Zn^{2+}) e a transcrição (Hg^{2+} , Pb^{2+} , Cd^{2+}); podem causar ruptura da membrana celular (Hg^{2+} , Pb^{2+} , Ni^{2+} , Cu^{2+} e Cd^{2+}) e danos no DNA (Hg^{2+} , Pb^{2+} , As^{2+} e Cd^{2+}) (Fashola et al., 2016a). Para resistir e sobreviver ao ambiente tóxico, muitas bactérias desenvolveram mecanismos de resistência ao estresse induzido por MPT. A capacidade de resistir a esses ambientes depende de fatores bioquímicos, estruturais, fisiológicos e de adaptação genética. Determinantes genéticos responsáveis pela resistência aos MPT são encontrados em muitas bactérias. Esses determinantes de resistência são mediados pelo genoma cromossômico, plasmídeos ou transposons e envolvem muitos genes resistentes a metais agrupados por operons como *czcD*, *nccA*, *pco*, *cop*, *mer*, *ars* (Nies, 2003; Fashola et al., 2016a).

A utilização de microrganismos com propriedades de resistência a múltiplos metais e capacidade de promover o crescimento das plantas em simbiose com plantas que acumulam metal para remover, transferir ou estabilizar os contaminantes do solo, torna esta técnica uma das escolhas mais adequadas para estudos de biorremediação (Khan et al., 2009). Esta técnica, denominada fitorremediação, utiliza ervas e plantas lenhosas hiperacumuladoras, capazes de remover, absorver ou tornar inofensivos contaminantes ambientais, como os MPT, compostos orgânicos e compostos radioativos no solo ou na água, devido à sua capacidade de transporte e acúmulo de contaminantes. Esse processo de remediação é um método seguro e promissor, sendo que as Bactérias Promotoras de Crescimento Vegetal (BPCV) são ideais para aumentar a eficiência dessa tecnologia, pois podem proporcionar um aumento no crescimento de plantas mesmo na presença de níveis elevados de metais, através de mecanismos diretos e indiretos de promoção de crescimento, bem como aumentar a biodisponibilidade desses metais no solo (Ullah et al., 2015).

O Laboratório de Bioquímica de Microrganismos e Plantas (LBMP) possui uma coleção de rizóbios isolados de diversos ambientes e hospedeiros e estuda esses isolados para possíveis aplicações biotecnológicas. O isolado *Rhizobium* sp. LBMP-C04 foi estudado anteriormente por Moretto (et al., 2015), nesse estudo os autores observaram que o isolado apresentava relativa resistência aos íons metálicos Cu^{2+} e Cr^{6+} , entretanto na presença desses elementos, sofriam algumas alterações em seus metabolismos, relacionadas principalmente à produção de exopolissacarídeos.

Sendo assim, o objetivo deste trabalho consiste na avaliação da capacidade do isolado *Rhizobium* sp. LBMP-C04 em ser usado para biorremediação e promoção de crescimento vegetal em solos contaminados com metais. A fim de compreender os processos metabólicos envolvidos na homeostase dos metais por suas células e de genes de promoção de crescimento foi realizado o sequenciamento completo do genoma do isolado *Rhizobium* sp. LBMP-C04 e a predição dos genes de interesse. Além disso, avaliou-se, por testes bioquímicos e microbiológicos para comprovar essas características *in vitro* desse isolado em relação à resistência aos MPT, antimicrobianos e produção de moléculas envolvidas na estimulação do desenvolvimento vegetal. Nesses estudos, também foi possível classificar o isolado rizobiano e fornecer uma base teórica para aplicação deste microrganismo em processos de biorremediação.

5. CONCLUSÃO

É importante estudar os genes presentes no genoma do isolado *Rhizobium* sp. LBMP-C04 a fim de predizermos quais estão presentes e associá-los aos mecanismos de resistência que temos descritos na literatura. Desta forma pode-se definir sobre a possibilidade ou não do uso desse organismo em processos de biorremediação. O isolado *Rhizobium* sp. LBMP-C04 apresentou similaridade com a estirpe *Rhizobium tropici* CIAT 899, entretanto, os valores de ANI e DDH encontrados estão abaixo do limite necessário para inclusão na espécie *Rhizobium tropici*. Outros estudos são necessários para a classificação real desse isolado rizobiano.

Por outro lado, o *Rhizobium* sp. LBMP-C04 apresenta potencial para aplicação em processos de biorremediação. Foi observado nos estudos genômicos uma variedade de genes associados a mecanismos de resistência a MPT através de bombas de efluxo que são usadas para eliminar a sobrecarga desses metais no citoplasma, reparação de danos ao DNA e genes que codificam para proteínas reguladoras envolvidas na resistência aos MPT.

Características envolvidas com a capacidade de promoção de crescimento vegetal foram observadas pelos genes preditos e confirmadas por

testes de solubilização de fosfato, formação de sideróforos e produção de AIA. O isolado se mostrou resistente a diferentes metais, com capacidade de bioacumulação, mas sem grande capacidade de remoção desses elementos do meio de cultivo, o que novamente sugere o uso de bombas de efluxo como um dos principais mecanismos de resistência aos MPT estudados.

Os dados obtidos corroboram para selecionar o isolado *Rhizobium* sp. LBMP-C04 como uma bactéria que pode ser eficiente para processos de fitorremediação de ambientes contaminados por MPT, uma vez que nosso isolado pode se associar com plantas hiperacumuladores de MPT e estimular seu crescimento e ainda ser resistente a altas concentrações de metais presentes nesses ambientes contaminados.

6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- A. Morel, M., Iriarte, A., Jara, E., Musto, H., Castro-Sowinski, S., 1 Unidad Microbiología Molecular, Instituto de Investigaciones Biológicas Clemente Estable (IIBCE). Av Italia 3318, 11600, Montevideo, Uruguay, 2016. Revealing the biotechnological potential of *Delftia* sp. JD2 by a genomic approach. *AIMS Bioeng.* 3, 156–175. <https://doi.org/10.3934/bioeng.2016.2.156>
- Abbas, S.Z., Rafatullah, M., Ismail, N., Lalung, J., 2014. Isolation, Identification, and Characterization of Cadmium Resistant *Pseudomonas* sp. M3 from Industrial Wastewater. *J. Waste Manag.* 2014, 1–6. <https://doi.org/10.1155/2014/160398>
- Abbaszadeh-Dahaji, P., Masalehi, F., Akhgar, A., 2020. Improved Growth and Nutrition of Sorghum (*Sorghum bicolor*) Plants in a Low-Fertility Calcareous Soil Treated with Plant Growth-Promoting Rhizobacteria and Fe-EDTA. *J. Soil Sci. Plant Nutr.* 20, 31–42. <https://doi.org/10.1007/s42729-019-00098-9>
- Abd-Alla, M.H., Morsy, F.M., El-Enany, A.-W.E., Ohyama, T., 2012. Isolation and characterization of a heavy-metal-resistant isolate of *Rhizobium leguminosarum* bv. *viciae* potentially applicable for biosorption of Cd²⁺ and Co²⁺. *Int. Biodeterior. Biodegrad.* 67, 48–55. <https://doi.org/10.1016/j.ibiod.2011.10.008>
- Abdollahi, S., Golchin, A., Shahryari, F., 2020. Lead and cadmium-resistant bacterial species isolated from heavy metal-contaminated soils show plant growth-promoting traits. *Int. Microbiol.* 23, 625–640. <https://doi.org/10.1007/s10123-020-00133-1>
- Ahemad, M., 2015. Phosphate-solubilizing bacteria-assisted phytoremediation of metalliferous soils: a review. *3 Biotech* 5, 111–121. <https://doi.org/10.1007/s13205-014-0206-0>
- Ahemad, M., Kibret, M., 2014. Mechanisms and applications of plant growth promoting rhizobacteria: Current perspective. *J. King Saud Univ. - Sci.* 26, 1–20. <https://doi.org/10.1016/j.jksus.2013.05.001>
- Alaylar, B., Egamberdieva, D., Gulluce, M., Karadayi, M., Arora, N.K., 2020. Integration of molecular tools in microbial phosphate solubilization research in agriculture perspective. *World J. Microbiol. Biotechnol.* 36, 93. <https://doi.org/10.1007/s11274-020-02870-x>

