



# Remoción de mercurio por bacterias nativas aislada de relaves mineros

Mercury removal by native bacteria isolated from mine tailings

Huayhua-Mamani, Lisseth Jazmin<sup>1\*</sup>

Condori-Pari, Eddy Denilson<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Universidad Peruana Unión, Juliaca, Perú

Recibido: 13 Ago. 2025 | Aceptado: 13 Oct. 2025 | Publicado: 20 Ene. 2026

Autor de correspondencia\*: lisseth.huayhua@upeu.edu.pe

Como citar este artículo: Huayhua-Mamani, L. J. & Condori-Pari, E. D. (2026). Remoción de mercurio por bacterias nativas aislada de relaves mineros. *Revista Amazónica de Ciencias Ambientales y Ecológicas*, 5(1), e1134. <https://doi.org/10.51252/reacae.v5i1.e1134>

## RESUMEN

La contaminación por mercurio en zonas mineras representa un grave problema ambiental que afecta la salud humana y altera las propiedades fisicoquímicas y microbiológicas del suelo, facilitando la entrada de compuestos tóxicos como el metilmercurio en la cadena trófica. Ante esta problemática, se evaluó la eficiencia de remoción de mercurio mediante bacterias nativas aisladas de relaves mineros. De cinco cepas obtenidas, se seleccionaron dos (PA-RM01 y PA-RM03) por sus adaptaciones al ambiente contaminado y similitudes con el género *Pseudomonas*. Estas cepas fueron aplicadas en distintas dosis a muestras de 50 g de relaves, incubadas a 37°C por 24, 48 y 72 horas, incluyendo un control sin bacterias. El crecimiento bacteriano estuvo limitado por la disponibilidad inicial de materia orgánica y nutrientes. El tratamiento más eficaz fue el T2 (PA-RM01 con 1,67 ml), que logró una remoción de mercurio del 80,48 % a las 72 horas. Los resultados destacan el potencial de las bacterias nativas como una estrategia sostenible y efectiva para la biorremediación de suelos contaminados con mercurio en contextos mineros.

**Palabras clave:** bacterias; metilmercurio; pseudomonas; relave; remoción

## ABSTRACT

Mercury contamination in mining areas represents a serious environmental problem that affects human health and alters the physicochemical and microbiological properties of soil, allowing toxic compounds such as methylmercury to enter the food chain. In response to this issue, the efficiency of mercury removal was evaluated using native bacteria isolated from mining tailings. Of the five isolated strains, two (PA-RM01 and PA-RM03) were selected due to their adaptations to the contaminated environment and their similarities to the *Pseudomonas* genus. These strains were applied in different doses to 50 g samples of tailings, incubated at 37°C for 24, 48, and 72 hours, including a control without bacteria. Bacterial growth was limited by the initial availability of organic matter and nutrients. The most effective treatment was T2 (PA-RM01 with 1.67 ml), which achieved a mercury removal rate of 80.48% after 72 hours. The results highlight the potential of native bacteria as a sustainable and effective strategy for the bioremediation of mercury-contaminated soils in mining contexts.

**Keywords:** bacteria; methylmercury; pseudomonas; tailings; removal



## 1. INTRODUCCIÓN

La mayor fuente de contaminación por mercurio (Hg) es la minería artesanal, que representa el 20% de la producción mundial de oro (Au) (Al-Ansari et al., 2021; Nguyen et al., 2021; Francisco López et al., 2022). El uso de este contaminante en la extracción de Au tiene un impacto de 10 a 19 millones de personas en 70 países (Rwiza et al., 2023). Por cada 1 gramo de oro producido, se desechan aproximadamente 0,5 a 1 gramos de mercurio al medio ambiente; esto equivale a 350 toneladas de Hg a la atmósfera y 300 a 700 toneladas a los sistemas acuáticos y a la corteza terrestre (Bauch et al., 2022). La liberación de Hg en forma de relave minero supera las 1000 toneladas por año (Pribil et al., 2020).

El Hg es el tercer metal más tóxico de la tierra (Driscoll et al., 2013; Molina et al., 2015), que se encuentra en estado líquido a temperatura ambiente (Bjørklund et al., 2017) y es altamente volátil (Rice et al., 2014), y puede ser encontrado en el aire, agua y suelo (Li et al., 2020). El mercurio elemental ( $Hg^0$ ) es estable, pero sufre reacciones químicas, biológicas y fotoquímicas (Mantey et al., 2020); y la forma mercuriosa ( $Hg^{1+}$ ) no es estable, siendo propenso a la desproporción (Malik & Aleem, 2018); la forma inorgánica ( $Hg^{2+}$ ) puede transformarse en formas orgánicas (metilmercurio) a través de procesos biológicos y abióticos (Rodolfo et al., 2017).

Los niveles elevados de metales tóxicos pueden causar contaminación ambiental (Komnitsas & Modis, 2019; Muñoz et al., 2019), poner en riesgo la salud humana (ONU, 2015; Nguyen et al., 2021; Wang et al., 2022) y la vida silvestre (Dietz et al., 2019). Los metales tóxicos se bioacumulan en los organismos (Cattani et al., 2019) y se biomagnifican a medida que aumenta el nivel trófico de la cadena alimenticia (MacLehose et al., 2019; Mantey et al., 2020; Bauch et al., 2022).

La naturaleza neurotóxica, lipofílica y de bioacumulación de compuestos orgánicos del metilmercurio ( $CH_3Hg^+$ ), aumentan el riesgo en la salud humana y sobre los ecosistemas (Mohan et al., 2021; Song et al., 2021), por los efectos adversos en el sistema nervioso, cardíaco, reproductor, respiratorio e inmunológico (Xiang et al., 2020; Ge et al., 2022).

La desorción térmica es un método fisicoquímico de remediación de Hg que realiza la separación física del suelo-contaminante al aumentar su temperatura en 600-800 °C, convirtiendo el Hg a estado gaseoso. Por otro lado, el uso de esta técnica implica un alto costo de energía (Kucharski et al., 2005). El lavado de suelo utiliza una solución combinada de productos químicos  $H_2O_2$ ,  $Na_2S_2O_3$  y  $Na_2S$  que transforma el Hg en sales de mercurio, complejos solubles de Hg, precipitación y recuperación de complejos de Hg, pero tiene como inconveniente el consumo elevado de agua y los contaminantes secundarios de arcilla y ácidos húmicos (Ray & Selvakumar, 2000). Los métodos fisicoquímicos se consideran ineficientes debido a la gran cantidad de biomasa cargada de Hg producida y los altos costos (Dermont et al., 2008; Mahbub et al., 2017a; Yao et al., 2023).