- Alekshun, M.N., Levy, S.B., 2007. Molecular Mechanisms of Antibacterial Multidrug Resistance. *Cell* 128, 1037–1050. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2007.03.004>
- Ali, H., Khan, E., 2018. What are heavy metals? Long-standing controversy over the scientific use of the term ‘heavy metals’ – proposal of a comprehensive definition. *Toxicol. Environ. Chem.* 100, 6–19. <https://doi.org/10.1080/02772248.2017.1413652>
- Alnaimat, S., Shattal, S.A., Althunibat, O., Alsbou, E., Amasha, R., 2017. Iron (II) and other heavy-metal tolerance in bacteria isolated from rock varnish in the arid region of Al-Jafer Basin, Jordan. *Biodiversitas J. Biol. Divers.* 18, 1250–1257. <https://doi.org/10.13057/biodiv/d180350>
- Ameen, F.A., Hamdan, A.M., El-Naggar, M.Y., 2020. Assessment of the heavy metal bioremediation efficiency of the novel marine lactic acid bacterium, *Lactobacillus plantarum* MF042018. *Sci. Rep.* 10, 314. <https://doi.org/10.1038/s41598-019-57210-3>
- Auch, A.F., Klenk, H.-P., Göker, M., 2010. Standard operating procedure for calculating genome-to-genome distances based on high-scoring segment pairs. *Stand. Genomic Sci.* 2, 142–148. <https://doi.org/10.4056/sigs.541628>
- Auda, I.G., Ali Salman, I.M., Odah, J.Gh., 2020. Efflux pumps of Gram-negative bacteria in brief. *Gene Rep.* 20, 100666. <https://doi.org/10.1016/j.genrep.2020.100666>
- Baker-Austin, C., Wright, M.S., Stepanauskas, R., McArthur, J.V., 2006. Co-selection of antibiotic and metal resistance. *Trends Microbiol.* 14, 176–182. <https://doi.org/10.1016/j.tim.2006.02.006>
- Bamba, M., Aoki, S., Kajita, T., Setoguchi, H., Watano, Y., Sato, S., Tsuchimatsu, T., 2020. Massive rhizobial genomic variations associated with partner quality in *Lotus–Mesorhizobium* symbiosis (preprint). *Evolutionary Biology*. <https://doi.org/10.1101/2020.03.08.983007>
- Bauer, A.W., Kirby, W.M., Sherris, J.C., Turck, M., 1966. Antibiotic susceptibility testing by a standardized single disk method. *Am. J. Clin. Pathol.* 45, 493–496.
- Berrada, H., 2014. Taxonomy of the Rhizobia: Current Perspectives. *Br. Microbiol. Res. J.* 4, 616–639. <https://doi.org/10.9734/BMRJ/2014/5635>
- Bhardwaj, R., Gupta, A., Garg, J.K., 2018. Impact of heavy metals on inhibitory concentration of *Escherichia coli*—a case study of river Yamuna system, Delhi, India. *Environ. Monit. Assess.* 190, 674. <https://doi.org/10.1007/s10661-018-7061-0>
- Bianucci, E., Godoy, A., Furlan, A., Peralta, J.M., Hernández, L.E., Carpena-Ruiz, R.O., Castro, S., 2018. Arsenic toxicity in soybean alleviated by a symbiotic species of *Bradyrhizobium*. *Symbiosis* 74, 167–176. <https://doi.org/10.1007/s13199-017-0499-y>
- Boetzer, M., Henkel, C.V., Jansen, H.J., Butler, D., Pirovano, W., 2011. Scaffolding pre-assembled contigs using SSPACE. *Bioinformatics* 27, 578–579. <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/btq683>
- Bornhorst, J., Kipp, A.P., Haase, H., Meyer, S., Schwerdtle, T., 2018. The crux of inept biomarkers for risks and benefits of trace elements. *TrAC Trends Anal. Chem.* 104, 183–190. <https://doi.org/10.1016/j.trac.2017.11.007>
- Branco, R., Chung, A.P., Johnston, T., Gurel, V., Morais, P., Zhitkovich, A., 2008. The Chromate-Inducible chrBACF Operon from the Transposable Element TnOtChr Confers Resistance to Chromium(VI) and Superoxide. *J. Bacteriol.* 190, 6996–7003. <https://doi.org/10.1128/JB.00289-08>
- Brígido, C., Glick, B.R., 2015. Phytoremediation Using Rhizobia, in: Ansari, A.A., Gill, S.S., Gill, R., Lanza, G.R., Newman, L. (Eds.), *Phytoremediation*. Springer International Publishing, Cham, pp. 95–114. https://doi.org/10.1007/978-3-319-10969-5_9
- Brooks, B.D., Brooks, A.E., 2014. Therapeutic strategies to combat antibiotic resistance. *Adv. Drug Deliv. Rev.* 78, 14–27. <https://doi.org/10.1016/j.addr.2014.10.027>
- Buchfink, B., Xie, C., Huson, D.H., 2015. Fast and sensitive protein alignment using DIAMOND. *Nat. Methods* 12, 59–60. <https://doi.org/10.1038/nmeth.3176>

- Carlos, M.-H.J., Stefani, P.-V.Y., Janette, A.-M., Melani, M.-S.S., Gabriela, P.-O., 2016. Assessing the effects of heavy metals in ACC deaminase and IAA production on plant growth-promoting bacteria. *Microbiol. Res.* 188–189, 53–61. <https://doi.org/10.1016/j.micres.2016.05.001>
- Chen, J., Li, J., Zhang, H., Shi, W., Liu, Y., 2019. Bacterial Heavy-Metal and Antibiotic Resistance Genes in a Copper Tailing Dam Area in Northern China. *Front. Microbiol.* 10, 1916. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2019.01916>
- Chen, J., Liu, Y.-Q., Yan, X.-W., Wei, G.-H., Zhang, J.-H., Fang, L.-C., 2018. Rhizobium inoculation enhances copper tolerance by affecting copper uptake and regulating the ascorbate-glutathione cycle and phytochelatin biosynthesis-related gene expression in *Medicago sativa* seedlings. *Ecotoxicol. Environ. Saf.* 162, 312–323. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2018.07.001>
- Chen, S., Li, X., Sun, G., Zhang, Y., Su, J., Ye, J., 2015a. Heavy Metal Induced Antibiotic Resistance in *Bacterium LSJC7*. *Int. J. Mol. Sci.* 16, 23390–23404. <https://doi.org/10.3390/ijms161023390>
- Chen, S., Li, X., Sun, G., Zhang, Y., Su, J., Ye, J., 2015b. Heavy Metal Induced Antibiotic Resistance in *Bacterium LSJC7*. *Int. J. Mol. Sci.* 16, 23390–23404. <https://doi.org/10.3390/ijms161023390>
- Chen, Y., Ye, W., Zhang, Y., Xu, Y., 2015. High speed BLASTN: an accelerated MegaBLAST search tool. *Nucleic Acids Res.* 43, 7762–7768. <https://doi.org/10.1093/nar/gkv784>
- Chien, C.-C., Wang, L.-J., Lin, W.-R., 2014. Polyhydroxybutyrate accumulation by a cadmium-resistant strain of *Cupriavidus taiwanensis*. *J. Taiwan Inst. Chem. Eng.* 45, 1164–1169. <https://doi.org/10.1016/j.jtice.2014.02.004>
- Chojnacka, K., 2010. Biosorption and bioaccumulation – the prospects for practical applications. *Environ. Int.* 36, 299–307. <https://doi.org/10.1016/j.envint.2009.12.001>
- Cole, J.R., Wang, Q., Fish, J.A., Chai, B., McGarrell, D.M., Sun, Y., Brown, C.T., Porras-Alfaro, A., Kuske, C.R., Tiedje, J.M., 2014. Ribosomal Database Project: data and tools for high throughput rRNA analysis. *Nucleic Acids Res.* 42, D633–D642. <https://doi.org/10.1093/nar/gkt1244>
- Contreras-Moreira, B., Vinuesa, P., 2013. GET_HOMOLOGUES, a Versatile Software Package for Scalable and Robust Microbial Pangenome Analysis. *Appl. Environ. Microbiol.* 79, 7696–7701. <https://doi.org/10.1128/AEM.02411-13>
- Cristaldi, A., Conti, G.O., Jho, E.H., Zuccarello, P., Grasso, A., Copat, C., Ferrante, M., 2017. Phytoremediation of contaminated soils by heavy metals and PAHs. A brief review. *Environ. Technol. Innov.* 8, 309–326. <https://doi.org/10.1016/j.eti.2017.08.002>
- Dall’Agnol, R.F., Ribeiro, R.A., Ormeño-Orrillo, E., Rogel, M.A., Delamuta, J.R.M., Andrade, D.S., Martínez-Romero, E., Hungria, M., 2013. *Rhizobium freirei* sp. nov., a symbiont of *Phaseolus vulgaris* that is very effective at fixing nitrogen. *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.* 63, 4167–4173. <https://doi.org/10.1099/ijms.0.052928-0>
- Darling, A.C.E., 2004. Mauve: Multiple Alignment of Conserved Genomic Sequence With Rearrangements. *Genome Res.* 14, 1394–1403. <https://doi.org/10.1101/gr.2289704>
- Datta, B., Chakrabartty, P.K., 2014. Siderophore biosynthesis genes of *Rhizobium* sp. isolated from *Cicer arietinum* L. *3 Biotech* 4, 391–401. <https://doi.org/10.1007/s13205-013-0164-y>
- de Lajudie, P.M., Andrews, M., Ardley, J., Eardly, B., Jumas-Bilak, E., Kuzmanović, N., Lassalle, F., Lindström, K., Mhamdi, R., Martínez-Romero, E., Moulin, L., Mousavi, S.A., Nesme, X., Peix, A., Puławska, J., Steenkamp, E., Stępkowski, T., Tian, C.-F., Vinuesa, P., Wei, G., Willems, A., Zilli, J., Young, P., 2019a. Minimal standards for the description of new genera and species of rhizobia and agrobacteria. *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.* 69, 1852–1863. <https://doi.org/10.1099/ijsem.0.003426>
- de Lajudie, P.M., Andrews, M., Ardley, J., Eardly, B., Jumas-Bilak, E., Kuzmanović, N., Lassalle, F., Lindström, K., Mhamdi, R., Martínez-Romero, E., Moulin, L., Mousavi, S.A., Nesme,

- X., Peix, A., Puławska, J., Steenkamp, E., Stępkowski, T., Tian, C.-F., Vinuesa, P., Wei, G., Willems, A., Zilli, J., Young, P., 2019b. Minimal standards for the description of new genera and species of rhizobia and agrobacteria. *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.* 69, 1852–1863. <https://doi.org/10.1099/ijsem.0.003426>
- Didion, J.P., Martin, M., Collins, F.S., 2017. Atropos: specific, sensitive, and speedy trimming of sequencing reads. *PeerJ* 5, e3720. <https://doi.org/10.7717/peerj.3720>
- Diep, P., Mahadevan, R., Yakunin, A.F., 2018. Heavy Metal Removal by Bioaccumulation Using Genetically Engineered Microorganisms. *Front. Bioeng. Biotechnol.* 6, 157. <https://doi.org/10.3389/fbioe.2018.00157>
- Dimkpa, C.O., Merten, D., Svatoš, A., Büchel, G., Kothe, E., 2009. Metal-induced oxidative stress impacting plant growth in contaminated soil is alleviated by microbial siderophores. *Soil Biol. Biochem.* 41, 154–162. <https://doi.org/10.1016/j.soilbio.2008.10.010>
- Dokpikul, T., Chaoprasid, P., Saninjuk, K., Sirirakphaisarn, S., Johnrod, J., Nookabkaew, S., Sukchawalit, R., Mongkolsuk, S., 2016. Regulation of the Cobalt/Nickel Efflux Operon *dmeRF* in *Agrobacterium tumefaciens* and a Link between the Iron-Sensing Regulator *RirA* and Cobalt/Nickel Resistance. *Appl. Environ. Microbiol.* 82, 4732–4742. <https://doi.org/10.1128/AEM.01262-16>
- El-Deeb, B., Fayez, K., Gherbawy, Y., 2013. Isolation and characterization of endophytic bacteria from *Plectranthus tenuiflorus* medicinal plant in Saudi Arabia desert and their antimicrobial activities. *J. Plant Interact.* 8, 56–64. <https://doi.org/10.1080/17429145.2012.680077>
- Elizalde-Díaz, J.P., Hernández-Lucas, I., Medina-Aparicio, L., Dávalos, A., Leija, A., Alvarado-Affanranger, X., García-García, J.D., Hernández, G., Garcia-de los Santos, A., 2019. *Rhizobium tropici* CIAT 899 *copA* gene plays a fundamental role in copper tolerance in both free life and symbiosis with *Phaseolus vulgaris*. *Microbiology* 165, 651–661. <https://doi.org/10.1099/mic.0.000803>
- Elmer, K.R., 2016. Genomic tools for new insights to variation, adaptation, and evolution in the salmonid fishes: a perspective for charr. *Hydrobiologia* 783, 191–208. <https://doi.org/10.1007/s10750-015-2614-5>
- Fagorzi, C., Checcucci, A., diCenzo, G., Debiec-Andrzejewska, K., Dziewit, L., Pini, F., Mengoni, A., 2018. Harnessing Rhizobia to Improve Heavy-Metal Phytoremediation by Legumes. *Genes* 9, 542. <https://doi.org/10.3390/genes9110542>
- Fan, M., Xiao, X., Guo, Y., Zhang, J., Wang, E., Chen, W., Lin, Y., Wei, G., 2018. Enhanced phytoremediation of *Robinia pseudoacacia* in heavy metal-contaminated soils with rhizobia and the associated bacterial community structure and function. *Chemosphere* 197, 729–740. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2018.01.102>
- Fashola, M., Ngole-Jeme, V., Babalola, O., 2016a. Heavy Metal Pollution from Gold Mines: Environmental Effects and Bacterial Strategies for Resistance. *Int. J. Environ. Res. Public Health* 13, 1047. <https://doi.org/10.3390/ijerph13111047>
- Fashola, M., Ngole-Jeme, V., Babalola, O., 2016b. Heavy Metal Pollution from Gold Mines: Environmental Effects and Bacterial Strategies for Resistance. *Int. J. Environ. Res. Public Health* 13, 1047. <https://doi.org/10.3390/ijerph13111047>
- Fashola, M., Ngole-Jeme, V., Babalola, O., 2016c. Heavy Metal Pollution from Gold Mines: Environmental Effects and Bacterial Strategies for Resistance. *Int. J. Environ. Res. Public Health* 13, 1047. <https://doi.org/10.3390/ijerph13111047>
- Ferreira, P.A.A., Bomfeti, C.A., Silva Júnior, R. da, Soares, B.L., Soares, C.R.F.S., Moreira, F.M. de S., 2012. Eficiência simbiótica de estirpes de *Cupriavidus necator* tolerantes a zinco, cádmio, cobre e chumbo. *Pesqui. Agropecuária Bras.* 47, 85–95. <https://doi.org/10.1590/S0100-204X2012000100012>