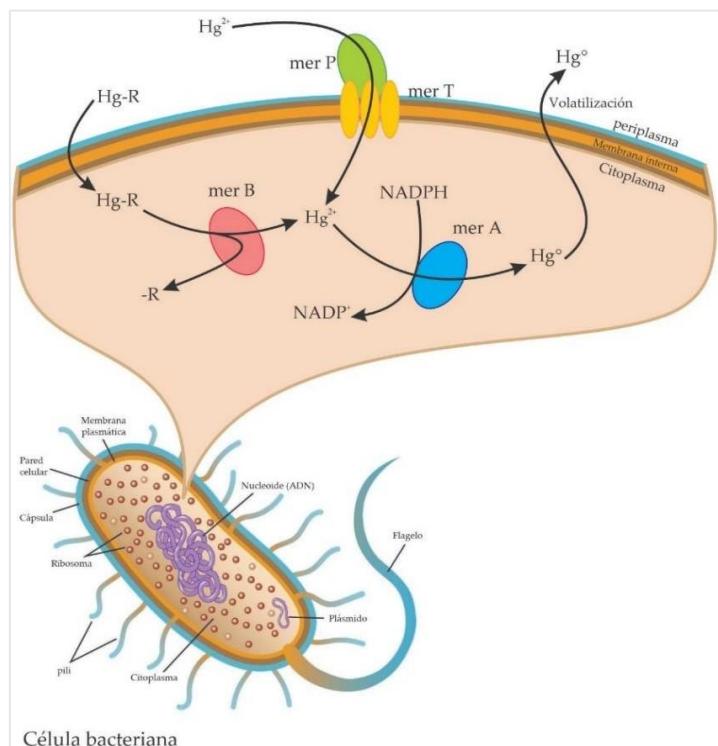
Por otro lado, se conoce de tratamientos ecoamigables con menor impacto ambiental como la fitorremediación, que utiliza las plantas para inmovilizar, estabilizar, extraer, descomponer o disminuir la toxicidad del contaminante (Wang & Delavar, 2023); la biorremediación hace el uso de los microorganismos, los que demostraron tener la capacidad de tolerar concentraciones altas de metales tóxicos (Medvinsky-Roa & Vallejos, 2015), ayudando en su neutralización, eliminación y/o transformación por su actividad metabólica (Rwiza et al., 2023), siendo una alternativa viable por la eficiencia de los tratamientos aplicados en agua, suelo con costos accesibles (Besnard et al., 2021).

Los microorganismos del suelo contribuyen en la reducción de diferentes formas de Hg en el suelo (Nguyen et al., 2021), las bacterias resistentes al Hg pueden transportar compuestos de Hg al interior de la célula y reducir tanto el  $Hg^{2+}$  orgánico como el inorgánico a  $Hg^0$  elemental fuera de la célula (McCarthy et al., 2017). La cepa bacteriana de *Sphingopyxis sp. SE2* aislado de suelo contaminado con Hg mostró una disminución

del metal en un 56% en un periodo de 6 horas a través de la reducción enzimática de  $Hg^{2+}$  (Mahbub et al., 2017). El uso de *Penicillium spp. DC-F11* aisladas de suelo contaminado con Hg (II), mostraron la remoción de Hg en un 50% - 84% de un medio líquido SAB en condiciones de cultivo oscuro estático o agitado dentro de las 48h (Chang et al., 2020); la cepa bacteriana de *Pseudomonas sp.* aisladas de un campo de hortalizas del distrito de Fengxian, Shanghái, China a una dosis de 100L/hm<sup>2</sup> mostró una reducción del 96% a los 8 días de prueba (Shi et al., 2019).

Las bacterias que poseen el operón Mer en su genoma, les proporcionan resistencia bacteriana al mercurio orgánico e inorgánico mediante la acción de los genes funcionales el gen MerA y MerB que codifican las proteínas del ion mercúrico reductasa y la proteína liasa organomercuriales respectivamente (Mantey et al., 2020; Xiang et al., 2020; Joorabian et al., 2023). La liasa con ayuda de la enzima reductasa son responsables de la reducción de los organomercuriales altamente tóxicos como el metilmercurio y el acetato de fenilmercurio en mercurio elemental volátil casi no tóxicos (Mahbub et al., 2017).

Se inicia con la unión del  $Hg^{2+}$  a un par de residuos de cisteína en la proteína MerP ubicada en el periplasma. Luego se transfiere a un par de residuos de cisteína en MerT, una proteína de la membrana citoplasmática y finalmente a un par de cisteínas en el sitio activo de MerA, que posteriormente se reduce mediante un mecanismo dependiente de Nicotiamida Adenina Dinucleotido Fosfato (NADPH). El operón Mer de amplio espectro que contiene MerB codifica la enzima órgano- mercurial liasa que rompe el covalente carbono-mercurio enlace presente en el Hg orgánico transportado al interior de la célula por MerE o actividad MerG donde  $Hg^{2+}$  es reducido a  $Hg^0$  por el enzima mercúrico reductasa (MerA) con compuestos NADPH (Dash & Das, 2012; Mahbub et al., 2017a; 2017b; Bourdineaud et al., 2020; Chang et al., 2020). Esto se puede apreciar de forma gráfica en la (Figura 1).



**Figura 1.** Esquematización del operón Mer en la bacteria. "MerA: Hg reductasa; MerB: liasa organomercúrica; MerT: Transportador de Hg; MerP: Transporte periplasmico de Hg; MerR: regulador de operón; MerD: regulación de transporte. Adaptado de González-Reguero et al. 2023

La actividad minera informal de extracción de oro produce relaves mineros no tratados que causan problemas ambientales y de salud pública. El objetivo de este estudio fue evaluar la eficiencia de remoción de Hg mediante la aplicación de bacterias nativas aisladas de relaves mineros.

## 2. MATERIALES Y MÉTODOS

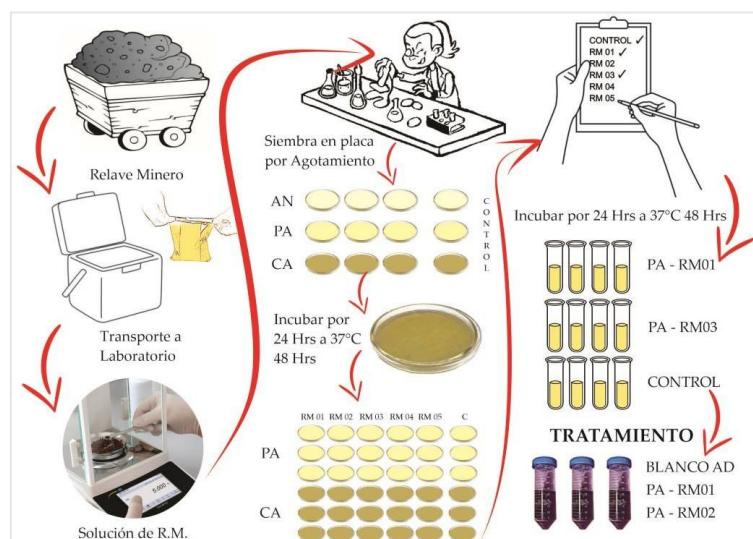
### Toma de muestras de relaves mineros

Sé tomó dos muestra de relave minero del distrito de Ananea, provincia de San Antonio de Putina de la Región de Puno-Perú en las siguientes coordenadas S14.67484°, W69.56294°, 4646 msnm, de un circuito cerrado del proceso de amalgamación; las muestras se recolectaron en bolsas con cierre hermético con un peso aproximado de 500g, se etiquetaron y trasladaron en cadena al frío (Rakhmanova et al., 2021) según lo indicado por la guía para el muestreo de suelos D.S.N°002-2013- MINAM (Ministerio del Ambiente, 2014). Luego, se trasladaron a un laboratorio para someterlos a un análisis físico-químico y microbiológico, siguiendo el protocolo establecido por la Norma Técnica Peruana 339.150 (Indecopi, 2001). Además, se caracterizó en los siguientes parámetros: pH, CE, N, P, K, materia Orgánica (MO), clase estructural según el manual de procedimientos de los análisis de suelos y agua con fines de riego (Ministerio de Agricultura y Riego, 2017).