- Ferreira, P.A.A., Bomfeti, C.A., Soares, C.R.F. de S., Soares, B.L., Moreira, F.M. de S., 2018a. *Cupriavidus necator* strains: zinc and cadmium tolerance and bioaccumulation. *Sci. Agric.* 75, 452–460. <https://doi.org/10.1590/1678-992x-2017-0071>
- Ferreira, P.A.A., Dahmer, S. de F.B., Backes, T., Silveira, A. de O., Jacques, R.J.S., Zafar, M., Pauletto, E.A., Santos, M.A.O. dos, Silva, K. da, Giachini, A.J., Antonioli, Z.I., 2018b. Isolation, Characterization and Symbiotic Efficiency of Nitrogen-Fixing and Heavy Metal-Tolerant Bacteria from a Coalmine Wasteland. *Rev. Bras. Ciênc. Solo* 42. <https://doi.org/10.1590/18069657rbcs20170171>
- Ge, S., Ge, S.C., 2016. Simultaneous Cr(VI) reduction and Zn(II) biosorption by *Stenotrophomonas* sp. and constitutive expression of related genes. *Biotechnol. Lett.* 38, 877–884. <https://doi.org/10.1007/s10529-016-2057-8>
- Ghosh, P.K., Saha, P., Mayilraj, S., Maiti, T.K., 2013. Role of IAA metabolizing enzymes on production of IAA in root, nodule of *Cajanus cajan* and its PGP *Rhizobium* sp. *Biocatal. Agric. Biotechnol.* 2, 234–239. <https://doi.org/10.1016/j.bcab.2013.04.002>
- Giner-Lamia, J., López-Maury, L., Florencio, F.J., 2015. CopM is a novel copper-binding protein involved in copper resistance in *Synechocystis* sp. PCC 6803. *MicrobiologyOpen* 4, 167–185. <https://doi.org/10.1002/mbo3.231>
- Glick, B.R., 2012. Plant Growth-Promoting Bacteria: Mechanisms and Applications. *Scientifica* 2012, 1–15. <https://doi.org/10.6064/2012/963401>
- Glick, B.R., 2010. Using soil bacteria to facilitate phytoremediation. *Biotechnol. Adv.* 28, 367–374. <https://doi.org/10.1016/j.biotechadv.2010.02.001>
- Gomez-Fuentes, C., Department of Chemical Engineering, Universidad de Magallanes, Avda. Bulnes, 01855, Punta Arenas, Región de Magallanes y Antártica Chilena, Chile, Sabri, S., Department of Microbiology, Faculty of Biotechnology and Biomolecular Sciences, Universiti Putra Malaysia, 43400 UPM Serdang, Selangor, Malaysia, Ahmad, S.A., National Antarctic Research Centre, B303 Level 3, Block B, IPS Building, Universiti Malaya, 50603 Kuala Lumpur, Malaysia, 2020. Effects of heavy metals on Antarctic bacterial cell growth kinetics and degradation of waste canola oil. *J. Environ. Biol.* 41, 1433–1441. <https://doi.org/10.22438/jeb/41/6/MRN-1464>
- Gopalakrishnan, S., Sathya, A., Vijayabharathi, R., Varshney, R.K., Gowda, C.L.L., Krishnamurthy, L., 2015. Plant growth promoting rhizobia: challenges and opportunities. *3 Biotech* 5, 355–377. <https://doi.org/10.1007/s13205-014-0241-x>
- Goris, J., Konstantinidis, K.T., Klappenbach, J.A., Coenye, T., Vandamme, P., Tiedje, J.M., 2007. DNA–DNA hybridization values and their relationship to whole-genome sequence similarities. *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.* 57, 81–91. <https://doi.org/10.1099/ijs.0.64483-0>
- Gosal, S.K., Mehta, A., 2015. Molecular Approach to Study Soil Bacterial Diversity, in: Egamberdieva, D., Shrivastava, S., Varma, A. (Eds.), *Plant-Growth-Promoting Rhizobacteria (PGPR) and Medicinal Plants, Soil Biology*. Springer International Publishing, Cham, pp. 359–380. https://doi.org/10.1007/978-3-319-13401-7_18
- Graham, P.H., Sadowsky, M.J., Keyser, H.H., Barnett, Y.M., Bradley, R.S., Cooper, J.E., De Ley, D.J., Jarvis, B.D.W., Roslycky, E.B., Strijdom, B.W., Young, J.P.W., 1991. Proposed Minimal Standards for the Description of New Genera and Species of Root- and Stem-Nodulating Bacteria. *Int. J. Syst. Bacteriol.* 41, 582–587. <https://doi.org/10.1099/00207713-41-4-582>
- Granja-Travez, R.S., Bugg, T.D.H., 2018. Characterization of multicopper oxidase CopA from *Pseudomonas putida* KT2440 and *Pseudomonas fluorescens* Pf-5: Involvement in bacterial lignin oxidation. *Arch. Biochem. Biophys.* 660, 97–107. <https://doi.org/10.1016/j.abb.2018.10.012>
- Haferburg, G., Kothe, E., 2007. Microbes and metals: interactions in the environment: Microbes and metals: interactions in the environment. *J. Basic Microbiol.* 47, 453–467. <https://doi.org/10.1002/jobm.200700275>

- Haney, C.J., Grass, G., Franke, S., Rensing, C., 2005. New developments in the understanding of the cation diffusion facilitator family. *J. Ind. Microbiol. Biotechnol.* 32, 215–226. <https://doi.org/10.1007/s10295-005-0224-3>
- Hao, X., Xie, P., Johnstone, L., Miller, S.J., Rensing, C., Wei, G., 2012. Genome Sequence and Mutational Analysis of Plant-Growth-Promoting Bacterium *Agrobacterium tumefaciens* CCNWGS0286 Isolated from a Zinc-Lead Mine Tailing. *Appl. Environ. Microbiol.* 78, 5384–5394. <https://doi.org/10.1128/AEM.01200-12>
- Hassan, S.H.A., Abskharon, R.N.N., Gad El-Rab, S.M.F., Shoreit, A.A.M., 2008. Isolation, characterization of heavy metal resistant strain of *Pseudomonas aeruginosa* isolated from polluted sites in Assiut city, Egypt. *J. Basic Microbiol.* 48, 168–176. <https://doi.org/10.1002/jobm.200700338>
- Herzberg, M., Bauer, L., Kirsten, A., Nies, D.H., 2016. Interplay between seven secondary metal uptake systems is required for full metal resistance of *Cupriavidus metallidurans*. *Metallomics* 8, 313–326. <https://doi.org/10.1039/C5MT00295H>
- Huang, F., Guo, C.-L., Lu, G.-N., Yi, X.-Y., Zhu, L.-D., Dang, Z., 2014. Bioaccumulation characterization of cadmium by growing *Bacillus cereus* RC-1 and its mechanism. *Chemosphere* 109, 134–142. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2014.01.066>
- Huerta-Cepas, J., Forslund, K., Coelho, L.P., Szklarczyk, D., Jensen, L.J., von Mering, C., Bork, P., 2017. Fast Genome-Wide Functional Annotation through Orthology Assignment by eggNOG-Mapper. *Mol. Biol. Evol.* 34, 2115–2122. <https://doi.org/10.1093/molbev/msx148>
- Huerta-Cepas, J., Szklarczyk, D., Forslund, K., Cook, H., Heller, D., Walter, M.C., Rattei, T., Mende, D.R., Sunagawa, S., Kuhn, M., Jensen, L.J., von Mering, C., Bork, P., 2016. eggNOG 4.5: a hierarchical orthology framework with improved functional annotations for eukaryotic, prokaryotic and viral sequences. *Nucleic Acids Res.* 44, D286–D293. <https://doi.org/10.1093/nar/gkv1248>
- Imada, E.L., Rolla dos Santos, A.A. de P., Oliveira, A.L.M. de, Hungria, M., Rodrigues, E.P., 2017. Indole-3-acetic acid production via the indole-3-pyruvate pathway by plant growth promoter *Rhizobium tropici* CIAT 899 is strongly inhibited by ammonium. *Res. Microbiol.* 168, 283–292. <https://doi.org/10.1016/j.resmic.2016.10.010>
- Imperi, F., Leoni, L., Visca, P., 2014. Antivirulence activity of azithromycin in *Pseudomonas aeruginosa*. *Front. Microbiol.* 5. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2014.00178>
- Imran, Md., Das, K.R., Naik, M.M., 2019. Co-selection of multi-antibiotic resistance in bacterial pathogens in metal and microplastic contaminated environments: An emerging health threat. *Chemosphere* 215, 846–857. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2018.10.114>
- Iyer, B., Rajkumar, S., 2019. Succinate irrepressible periplasmic glucose dehydrogenase of *Rhizobium* sp. Td3 and SN1 contributes to its phosphate solubilization ability. *Arch. Microbiol.* 201, 649–659. <https://doi.org/10.1007/s00203-019-01630-2>
- Jain, C., Rodríguez-R, L.M., Phillippy, A.M., Konstantinidis, K.T., Aluru, S., 2018. High throughput ANI analysis of 90K prokaryotic genomes reveals clear species boundaries. *Nat. Commun.* 9, 5114. <https://doi.org/10.1038/s41467-018-07641-9>
- Jijón-Moreno, S., Marcos-Jiménez, C., Pedraza, R.O., Ramírez-Mata, A., de Salamone, I.G., Fernández-Scavino, A., Vásquez-Hernández, C.A., Soto-Urzuá, L., Baca, B.E., 2015. The ipdC, hisC1 and hisC2 genes involved in indole-3-acetic production used as alternative phylogenetic markers in *Azospirillum brasilense*. *Antonie Van Leeuwenhoek* 107, 1501–1517. <https://doi.org/10.1007/s10482-015-0444-0>
- Johnson, J.S., Spakowicz, D.J., Hong, B.-Y., Petersen, L.M., Demkowicz, P., Chen, L., Leopold, S.R., Hanson, B.M., Agresta, H.O., Gerstein, M., Sodergren, E., Weinstock, G.M., 2019. Evaluation of 16S rRNA gene sequencing for species and strain-level microbiome analysis. *Nat. Commun.* 10, 5029. <https://doi.org/10.1038/s41467-019-13036-1>

- Kamnev, A.A., Antonyuk, L.P., Tugarova, A.V., Tarantilis, P.A., Polissiou, M.G., Gardiner, P.H.E., 2002. Fourier transform infrared spectroscopic characterisation of heavy metal-induced metabolic changes in the plant-associated soil bacterium *Azospirillum brasilense* Sp7. *J. Mol. Struct.* 610, 127–131. [https://doi.org/10.1016/S0022-2860\(02\)00021-2](https://doi.org/10.1016/S0022-2860(02)00021-2)
- Kamnev, A.A., Tugarova, A.V., Tarantilis, P.A., Gardiner, P.H.E., Polissiou, M.G., 2012. Comparing poly-3-hydroxybutyrate accumulation in *Azospirillum brasilense* strains Sp7 and Sp245: The effects of copper(II). *Appl. Soil Ecol.* 61, 213–216. <https://doi.org/10.1016/j.apsoil.2011.10.020>
- Kanehisa, M., Sato, Y., Kawashima, M., Furumichi, M., Tanabe, M., 2016. KEGG as a reference resource for gene and protein annotation. *Nucleic Acids Res.* 44, D457–D462. <https://doi.org/10.1093/nar/gkv1070>
- Khan, M.S., Zaidi, A., Wani, P.A., Oves, M., 2009. Role of plant growth promoting rhizobacteria in the remediation of metal contaminated soils. *Environ. Chem. Lett.* 7, 1–19. <https://doi.org/10.1007/s10311-008-0155-0>
- Kim, K., Kim, W., Kim, S., 2011. ReMark: an automatic program for clustering orthologs flexibly combining a Recursive and a Markovclustering algorithms. *Bioinformatics* 27, 1731–1733. <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/btr259>
- Kim, M., Park, S.-C., Baek, I., Chun, J., 2015. Large-scale evaluation of experimentally determined DNA G+C contents with whole genome sequences of prokaryotes. *Syst. Appl. Microbiol.* 38, 79–83. <https://doi.org/10.1016/j.syapm.2014.11.008>
- Konstantinidis, K.T., Tiedje, J.M., 2005. Genomic insights that advance the species definition for prokaryotes. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 102, 2567–2572. <https://doi.org/10.1073/pnas.0409727102>
- Krawczyk, P.S., Lipinski, L., Dziembowski, A., 2018. PlasFlow: predicting plasmid sequences in metagenomic data using genome signatures. *Nucleic Acids Res.* 46, e35–e35. <https://doi.org/10.1093/nar/gkx1321>
- Lebrazi, S., Fadil, M., Chraïbi, M., Fikri-Benbrahim, K., 2020. Screening and optimization of indole-3-acetic acid production by *Rhizobium* sp. strain using response surface methodology. *J. Genet. Eng. Biotechnol.* 18, 21. <https://doi.org/10.1186/s43141-020-00035-9>
- Ledin, M., 2000. Accumulation of metals by microorganisms — processes and importance for soil systems. *Earth-Sci. Rev.* 51, 1–31. [https://doi.org/10.1016/S0012-8252\(00\)00008-8](https://doi.org/10.1016/S0012-8252(00)00008-8)
- Lee, I., Ouk Kim, Y., Park, S.-C., Chun, J., 2016a. OrthoANI: An improved algorithm and software for calculating average nucleotide identity. *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.* 66, 1100–1103. <https://doi.org/10.1099/ijsem.0.000760>
- Lee, I., Ouk Kim, Y., Park, S.-C., Chun, J., 2016b. OrthoANI: An improved algorithm and software for calculating average nucleotide identity. *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.* 66, 1100–1103. <https://doi.org/10.1099/ijsem.0.000760>
- Leonel, T.F., Moretto, C., Castellane, T.C.L., da Costa, P.I., Lemos, E.G. de M., 2019. The Influence of Cooper and Chromium Ions on the Production of Exopolysaccharide and Polyhydroxybutyrate by *Rhizobium tropici* LBMP-C01. *J. Polym. Environ.* 27, 445–455. <https://doi.org/10.1007/s10924-018-1359-4>
- Li, X.-Z., Plésiat, P., Nikaido, H., 2015. The Challenge of Efflux-Mediated Antibiotic Resistance in Gram-Negative Bacteria. *Clin. Microbiol. Rev.* 28, 337–418. <https://doi.org/10.1128/CMR.00117-14>
- Li, Z., Song, X., Wang, J., Bai, X., Gao, E., Wei, G., 2018. Nickel and cobalt resistance properties of *Sinorhizobium meliloti* isolated from *Medicago lupulina* growing in gold mine tailing. *PeerJ* 6, e5202. <https://doi.org/10.7717/peerj.5202>
- Malhotra, M., Srivastava, S., 2008. An ipdC gene knock-out of *Azospirillum brasilense* strain SM and its implications on indole-3-acetic acid biosynthesis and plant growth promotion. *Antonie Van Leeuwenhoek* 93, 425–433. <https://doi.org/10.1007/s10482-007-9207-x>