### Aislamiento e identificación microbiológica

Para el aislamiento microbiológico de las bacterias nativas se utilizó la metodología de (Medvinsky - Roa & Vallejos, 2015). Se pesó una muestra de 5g de relave minero diluyéndolo en 50 ml de agua destilada, para su fácil homogenización y posterior reposo por un tiempo de 10 min, con la solución obtenida se procedió a realizar siembras en los medios de cultivos (Agar Nutritivo y Pseudomonas Agar), los que se incubaron a 37 °C por 24 horas (Kensa, 2011; Garcha et al., 2016). Posteriormente se verificó el crecimiento microbiano existente, seleccionando colonias de diferentes morfologías para su purificación (Vermote et al., 2023), a través de la técnica de agotamiento en placa (Cetrimida Agar y Pseudomonas Agar), las colonias puras obtenidas fueron sembradas en caldo Luria, para su posterior uso en los tratamientos de relaves mineros (Tapia-Vázquez et al., 2020).

Seguidamente, la identificación microbiológica de las cepas bacterianas, se realizó por la descripción cualitativa y pruebas bioquímicas (Hood & Zottola, 1997; Martínez-Sánchez et al., 1998; Shahzadi et al., 2019).



**Figura 2. Esquematización del aislamiento bacteriano de relaves mineros**

## Dosificación microbiana para tratamiento

Se utilizaron tubos cónicos de 50 ml, en los que se dispusieron 50g de relave minero con un pH inicial de 7,55, las muestras fueron incubadas (Incubadora Incubig-TFT) a una temperatura de 37 °C y se realizaron mediciones a las 24, 48 y 72 horas. En el experimento, se conformaron dos grupos de tratamientos de las cepas bacterianas PA-RM01 y PA-RM03, se dosificó a cada tratamiento una concentración de dosis bacteriana, con excepción del blanco control, así mismo, se añadió 10 ml de agua destilada a todos los ensayos experimentales; además, cada tratamiento se realizó por triplicado (Tabla 1).

**Tabla 1.**

*Codificación de Tratamientos aplicados para la remoción de mercurio en relaves mineros*

<b>Tratamientos</b>	
T1	Blanco AD
T2	PA-RM 01 1,67ml
T3	PA-RM 01 2,5 ml
T4	PA-RM 01 3,3ml
T5	PA-RM 03 1,67ml
T6	PA-RM 03 2,5 ml
T7	PA-RM 03 3,3ml

## Análisis fisicoquímicos

La medición de pH se realizó con el multiparámetro (Smart Sensor PH-328) y la concentración de Hg se cuantificó a través del método de digestión ácida - espectrofotometría de absorción atómica (Nagahiro et al., 1984; Custodio et al., 2021).

## Análisis estadístico

Los datos experimentales fueron analizados mediante el uso del paquete estadístico SPSS versión 16.0 para Windows. El diseño experimental empleado fue el Diseño de Bloques Completos al Azar (DBCA), donde las pruebas estadísticas se realizaron con el Método de Análisis de Varianza (ANOVA) para evaluar los efectos de las bacterias nativas sobre el índice de pH y la remoción del mercurio sobre las muestras. Antes de realizar el análisis de varianza, se tuvo que verificar la normalidad del conjunto de datos manejados en la experimentación mediante la prueba de Shapiro-Wilk y la homogeneidad de las varianzas con la prueba estadística de Levene. Las pruebas estadísticas se realizaron con un nivel de significancia ( $\alpha$ ) del 95%. Para los casos donde se demuestra significancias estadísticas, se seleccionaron los test de comparaciones múltiples de Tukey y Duncan, para determinar los mejores resultados del parámetro de evaluación.

Para procesar los resultados se realizaron graficas de barras con el uso del programa Excel, utilizando el promedio de cada parámetro analizado, de esta forma se pudo conocer la variación de los parámetros a diferentes tiempos de tratamiento.

## 3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### 3.1. Caracterización del relave minero

El análisis mecánico del relave minero mostró una composición del 93% de arena, un 5% de arcilla y un 2% de limo, el que indica una clasificación estructural correspondiente al tipo de suelo arena. La presencia de materia orgánica en la muestra fue del 0,60% y el contenido de Nitrógeno Total del 0,03%. El pH del relave minero mostró un valor de 7,55, y la conductividad eléctrica de 0,20 mS/cm. Además, se detectaron concentraciones de macronutrientes de 1,20 ml/L de fósforo y 10 ml/L de potasio en la muestra analizada.

La composición del relave minero se clasifica como un suelo arenoso, teniendo influencia en la retención de agua y la disponibilidad de oxígeno, favoreciendo el desarrollo de las bacterias (Benslama & Boulahrouf, 2016; Zhao et al., 2022).

El contenido de 0,60% de materia orgánica, hace referencia a presencia de cualquier sustancia que contenga carbono (restos de plantas, microorganismos muertos, etc.) la que es favorable para el metabolismo bacteriano al convertirse en energía (Oraegbunam et al., 2022; Zhang et al., 2024).

El nitrógeno disponible en los suelos es un elemento esencial para la síntesis de proteína que ayudan en el crecimiento y reproducción bacteriana, así mismo, el nitrógeno es un componente clave de nucleótidos, que son los bloques de construcción de los ácidos nucleicos (ADN y ARN), fundamentales para la transmisión de información genética y la replicación celular (Welman-Purchase et al., 2024).

El pH de 7,55 sugiere que la muestra es un medio ligeramente alcalino. La conductividad eléctrica mide la capacidad para conducir corriente eléctrica y puede estar relacionada con la presencia de sales disueltas, influyendo en la viabilidad del desarrollo de cepas bacterianas sensibles a concentraciones altas de sales minerales (Yan et al., 2023; Cheng et al., 2024).

El fósforo es un macronutriente esencial para el metabolismo bacteriano, síntesis de ácidos nucleicos, estructura de membranas, regulación de procesos celulares, además, es parte esencial del ATP que proporciona energía a la célula bacteriana (West et al., 1986; Ogunremi et al., 2023).

En el Precursor de la vía pentosa fosfato, el fosforo está involucrado en la transferencia de grupos fosfato, esenciales para actividades enzimáticas y de transferencia energética en forma de NADPH (Wood, 1985). Por consiguiente, de la homeostasis celular bacteriana (Patel et al., 2022).

El potasio es un catión esencial para el desarrollo y supervivencia microbiana, ayudando en el equilibrio osmótico bacteriano, evitando perdida excesiva de agua y manteniendo la integridad celular, por consiguiente, ayuda en las actividades enzimáticas, regulación del pH intracelular y en la regulación osmótica de la presión Turgor que es fundamental para la forma y rigidez de la célula bacteriana (Ghosh et al., 2023). Encontrándose en el espacio periplásmico, también, en el citoplasma en forma de bombas de potasio, que es fundamental para la homeostasis iónica, la regulación osmótica, la estabilidad estructural y la actividad enzimática (Han et al., 2023). Además, las bacterias tienen la capacidad de regular la concentración de potasio, y éste es fundamental para su adaptabilidad en entornos adversos (supervivencia en diversos nichos ecológicos) (Han et al., 2024).

### 3.2. Análisis microbiológico

Los morfotipos encontrados en el aislamiento microbiológico fueron cinco, de los que se seleccionaron dos, con los siguientes códigos PA-RM01 y PA-RM03, por su capacidad de subsistencia a ambientes adversos (presencia de mercurio); los que se aplicaron en la dosificación microbiana del tratamiento de relaves mineros.

La Tabla 2 exhibe diferencias en las características morfológicas de las cepas bacterianas PA-RM01 y PA-RM03, mostrando variaciones en el tamaño y pigmentación de las colonias después del tratamiento, observando de forma macroscópica una adaptación microbiana al ambiente adverso. Los resultados de las pruebas realizadas mostraron una similitud con las propiedades típicas de las bacterias del género *Pseudomonas sp.*

**Tabla 2.***Identificación Bioquímica de los aislados obtenidos de Relave Minero (PA-RM01 - PA-RM03)*

Pruebas	Tratamiento			
	pre		post	
	PA-RM01	PA-RM03	PA-RM01	PA-RM03
<b>Morfología</b>	Tamaño	0,1cm	1,09 cm	0,05cm
	Pigmentación (PA)	Crema	Blanquecina	Crema obscura
	Elevación	Planoconvexa	Umbilicada	Planoconvexa
	Borde	Redondeado	Lobulado	Redondeado
	Forma	Circular	Irregular	Circular
	Superficie	Lisa	Rugosa	Lisa
	Reflexión de Luz	Brillante	Mate	Brillante
	Aspecto	Húmedo	Seco	Húmedo
	Consistencia	Butirosa	Vitreia	Butirosa
<b>Bioquímica</b>	Tinción de Gram	Negativa	Negativa	Negativa
	Catalasa	Negativa	Positiva	Negativa
	Oxidasa	Negativa	Negativa	Positiva
	Indol	Negativa	Negativa	Negativa
	Agar Glucosa	Negativa	Positiva	Positiva
	Simons Citrato Agar	Negativa	Negativa	Negativa
	Agar MacConkey	Negativa	Negativa	Negativa
	Agar Manitol	Negativa	Positiva	Negativa
	Sabouraud Dextrosa Agar	Negativa	Positiva	Positiva
	Cetrimida Agar	Positiva	Positiva	Negativa
	Pseudomonas Agar	Positiva	Positiva	Negativa
	Agar nutritivo	Positiva	Positiva	Positiva
	Agar Urea	Positiva	Positiva	Positiva

La variación en las características morfológicas de las cepas bacterianas PA-RM01 y PA-RM03 antes y después del tratamiento en los relaves mineros muestran la reacción y adaptación de las bacterias a un entorno adverso, observándose una reducción en el tamaño de las colonias PA-RM01 de 0,1 cm a 0,05 cm y de PA-RM03 de 1,09 cm a 0,67 cm, lo que sugiere que ambas cepas bacterianas ajustaron su tamaño en respuesta al tratamiento (Ferreres et al., 2023), para lograr un crecimiento más eficiente, siendo una estrategia de adaptación al estrés inducido por el ambiente adverso (Yang et al., 2023).

Adicionalmente, la pigmentación oscura observada en PA-RM01 después del tratamiento podría ser el resultado de la producción de pigmentos destinados a proteger a las bacterias contra el estrés oxidativo causado por la presencia de mercurio que se da en las vesículas intracelulares llamadas cromatóforos (Ma et al., 2023); estos cambios en las características morfológicas sugieren que ambas cepas adaptaron su

morfología y estructura celular para optimizar su supervivencia y adaptación al entorno contaminado (Imron et al., 2019), lo que como consecuencia activa el gen del operón Mer (Yang et al., 2023).

Las pruebas bioquímicas muestran que PA-RM03 se mantuvo positiva en catalasa, indicando su capacidad de degradar el peróxido de hidrógeno como estrategia para combatir el estrés oxidativo (Escarabajal, 2001), mientras, PA-RM01 permaneció negativa señalando una menor capacidad de neutralizar el peróxido de hidrógeno, sugiriendo una mayor probabilidad de estrés oxidativo (Shen & Zhang, 2022).

Por otro lado, PA-RM03 mostró ser negativa en oxidasa, sin embargo, PA-RM01 fue oxidasa negativa antes del tratamiento y pasó a ser positiva después de la dosificación, indicando la activación de la producción de la enzima oxidasa en respuesta al mercurio. La actividad de la enzima oxidasa en bacterias se relaciona con la capacidad de producir especies reactivas de oxígeno (ROS) como parte de su metabolismo para descomponer el peróxido de hidrógeno y protegerse del daño oxidativo (Sanyal et al., 2023; Peng et al., 2023).

Las fuentes de carbono utilizadas por las comunidades bacterianas varían de acuerdo al entorno en el que se encuentran, en el caso de las cepas bacterianas PA-RM01 y PARM03, posiblemente haya ocurrido el uso de las vías pentosa fosfato por la NADPH para contrarrestar el ROS ( $Hg^{2+} + O_2 \rightarrow Hg_2^{+}O_2$  como superóxido,  $O_2\bullet- + H_2O \rightarrow H_2O_2 + O_2$  como peróxido de hidrógeno,  $H_2O_2 + Fe_{2+} \rightarrow \bullet OH + OH^- + Fe_{3+}$  como radical hidroxilo) y la glicolisis quien descompone la glucosa de 6 carbono por reacciones enzimáticas a NADH, ATP, 2 piruvato los que ingresan al ciclo de Krebs a través del acetil CoA generando NADH, FADH<sub>2</sub>, CO<sub>2</sub> y ATP las que serán aprovechadas como fuente de energía celular (Malik & Aleem, 2018).

La transición de PA-RM01 de un estado negativo (pre) a positivo (post) en la fermentación de glucosa, sugiere una adaptación hacia el uso de glucosa, indicando una adaptación de uso de glucosa (materia orgánica descompuesta) como fuente de energía (Malik & Aleem, 2018), sugiriendo que la vía metabólica usada por la bacteria nativa es la glicolisis para la generación de moléculas de piruvato. PA-RM03 mantuvo su positividad en varias pruebas, mostrando que conservó sus capacidades metabólicas de aprovechamiento energético diverso (Gworek et al., 2020).

La pérdida de la capacidad de crecimiento en el Cetrimida Agar podría indicar una respuesta específica al ambiente contaminado, mientras que la persistencia del crecimiento en el Agar Pseudomonas y Agar Nutritivo resalta la existencia de información en el ADN que tiene la bacteria para crecer en medio selectivos y generales. Por otro lado, las pruebas de Simons Citrato Agar y Agar MacConkey permanecieron negativas en ambas cepas, mostrando que su capacidad para utilizar citrato o fermentar lactosa no se vio afectada (Rivera Flores et al., 2021); estas pruebas bioquímicas son esenciales para comprender cómo las bacterias se adaptan a condiciones adversas y proporcionan información valiosa para la caracterización de las cepas (Choudhary et al., 2022). Además, son herramientas fundamentales para evaluar la eficacia de tratamientos específicos en la remediación de entornos contaminados.

Las cepas bacterianas PA-RM01 y PA-RM03 pertenecen al grupo taxonómico de los bacilos Gram negativa, diferenciándose por la composición química de su pared celular (Ito et al., 2023), las bacterias Gram positivas poseen una capa densa de peptidoglicano en su pared, con un grosor que oscila entre 20 y 80 nanómetros (Kunugiza et al., 2023); por otro lado, las bacterias Gram negativas cuentan con una capa de peptidoglicano más delgada, de aproximadamente 2 nanómetros, además de una capa adicional compuesta por lipopolisacáridos, lipoproteínas y lípidos (Lopardo, 2016; Powers-Fletcher & Smulian, 2023).