- Malik, A., 2004. Metal bioremediation through growing cells. *Environ. Int.* 30, 261–278. <https://doi.org/10.1016/j.envint.2003.08.001>
- Mandal, S., Mandal, M., Das, A., Pati, B., Ghosh, A., 2009. Stimulation of indoleacetic acid production in a *Rhizobium* isolate of *Vigna mungo* by root nodule phenolic acids. *Arch. Microbiol.* 191, 389–393. <https://doi.org/10.1007/s00203-008-0455-6>
- Martinez, J.L., Sánchez, M.B., Martínez-Solano, L., Hernandez, A., Garmendia, L., Fajardo, A., Alvarez-Ortega, C., 2009. Functional role of bacterial multidrug efflux pumps in microbial natural ecosystems. *FEMS Microbiol. Rev.* 33, 430–449. <https://doi.org/10.1111/j.1574-6976.2008.00157.x>
- Mc Dermott, P.F., Walker, R.D., White, D.G., 2003. Antimicrobials: Modes of Action and Mechanisms of Resistance. *Int. J. Toxicol.* 22, 135–143. <https://doi.org/10.1080/10915810305089>
- McCutcheon, S.C., Schnoor, J.L. (Eds.), 2003. *Phytoremediation: transformation and control of contaminants*, Environmental science and technology. Wiley-Interscience, Hoboken, N.J.
- Meier-Kolthoff, J.P., Auch, A.F., Klenk, H.-P., Göker, M., 2013. Genome sequence-based species delimitation with confidence intervals and improved distance functions. *BMC Bioinformatics* 14, 60. <https://doi.org/10.1186/1471-2105-14-60>
- Miller, S.H., Browne, P., Prigent-Combaret, C., Combes-Meynet, E., Morrissey, J.P., O’Gara, F., 2009. Biochemical and genomic comparison of inorganic phosphate solubilization in *Pseudomonas* species: Inorganic P-solubilization in *Pseudomonas*. *Environ. Microbiol. Rep.* 2, 403–411. <https://doi.org/10.1111/j.1758-2229.2009.00105.x>
- Miranda, A.T., González, M.V., González, G., Vargas, E., Campos-García, J., Cervantes, C., 2005. Involvement of DNA helicases in chromate resistance by *Pseudomonas aeruginosa* PAO1. *Mutat. Res. Mol. Mech. Mutagen.* 578, 202–209. <https://doi.org/10.1016/j.mrfmmm.2005.05.018>
- Moretto, C., Castellane, T.C.L., Lopes, E.M., Omori, W.P., Sacco, L.P., Lemos, E.G. de M., 2015. Chemical and rheological properties of exopolysaccharides produced by four isolates of rhizobia. *Int. J. Biol. Macromol.* 81, 291–298. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2015.07.056>
- Naamala, J., Jaiswal, S.K., Dakora, F.D., 2016. Antibiotics Resistance in *Rhizobium*: Type, Process, Mechanism and Benefit for Agriculture. *Curr. Microbiol.* 72, 804–816. <https://doi.org/10.1007/s00284-016-1005-0>
- Nath, S., Paul, P., Roy, R., Bhattacharjee, S., Deb, B., 2019. Isolation and identification of metal-tolerant and antibiotic-resistant bacteria from soil samples of Cachar district of Assam, India. *SN Appl. Sci.* 1, 727. <https://doi.org/10.1007/s42452-019-0762-3>
- Nautiyal, C.S., 1999. An efficient microbiological growth medium for screening phosphate solubilizing microorganisms. *FEMS Microbiol. Lett.* 170, 265–270. <https://doi.org/10.1111/j.1574-6968.1999.tb13383.x>
- Neeta, B., Maansi, V., Harpreet, S.B., 2016. Characterization of heavy metal (cadmium and nickel) tolerant Gram negative enteric bacteria from polluted Yamuna River, Delhi. *Afr. J. Microbiol. Res.* 10, 127–137. <https://doi.org/10.5897/AJMR2015.7769>
- Neubauer, U., Furrer, G., Kayser, A., Schulin, R., 2000. Siderophores, NTA, and Citrate: Potential Soil Amendments to Enhance Heavy Metal Mobility in Phytoremediation. *Int. J. Phytoremediation* 2, 353–368. <https://doi.org/10.1080/15226510008500044>
- Nguyen, L.-T., Schmidt, H.A., von Haeseler, A., Minh, B.Q., 2015. IQ-TREE: A Fast and Effective Stochastic Algorithm for Estimating Maximum-Likelihood Phylogenies. *Mol. Biol. Evol.* 32, 268–274. <https://doi.org/10.1093/molbev/msu300>
- Nies, D.H., 2003. Efflux-mediated heavy metal resistance in prokaryotes. *FEMS Microbiol. Rev.* 27, 313–339. [https://doi.org/10.1016/S0168-6445\(03\)00048-2](https://doi.org/10.1016/S0168-6445(03)00048-2)

- Nishino, K., Nikaido, E., Yamaguchi, A., 2007. Regulation of Multidrug Efflux Systems Involved in Multidrug and Metal Resistance of *Salmonella enterica* Serovar Typhimurium. *J. Bacteriol.* 189, 9066–9075. <https://doi.org/10.1128/JB.01045-07>
- Nokman, W., Benlucankar, V., Maria Packiam, S., Vincent, S., 2019. Screening and molecular identification of heavy metal resistant *Pseudomonas putida* S4 in tannery effluent wastewater. *Biocatal. Agric. Biotechnol.* 18, 101052. <https://doi.org/10.1016/j.bcab.2019.101052>
- Oladipo, O.G., Ezeokoli, O.T., Maboeta, M.S., Bezuidenhout, J.J., Tiedt, L.R., Jordaan, A., Bezuidenhout, C.C., 2018. Tolerance and growth kinetics of bacteria isolated from gold and gemstone mining sites in response to heavy metal concentrations. *J. Environ. Manage.* 212, 357–366. <https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2018.01.038>
- Olanrewaju, O.S., Glick, B.R., Babalola, O.O., 2017. Mechanisms of action of plant growth promoting bacteria. *World J. Microbiol. Biotechnol.* 33, 197. <https://doi.org/10.1007/s11274-017-2364-9>
- Ormeño-Orrillo, E., Servín-Garcidueñas, L.E., Rogel, M.A., González, V., Peralta, H., Mora, J., Martínez-Romero, J., Martínez-Romero, E., 2015. Taxonomy of rhizobia and agrobacteria from the Rhizobiaceae family in light of genomics. *Syst. Appl. Microbiol.* 38, 287–291. <https://doi.org/10.1016/j.syapm.2014.12.002>
- Osman, G.E.H., Abulreesh, H.H., Elbanna, K., Shaaban, M.R., Samreen, S., Ahmad, I., 2019. Recent Progress in Metal-Microbe Interactions: Prospects in Bioremediation. *J. Pure Appl. Microbiol.* 13, 13–26. <https://doi.org/10.22207/JPAM.13.1.02>
- Oves, M., Khan, M.S., Qari, H.A., 2017. Ensifer adhaerens for heavy metal bioaccumulation, biosorption, and phosphate solubilization under metal stress condition. *J. Taiwan Inst. Chem. Eng.* 80, 540–552. <https://doi.org/10.1016/j.jtice.2017.08.026>
- Pal, C., Bengtsson-Palme, J., Kristiansson, E., Larsson, D.G.J., 2015. Co-occurrence of resistance genes to antibiotics, biocides and metals reveals novel insights into their co-selection potential. *BMC Genomics* 16, 964. <https://doi.org/10.1186/s12864-015-2153-5>
- Pal, C., Bengtsson-Palme, J., Rensing, C., Kristiansson, E., Larsson, D.G.J., 2014. BacMet: antibacterial biocide and metal resistance genes database. *Nucleic Acids Res.* 42, D737–D743. <https://doi.org/10.1093/nar/gkt1252>
- Perry, E.K., Newman, D.K., 2019. The transcription factors ActR and SoxR differentially affect the phenazine tolerance of *Agrobacterium tumefaciens*. *Mol. Microbiol.* 112, 199–218. <https://doi.org/10.1111/mmi.14263>
- Poole, K., 2005. Efflux-mediated antimicrobial resistance. *J. Antimicrob. Chemother.* 56, 20–51. <https://doi.org/10.1093/jac/dki171>
- Prasad, M.N.V., 2004. Heavy Metal Stress in Plants: From Biomolecules to Ecosystems. Springer Berlin Heidelberg, Berlin, Heidelberg.
- Prasad, M.N.V., Freitas, H., Fraenzle, S., Wuenschmann, S., Markert, B., 2010. Knowledge explosion in phytotechnologies for environmental solutions. *Environ. Pollut.* 158, 18–23. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2009.07.038>
- Quast, C., Pruesse, E., Yilmaz, P., Gerken, J., Schweer, T., Yarza, P., Peplies, J., Glöckner, F.O., 2012. The SILVA ribosomal RNA gene database project: improved data processing and web-based tools. *Nucleic Acids Res.* 41, D590–D596. <https://doi.org/10.1093/nar/gks1219>
- Rajkumar, M., Ae, N., Prasad, M.N.V., Freitas, H., 2010. Potential of siderophore-producing bacteria for improving heavy metal phytoextraction. *Trends Biotechnol.* 28, 142–149. <https://doi.org/10.1016/j.tibtech.2009.12.002>
- Ramírez-Díaz, M.I., Díaz-Pérez, C., Vargas, E., Riveros-Rosas, H., Campos-García, J., Cervantes, C., 2008. Mechanisms of bacterial resistance to chromium compounds. *BioMetals* 21, 321–332. <https://doi.org/10.1007/s10534-007-9121-8>
- Rangel, W.M., Thijs, S., Janssen, J., Oliveira Longatti, S.M., Bonaldi, D.S., Ribeiro, P.R.A., Jambon, I., Eevers, N., Weyens, N., Vangronsveld, J., Moreira, F.M.S., 2017. Native