El presente estudio proporcionó información experimental sobre la capacidad de remoción de mercurio de las cepas aisladas de relaves mineros, mostrando que la cepa PA-RM 01 activó la producción de la enzima oxidasa en respuesta al estrés oxidativo, así mismo, en función a la catalasa no se mostró cambios. Por otra parte, la cepa PA-RM 03 se mantuvo en catalasa positiva indicando que es una bacteria aerobia, además,

los ensayos frente a la oxidasa no mostraron cambios, pudiendo ser utilizadas como tratamientos de biorremediación en entornos contaminados. Las cepas bacterianas PA-RM 01 y PA-RM 03 mostraron tener una gran similitud con las características del género *Pseudomonas*, sin embargo, es necesario realizar pruebas moleculares para su identificación específica.

### 3.3. Capacidad remediadora de mercurio por bacterias nativas

La aplicación del tratamiento experimental se realizó por un periodo de 72 horas, con una temperatura constante de 37°C y a una humedad relativa constante de 84% proporcionada por el agua destilada. En el transcurso del tratamiento se efectuaron mediciones correspondientes al pH y Hg.

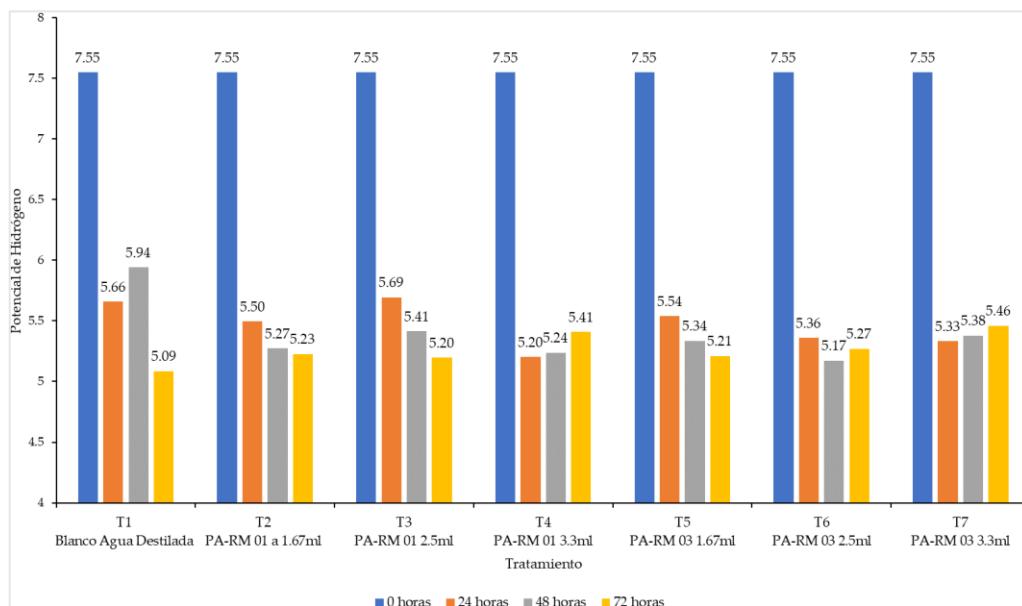
Los microorganismos del suelo tienen la capacidad de contribuir a la sostenibilidad de los ecosistemas, debido a que son los principales agentes del ciclo de los nutrientes al regular la dinámica de la materia orgánica del suelo (Correa, 2016). Al realizarse la descomposición de los residuos y de la materia orgánica; los nutrientes en exceso de nitrógeno, fósforo y azufre son liberados dentro del suelo en forma de nutrientes disponibles (Rodriguez, 2016; Calheiros et al., 2018).

Al ser los materiales de desecho más complicados de descomponer que el material original orgánico, los microorganismos empiezan a descomponer los residuos y almacenan el carbono dentro de su propia biomasa o mediante la reconstrucción de nuevas estructuras de carbono (Rodriguez, 2016).

Las bacterias por otra parte descomponen los desechos y los organismos muertos en moléculas más pequeñas, al hacer uso de los sustratos orgánicos que descomponen, lo convierten en energía, carbono y nutrientes para su supervivencia (Julca-Otiniano et al., 2006; Barman et al., 2018).

### 3.4. Variación del pH en el tiempo por influencia del metabolismo celular bacteriana

Los análisis del potencial de hidrógeno realizados durante las 72 horas de tratamiento mostraron variaciones en los valores de las muestras, denotando acidificación en ellas. El valor inicial general de pH fue de 7,55, disminuyendo a un valor promedio de 5,41 a las primeras 24 horas, el cual continúo disminuyendo en 0,08 con respecto al valor anterior a las 48 horas, llegando a un pH promedio de 5,27 a las 72 horas, donde se observó una reducción de 2,28 en el potencial de hidrógeno. Los valores por tratamiento pueden ser visualizados en la (Figura 3).



**Figura 3.** Variación de pH en el tiempo por la influencia del metabolismo bacteriano

Los resultados de la Figura 3 muestran una disminución constante en los valores del potencial de Hidrógeno en las pruebas T2, T3 y T5 con respecto al tiempo, por otro lado, las pruebas T1, T4, T6 y T7 mostraron disminución a las 24 horas y un aumento en el pH a las 48 horas y/o 72 horas.

La acidificación del medio es causa aparente del metabolismo bacteriano (Tao et al., 2016), debido a que la funcionalidad de las cepas bacterianas aisladas mostró una mejor remoción del metal tóxico a un pH ácido (Xu, 2018) en la biotransformación del metal por bacterias nativas aisladas (PA-RM 01 y PA-RM 03) (Kelly et al., 2003), el potencial de hidrógeno es un factor de influencia geoquímica para la movilidad del Hg en el suelo (Yang et al., 2007).

La disminución del pH de 7,2 a 6,3 dio lugar a un aumento en la absorción de Hg (II), por las bacterias *Vibrio anguillarum* y *E. coli*. (Chen et al., 2023), no obstante, el trabajo bacteriano a un pH de 5 a 8 son más favorables que a otros niveles de pH (Golding et al., 2008).

Los niveles de pH varían debido a la presencia de metal tóxico, que altera el metabolismo de las bacterias, dando un periodo de tiempo de adaptabilidad al contaminante (Holoka, 2003).

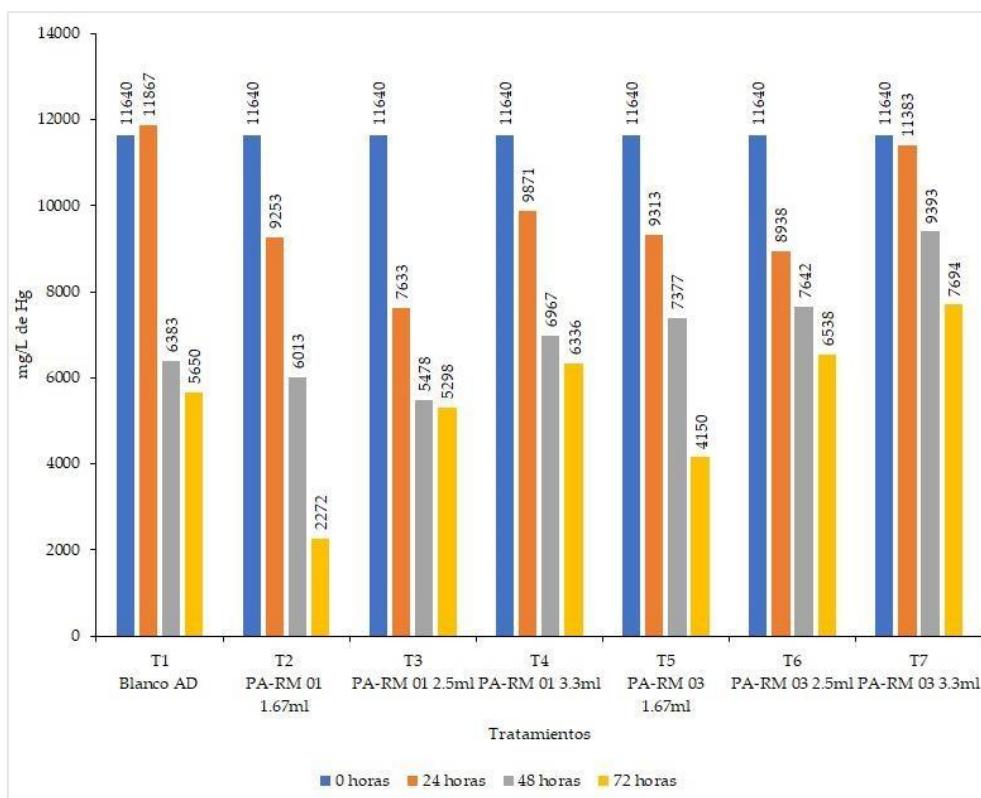
En el proceso de oxidación de estos compuestos, se producen electrones y protones, los protones (iones de hidrógeno) liberados durante la oxidación de compuestos orgánicos pueden aumentar la acidez del medio al liberar iones H<sup>+</sup>, lo que conduciría a una disminución del pH en el entorno (Mohan et al., 2021).

El aumento de pH evidenciado en las pruebas T1, T4, T6 y T7 podría estar relacionado con una fase posterior en el metabolismo microbiano de las bacterias nativas. Donde las bacterias después de utilizar fuentes de carbono, comienzan a cambiar su metabolismo para utilizar otros compuestos disponibles en el relave y producir productos finales que tengan efectos alcalinizantes, como la liberación de hidroxilos (OH<sup>-</sup>) o la utilización de compuestos alcalinos presentes en el relave (Dunham-Cheatham et al., 2015).

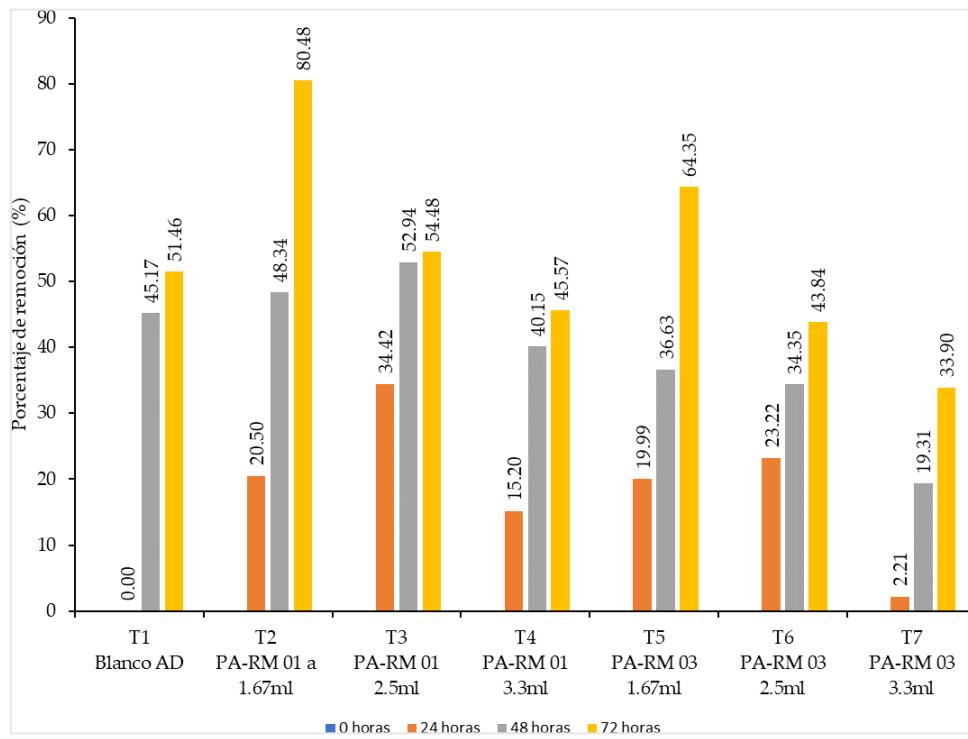
Por lo tanto, se puede concluir que hay una correlación positiva entre un pH ácido y la capacidad de las bacterias aisladas de relaves mineros para eliminar el mercurio. El ambiente ácido promueve tanto la movilidad del mercurio como el proceso metabólico de las cepas bacterianas PA-RM01 y PA-RM03.

### 3.5. Remoción de Hg por bacterias nativas aisladas

La concentración inicial de mercurio en las muestras fue de 11640 mg/L de Hg, valor que fue variando con respecto al tiempo de tratamiento, siendo el T3, el cual mostró un mayor porcentaje de remoción de 34,42% a las 24 horas, seguido del T6 que mostró una reducción del 23,22% respecto a la concentración inicial de mercurio. La remoción de mercurio en porcentaje a las 48 horas del T3 fue de 52,94%, seguida del T2 con un valor de 48,34%. Sin embargo, los mejores resultados obtenidos fueron a las 72 horas del tratamiento, donde el T2 presentó un porcentaje de remoción de 80,48% seguido del T5 con 64,35% de remoción de mercurio (Figura 4 y 5). Por consiguiente, podemos decir que el tratamiento de mayor eficiencia para la remoción de mercurio en base a la presente investigación es el T2, que usa la cepa bacteriana PA-RM 01 a una dosis de 1,67ml en un periodo de 72 horas.



**Figura 4.** Promedio de remoción del Hg por acción de las bacterias nativas aisladas



**Figura 5.** Porcentaje de remoción del Hg por acción de las bacterias nativas aisladas

Las pruebas experimentales muestran que la cantidad de mercurio removido aumenta con el tiempo de experimentación, en el caso de la cepa PA-RM 01 la mayor tasa de eliminación ocurre a las 72 horas. Esto sugiere que las bacterias nativas comenzaron a acumular y biotransformar el mercurio ( $Hg^{2+}$ ) a su forma elemental ( $Hg^0$ ), que es menos tóxica (Jafari et al., 2015; Okino et al., 2000).

La concentración de T1 (blanco) aumenta a las 24 horas debido a las reacciones de adsorción-desorción (Figura 4). Al contener grupos funcionales como el carboxilo, el fenol, los grupos aminos y el sulfhídrico, las moléculas que componen la materia orgánica pueden formar complejos estables con los iones metálicos, lo que reduce la movilidad del mercurio en la muestra de suelo, convirtiendo en una gran reserva de mercurio (Dunham-Cheatham et al., 2015; Jafari et al., 2015).

La distribución y prevalencia de las bacterias en el medio ambiente es diversa, las que adaptan su metabolismo para sobrevivir (Rasmussen & Sørensen, 2001; Holoka, 2003; Caiza, 2018). En respuesta a un ambiente contaminado por mercurio, activan el operón Mer y se desarrollan como agentes de biorremediación (Irawati et al., 2012; Ochoa-Agudelo et al., 2022).