- rhizobia from Zn mining soil promote the growth of *Leucaena leucocephala* on contaminated soil. *Int. J. Phytoremediation* 19, 142–156. <https://doi.org/10.1080/15226514.2016.1207600>
- Rawat, P., Das, S., Shankhdhar, D., Shankhdhar, S.C., 2021. Phosphate-Solubilizing Microorganisms: Mechanism and Their Role in Phosphate Solubilization and Uptake. *J. Soil Sci. Plant Nutr.* 21, 49–68. <https://doi.org/10.1007/s42729-020-00342-7>
- Reeve, W., O'Hara, G., Chain, P., Ardley, J., Bräu, L., Nandesena, K., Tiwari, R., Malfatti, S., Kiss, H., Lapidus, A., Copeland, A., Nolan, M., Land, M., Ivanova, N., Mavromatis, K., Markowitz, V., Kyrpides, N., Melino, V., Denton, M., Yates, R., Howieson, J., 2010. Complete genome sequence of *Rhizobium leguminosarum* bv trifolii strain WSM2304, an effective microsymbiont of the South American clover *Trifolium polymorphum*. *Stand. Genomic Sci.* 2, 66–76. <https://doi.org/10.4056/sigs.44642>
- Reeve, W.G., Tiwari, R.P., Kale, N.B., Dilworth, M.J., Glenn, A.R., 2002. ActP controls copper homeostasis in *Rhizobium leguminosarum* bv. viciae and *Sinorhizobium meliloti* preventing low pH-induced copper toxicity. *Mol. Microbiol.* 43, 981–991. <https://doi.org/10.1046/j.1365-2958.2002.02791.x>
- Rissman, A.I., Mau, B., Biehl, B.S., Darling, A.E., Glasner, J.D., Perna, N.T., 2009. Reordering contigs of draft genomes using the Mauve Aligner. *Bioinformatics* 25, 2071–2073. <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/btp356>
- Rodríguez, H., Fraga, R., Gonzalez, T., Bashan, Y., 2006. Genetics of phosphate solubilization and its potential applications for improving plant growth-promoting bacteria. *Plant Soil* 287, 15–21. <https://doi.org/10.1007/s11104-006-9056-9>
- Rosariastuti, R., Mahardika, D.P., Supriyadi, Purwanto, Hartati, S., 2019. Soil Bioremediation of lead (Pb) polluted paddy field using Mendong (*Fimbristylis globulosa*), *Rhizobium* Sp₃, compost, and inorganic fertilizer. *IOP Conf. Ser. Earth Environ. Sci.* 230, 012014. <https://doi.org/10.1088/1755-1315/230/1/012014>
- Rosariastuti, R., Sudadi, Supriyadi, Prasasti, F.S., 2020. A bioremediation process based on the application of *Rhizobium* sp. I3 and Ramie (*Boehmeria nivea* L.) in lead contaminated soils. *J. Cultiv. Plants* 40-48 Seiten. <https://doi.org/10.5073/JFK.2020.02-03.02>
- Rubio-Sanz, L., Brito, B., Palacios, J., 2018. Analysis of metal tolerance in *Rhizobium leguminosarum* strains isolated from an ultramafic soil. *FEMS Microbiol. Lett.* 365. <https://doi.org/10.1093/femsle/fny010>
- Rubio-Sanz, L., Prieto, R.I., Imperial, J., Palacios, J.M., Brito, B., 2013. Functional and Expression Analysis of the Metal-Inducible *dmeRF* System from *Rhizobium leguminosarum* bv. viciae. *Appl. Environ. Microbiol.* 79, 6414–6422. <https://doi.org/10.1128/AEM.01954-13>
- Ruiz-Berraquero, F., Ramos-Cormenzana, A., 1977. Relationship between amino acid production and phosphate-dissolving capacity of bacteria. *Folia Microbiol. (Praha)* 22, 40–42. <https://doi.org/10.1007/BF02876992>
- Rupal K, S., Raval, V.H., Saraf, M., 2020. Biosynthesis and purification of indole-3-acetic acid by halotolerant rhizobacteria isolated from Little Runn of Kachchh. *Biocatal. Agric. Biotechnol.* 23, 101435. <https://doi.org/10.1016/j.bcab.2019.101435>
- Saadani, O., Fatnassi, I.C., Chiboub, M., Abdelkrim, S., Barhoumi, F., Jebara, M., Jebara, S.H., 2016. In situ phytostabilisation capacity of three legumes and their associated Plant Growth Promoting Bacteria (PGPBs) in mine tailings of northern Tunisia. *Ecotoxicol. Environ. Saf.* 130, 263–269. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2016.04.032>
- Samago, T.Y., Anniye, E.W., Dakora, F.D., 2018. Grain yield of common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) varieties is markedly increased by rhizobial inoculation and phosphorus application in Ethiopia. *Symbiosis* 75, 245–255. <https://doi.org/10.1007/s13199-017-0529-9>
- Sankoff, D., 2003. Rearrangements and chromosomal evolution. *Curr. Opin. Genet. Dev.* 13, 583–587. <https://doi.org/10.1016/j.gde.2003.10.006>