Las altas temperaturas, los niveles bajos de oxígeno y pH favorecieron la metilación del mercurio ( $Hg^{2+}$ ) (Gworek et al., 2020), lo que dio lugar a un valor mayor del inicial en el mercurio, sin embargo, fue contrarrestado por las bacterias existentes en las muestras de relave minero, quienes al adquirir humedad por el agua destilada, temperatura idónea de crecimiento bacteriano por incubación, y la materia orgánica existente en relave minero, adaptaron su metabolismo de subsistencia, activando el gen operón Mer para la reducción de la carga contaminante (Jafari et al., 2015).

El mercurio presente en las muestras disminuyó debido al metabolismo de las poblaciones bacterianas presentes. Se ha observado que la cepa PA-RM01 ha demostrado una gran capacidad de adaptación, especialmente cuando se le suministra una dosis óptima de 1,67 ml, lo que permite que las bacterias tengan acceso a una mayor cantidad de nutrientes, y el periodo de 72 horas evidencia activación de los genes de resistencia de las cepas bacterianas.

### 3.6. Interpretación Estadística

El análisis de varianza aplicado, revela que, para el componente de pH, el factor de tratamiento al tener un ( $P > 0,05$ ) indica que, los tratamientos (T1, T2, T3, T4, T5, T6 y T7) estadísticamente son similares, mientras que para el factor de tiempo ( $P < 0,05$ ) indica que al menos uno de las horas de monitoreo (0, 24, 48 y 72 horas) es diferente. Por otra parte, para el componente de remoción de mercurio, el factor de tratamiento y el factor de tiempo tienen un ( $P < 0,05$ ), indicando que por lo menos uno de los tratamientos y uno de las horas de monitoreo es diferente.

De acuerdo a las pruebas de comparaciones múltiples de Tukey para el índice de pH del factor tiempo, a las 24, 48 y 72 horas logra un índice de pH favorable para la remoción de mercurio por las bacterias nativas, mientras que, para la prueba de Duncan, solamente a las 48 y 72 horas se demuestra un pH significativamente más adecuado para el desarrollo de las bacterias nativas. Para el factor de remoción de mercurio, las pruebas de comparaciones múltiples de Tukey y Duncan del factor de tratamiento, indica que los tratamientos T1, T2, T3, T4, T5 y T6 demuestran mayores significancias al remover mercurio, por otra parte, para el factor de tiempo, la comparación múltiple de Tukey y Duncan muestran que a las 72 horas se evidencia los mejores niveles de remoción de mercurio.

El análisis de varianza realizado para el componente del pH con un ( $P > 0,05$ ), indica que se sostiene la hipótesis nula, demostrando que los tratamientos T1, T2, T3, T4, T5, T6 y T7 son similares, y entre los tratamientos no se demuestra una diferencia con respecto al pH y que el único factor influyente para el componente del pH es el tiempo. Mezzari et al. (2011), indican que al momento de realizar una investigación experimental los tratamientos no siempre en todos los casos demuestran significancia en el parámetro evaluado, sin embargo, muchas otras investigaciones enfatizan que otros parámetros demuestran significancia en el objeto de estudio.

## CONCLUSIONES

El estudio demuestra que las bacterias nativas PA-RM01 y PA-RM03, aisladas de relaves mineros, poseen un alto potencial para la remoción de mercurio, alcanzando hasta un 80,48% de eficiencia en condiciones controladas, lo que las convierte en una alternativa sostenible para la biorremediación de suelos contaminados. Estos resultados destacan la importancia de explorar estrategias biológicas como complemento a los métodos tradicionales de remediación, ofreciendo beneficios ambientales, económicos y de salud pública. Futuras investigaciones deberían enfocarse en la optimización de las condiciones de aplicación (como dosis, tiempo y pH), la identificación de otras cepas resistentes y la evaluación de su desempeño en ambientes reales a largo plazo. Además, se recomienda realizar estudios moleculares para caracterizar los mecanismos genéticos de resistencia al mercurio, como el operón Mer, y explorar sinergias con otras técnicas de remediación. Los hallazgos de este trabajo aportan bases científicas para el desarrollo de soluciones prácticas que mitiguen la contaminación minera, protegiendo así los ecosistemas y la salud humana.

## FINANCIAMIENTO

Los autores no recibieron ningún patrocinio para llevar a cabo este estudio-artículo.

## CONFLICTO DE INTERESES

Los autores declaramos que no existe conflicto de intereses en relación al trabajo publicado.

## CONTRIBUCIÓN DE LOS AUTORES

Conceptualización, curación de datos, análisis formal, adquisición de fondos, investigación, metodología, administración del proyecto, recursos, supervisión, validación, visualización, redacción - borrador original y redacción - revisión y edición: Huayhua-Mamani, L. J. y Condori-Pari, E. D.

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Al-Ansari, M. M., H. Benabdelkamel, R. H. AlMalki, A. M. Abdel Rahman, E. Alnahmi, A. Masood, S. Ilavenil & K. C. Choi (2021). Effective removal of heavy metals from industrial effluent wastewater by a multi metal and drug resistant *Pseudomonas aeruginosa* strain RA-14 using integrated sequencing batch reactor. *Environmental Research.* 199:111240. <https://doi.org/10.1016/j.envres.2021.111240>
- Arredondo Rodolfo, Aguilar Josué & Noriega Berenice (2017). Aislamiento y caracterización de microorganismos nativos de muestras de suelos contaminados con residuos mineros. *Jóvenes en la ciencia.* 2:522-526. <https://bit.ly/3TvOBKJ>
- Barman, P., P. Bandyopadhyay, A. Kati, T. Paul, A. K. Mandal, K. C. Mondal & P. K. Das Mohapatra (2018). Characterization and strain improvement of aerobic denitrifying EPS producing bacterium *Bacillus cereus* PB88 for shrimp water quality management. *Waste and biomass valorization.* 9:1319-1330. <https://doi.org/10.1007/s12649-017-9912-2>
- Bauch, C., M. C. Gatt, S. Verhulst, J. P. Granadeiro & P. Catry (2022). Higher mercury contamination is associated with shorter telomeres in a long-lived seabird – A direct effect or a consequence of among-individual variation in phenotypic quality? *Science of the Total Environment.* 839. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2022.156359>
- Benslama, O. & A. Boulahrouf (2016). High-quality draft genome sequence of *Enterobacter* sp. Bisph2, a