- Santoyo, G., Orozco-Mosqueda, M., Valdez-Martínez, G., Orozco-Mosqueda, M. del C., 2015. Induction of the homologous recombination system by hexavalent chromium in *Rhizobium etli*. *Microbiol. Res.* 170, 223–228. <https://doi.org/10.1016/j.micres.2014.06.003>
- Saranya, K., Sundaramanickam, A., Shekhar, S., Meena, M., Sathishkumar, R.S., Balasubramanian, T., 2018. Biosorption of multi-heavy metals by coral associated phosphate solubilising bacteria *Cronobacter muytjensii* KSCAS2. *J. Environ. Manage.* 222, 396–401. <https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2018.05.083>
- Schmieder, R., Edwards, R., 2011. Quality control and preprocessing of metagenomic datasets. *Bioinformatics* 27, 863–864. <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/btr026>
- Schwarz, S., Kehrenberg, C., Doublet, B., Cloeckert, A., 2004. Molecular basis of bacterial resistance to chloramphenicol and florfenicol. *FEMS Microbiol. Rev.* 28, 519–542. <https://doi.org/10.1016/j.femsre.2004.04.001>
- Seemann, T., 2014. Prokka: rapid prokaryotic genome annotation. *Bioinformatics* 30, 2068–2069. <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/btu153>
- Seiler, C., Berendonk, T.U., 2012. Heavy metal driven co-selection of antibiotic resistance in soil and water bodies impacted by agriculture and aquaculture. *Front. Microbiol.* 3. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2012.00399>
- Sharma, B., Shukla, P., 2021a. A comparative analysis of heavy metal bioaccumulation and functional gene annotation towards multiple metal resistant potential by *Ochrobactrum intermedium* BPS-20 and *Ochrobactrum ciceri* BPS-26. *Bioresour. Technol.* 320, 124330. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2020.124330>
- Sharma, B., Shukla, P., 2021b. A comparative analysis of heavy metal bioaccumulation and functional gene annotation towards multiple metal resistant potential by *Ochrobactrum intermedium* BPS-20 and *Ochrobactrum ciceri* BPS-26. *Bioresour. Technol.* 320, 124330. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2020.124330>
- Spaepen, S., Vanderleyden, J., Remans, R., 2007. Indole-3-acetic acid in microbial and microorganism-plant signaling. *FEMS Microbiol. Rev.* 31, 425–448. <https://doi.org/10.1111/j.1574-6976.2007.00072.x>
- Suryawati, B., 2018. Zinc homeostasis mechanism and its role in bacterial virulence capacity. Presented at the THE 8TH ANNUAL BASIC SCIENCE INTERNATIONAL CONFERENCE: Coverage of Basic Sciences toward the World's Sustainability Challenges, East Java, Indonesia, p. 070021. <https://doi.org/10.1063/1.5062819>
- Tahir, U., Sohail, S., Khan, U.H., 2017. Concurrent uptake and metabolism of dyestuffs through bio-assisted phytoremediation: a symbiotic approach. *Environ. Sci. Pollut. Res.* 24, 22914–22931. <https://doi.org/10.1007/s11356-017-0029-8>
- Tang, G., Wang, S., Lu, D., Huang, L., Li, N., Luo, L., 2017. Two-component regulatory system ActS/ActR is required for *Sinorhizobium meliloti* adaptation to oxidative stress. *Microbiol. Res.* 198, 1–7. <https://doi.org/10.1016/j.micres.2017.01.005>
- Tatusov, R.L., 2000. The COG database: a tool for genome-scale analysis of protein functions and evolution. *Nucleic Acids Res.* 28, 33–36. <https://doi.org/10.1093/nar/28.1.33>
- Thompson, C.C., Chimento, L., Edwards, R.A., Swings, J., Stackebrandt, E., Thompson, F.L., 2013. Microbial genomic taxonomy. *BMC Genomics* 14, 913. <https://doi.org/10.1186/1471-2164-14-913>
- Trimble, M.J., Mlynářčík, P., Kolář, M., Hancock, R.E.W., 2016. Polymyxin: Alternative Mechanisms of Action and Resistance. *Cold Spring Harb. Perspect. Med.* 6, a025288. <https://doi.org/10.1101/cshperspect.a025288>
- Udumula, V., Ham, Y.W., Fosso, M.Y., Chan, K.Y., Rai, R., Zhang, J., Li, J., Chang, C.-W.T., 2013. Investigation of antibacterial mode of action for traditional and amphiphilic aminoglycosides. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* 23, 1671–1675. <https://doi.org/10.1016/j.bmcl.2013.01.073>

- Ullah, A., Heng, S., Munis, M.F.H., Fahad, S., Yang, X., 2015. Phytoremediation of heavy metals assisted by plant growth promoting (PGP) bacteria: A review. *Environ. Exp. Bot.* 117, 28–40. <https://doi.org/10.1016/j.envexpbot.2015.05.001>
- Upadhyay, N., Vishwakarma, K., Singh, J., Mishra, M., Kumar, V., Rani, R., Mishra, R.K., Chauhan, D.K., Tripathi, D.K., Sharma, S., 2017. Tolerance and Reduction of Chromium(VI) by *Bacillus* sp. MNU16 Isolated from Contaminated Coal Mining Soil. *Front. Plant Sci.* 8, 778. <https://doi.org/10.3389/fpls.2017.00778>
- Vargas, L.K., Volpiano, C.G., Lisboa, B.B., Giongo, A., Beneduzi, A., Passaglia, L.M.P., 2017. Potential of Rhizobia as Plant Growth-Promoting Rhizobacteria, in: Zaidi, A., Khan, M.S., Musarrat, J. (Eds.), *Microbes for Legume Improvement*. Springer International Publishing, Cham, pp. 153–174. https://doi.org/10.1007/978-3-319-59174-2_7
- Verma, S., Kuila, A., 2019. Bioremediation of heavy metals by microbial process. *Environ. Technol. Innov.* 14, 100369. <https://doi.org/10.1016/j.eti.2019.100369>
- Vinuesa, P., Ochoa-Sánchez, L.E., Contreras-Moreira, B., 2018. GET_PHYLOMARKERS, a Software Package to Select Optimal Orthologous Clusters for Phylogenomics and Inferring Pan-Genome Phylogenies, Used for a Critical Geno-Taxonomic Revision of the Genus *Stenotrophomonas*. *Front. Microbiol.* 9, 771. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2018.00771>
- Viti, C., Marchi, E., Decorosi, F., Giovannetti, L., 2014. Molecular mechanisms of Cr(VI) resistance in bacteria and fungi. *FEMS Microbiol. Rev.* 38, 633–659. <https://doi.org/10.1111/1574-6976.12051>
- Wani, P.A., Khan, M.S., Zaidi, A., 2008. Effects of Heavy Metal Toxicity on Growth, Symbiosis, Seed yield and Metal Uptake in Pea Grown in Metal Amended Soil. *Bull. Environ. Contam. Toxicol.* 81, 152–158. <https://doi.org/10.1007/s00128-008-9383-z>
- Wei, Y., Zhao, Y., Shi, M., Cao, Z., Lu, Q., Yang, T., Fan, Y., Wei, Z., 2018. Effect of organic acids production and bacterial community on the possible mechanism of phosphorus solubilization during composting with enriched phosphate-solubilizing bacteria inoculation. *Bioresour. Technol.* 247, 190–199. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2017.09.092>
- Wiener, P., 1996. Experimental studies on the ecological role of antibiotic production in bacteria. *Evol. Ecol.* 10, 405–421. <https://doi.org/10.1007/BF01237726>
- Wu, S., Xia, X., Wang, D., Zhou, Z., Wang, G., 2019. Gene function and expression regulation of RuvRCAB in bacterial Cr(VI), As(III), Sb(III), and Cd(II) resistance. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 103, 2701–2713. <https://doi.org/10.1007/s00253-019-09666-6>
- Xia, X., Wu, S., Zhou, Z., Wang, G., 2021. Microbial Cd(II) and Cr(VI) resistance mechanisms and application in bioremediation. *J. Hazard. Mater.* 401, 123685. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2020.123685>
- Yarza, P., Yilmaz, P., Pruesse, E., Glöckner, F.O., Ludwig, W., Schleifer, K.-H., Whitman, W.B., Euzéby, J., Amann, R., Rosselló-Móra, R., 2014. Uniting the classification of cultured and uncultured bacteria and archaea using 16S rRNA gene sequences. *Nat. Rev. Microbiol.* 12, 635–645. <https://doi.org/10.1038/nrmicro3330>
- Young, J.P.W., 2016. Bacteria Are Smartphones and Mobile Genes Are Apps. *Trends Microbiol.* 24, 931–932. <https://doi.org/10.1016/j.tim.2016.09.002>