- glyphosate-degrading bacterium isolated from a sandy soil of Biskra, Algeria. *Genomics Data*. 8:61-66. <https://doi.org/10.1016/j.gdata.2016.03.005>
- Besnard, L., G. Le Croizier, F. Galván-Magaña, D. Point, E. Kraffe, J. Ketchum, R. O. Martinez Rincon & G. Schaal (2021). Foraging depth depicts resource partitioning and contamination level in a pelagic shark assemblage: Insights from mercury stable isotopes. *Environmental Pollution*. 283. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2021.117066>
- Bjørklund, G., M. Dadar, J. Mutter & J. Aaseth (2017). The toxicology of mercury: Current research and emerging trends. *Environmental Research*. 159:545-554. <https://doi.org/10.1016/j.envres.2017.08.051>
- Bourdineaud, J. P., G. Durn, B. Režun, A. Manceau & J. Hrenović (2020). The chemical species of mercury accumulated by *Pseudomonas idrijaensis*, a bacterium from a rock of the Idrija mercury mine, Slovenia. *Chemosphere*. 248. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2020.126002>
- Caiza, G. (2018). Mercurio en el Suelo. Contaminación y remediación. Universidad Complutense, Facultad de Farmacia:1-20. <https://bit.ly/41JBpEl>
- Calheiros, C. S. C., S. I. A. Pereira & P. M. L. Castro (2018). Culturable bacteria associated to the rhizosphere and tissues of Iris pseudacorus plants growing in a treatment wetland for winery wastewater discharge. *Ecological Engineering*. 115:67-74. <https://doi.org/10.1016/j.ecoleng.2018.02.011>
- Cattani, I., H. Zhang, G. M. Beone, A. A. M. Del Re, R. Boccelli & M. Trevisan (2019). The role of natural purified humic acids in modifying mercury accessibility in water and soil. *Journal of Environmental Quality*. 38:493-501. <https://doi.org/10.2134/jeq2008.0175>
- Chang, J., Y. Shi, G. Si, Q. Yang, J. Dong & J. Chen (2020). The bioremediation potentials and mercury(II)-resistant mechanisms of a novel fungus *Penicillium* spp. DC-F11 isolated from contaminated soil. *Journal of Hazardous Materials*. 396:122638. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2020.122638>
- Chen, Y., Y. Guo, Y. Liu, Y. Xiang, G. Liu, Q. Zhang, Y. Yin, Y. Cai & G. Jiang (2023). Advances in bacterial whole-cell biosensors for the detection of bioavailable mercury: A review. *Science of the Total Environment*. 868:161709. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2023.161709>
- Cheng, C., J. Teng, G. Xu, H. Wei & C. Geng (2024). Modelling polarization effect in electrical conductivity of frozen soil. *Cold Regions Science and Technology*. 218:104075. <https://doi.org/10.1016/j.coldregions.2023.104075>
- Choudhary, V., K. Wu, Z. Zhang, M. Dulchavsky, T. Barkman, J. C. A. Bardwell & F. Stull (2022). The enzyme pseudooxynicotine amine oxidase from *Pseudomonas putida* S16 is not an oxidase, but a dehydrogenase. *Journal of Biological Chemistry*. 298:102251. <https://doi.org/10.1016/j.jbc.2022.102251>
- Correa, O. S. (2016). Los Microorganismos del suelo y su rol indiscutido en la nutrición vegetal. <https://bit.ly/41pj92R>
- Custodio, M., R. Peñaloza, W. Cuadrado, S. Ochoa, D. Álvarez & F. Chanamé (2021). Data on the detection of essential and toxic metals in soil and corn and barley grains by atomic absorption spectrophotometry and their effect on human health. *Chemical Data Collections*. 32:100650. <https://doi.org/10.1016/j.cdc.2021.100650>
- Dash, H. R. & S. Das (2012). Mercury bioremediation and the importance of bacterial mer genes. <https://doi.org/10.1016/j.ibiod.2012.07.023>

- Dermont, G., M. Bergeron, G. Mercier & M. Richer-Laflèche (2008). Soil washing for metal removal: A review of physical/chemical technologies and field applications. *Journal of Hazardous Materials.* 152:1-31. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2007.10.043>
- Dietz, R., R. J. Letcher, J. P. Desforges, I. Eulaers, C. Sonne, S. Wilson, E. Andersen-Ranberg, N. Basu, B. D. Barst, J. O. Bustnes, J. Bytingsvik, T. M. Ciesielski, P. E. Drevnick, G. W. Gabrielsen, A. Haarr, K. Hylland, B. M. Jenssen, M. Levin, M. A. McKinney, R. D. Nørregaard, K. E. Pedersen, J. Provencher, B. Styrishave, S. Tartu, J. Aars, J. T. Ackerman, A. Rosing-Asvid, R. Barrett, A. Bignert, E. W. Born, M. Branigan, B. Braune, C. E. Bryan, M. Dam, C. A. Eagles-Smith, M. Evans, T. J. Evans, A. T. Fisk, M. Gamberg, K. Gustavson, C. A. Hartman, B. Helander, M. P. Herzog, P. F. Hoekstra, M. Houde, K. Hoydal, A. K. Jackson, J. Kucklick, E. Lie, L. Loseto, M. L. Mallory, C. Miljeteig, A. Mosbech, D. C. G. Muir, S. T. Nielsen, E. Peacock, S. Pedro, S. H. Peterson, A. Polder, F. F. Rigét, P. Roach, H. Saunes, M. H. S. Sinding, J. U. Skaare, J. Søndergaard, G. Stenson, G. Stern, G. Treu, S. S. Schuur & G. Víkingsson (2019). Current state of knowledge on biological effects from contaminants on arctic wildlife and fish. *Science of the Total Environment.* 696:133792. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2019.133792>
- Dunham-Cheatham, S., B. Mishra, S. Myneni & J. B. Fein (2015). The effect of natural organic matter on the adsorption of mercury to bacterial cells. *Geochimica et Cosmochimica Acta.* 150:1-10. <https://doi.org/10.1016/j.gca.2014.11.018>
- Escarabajal Arrieta, M. D. (2001). ¿Alcoholismo o acetaldehismo? el papel de la catalasa y la aldehído deshidrogenasa cerebrales. *Trastornos Adictivos.* 3:290-291. [https://doi.org/10.1016/S1575-0973\(01\)78583-2](https://doi.org/10.1016/S1575-0973(01)78583-2)
- Ferreres, G., K. Ivanova, J. Torrent-Burgués & T. Tzanov (2023). Multimodal silver-chitosan-acylase nanoparticles inhibit bacterial growth and biofilm formation by Gram-negative *Pseudomonas aeruginosa* bacterium. *Journal of Colloid and Interface Science.* 646:576-586. <https://doi.org/10.1016/j.jcis.2023.04.184>
- Francisco López, A., E. G. Heckenauer Barrón & P. M. Bello Bugallo (2022). Contribution to understanding the influence of fires on the mercury cycle: Systematic review, dynamic modelling and application to sustainable hypothetical scenarios. *Environmental Monitoring and Assessment.* 194:707. <https://doi.org/10.1007/s10661-022-10208-3>
- Garcha, S., N. Verma & S. K. Brar (2016). Isolation, characterization and identification of microorganisms from unorganized dairy sector wastewater and sludge samples and evaluation of their biodegradability. *Water Resources and Industry.* 16:19-28. <https://doi.org/10.1016/j.wri.2016.10.002>
- Ge, Q., Q. Tian, R. Hou & S. Wang (2022). Combing phosphorus-modified hydrochar and zeolite prepared from coal gangue for highly effective immobilization of heavy metals in coal-mining contaminated soil. *Chemosphere.* 291:132835. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2021.132835>
- Ghosh, S., S. Banerjee, A. Mukherjee & P. Bhattacharyya (2023). Appraise potassium chemistry and distribution patterns in tailing soil, India: Through quantity - Intensity relations and multi model statistical methods. *Chemosphere.* 335:139184. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2023.139184>
- Golding, G. R., R. Sparling & C. A. Kelly (2008). Effect of pH on intracellular accumulation of trace concentrations of Hg(II) in *Escherichia coli* under anaerobic conditions, as measured using a mer-lux bioreporter. *Applied and Environmental Microbiology.* 74:667-675. <https://doi.org/10.1128/AEM.00717-07>

- González-Reguero, D., M. Robas-Mora, A. Probanza Lobo & P. A. Jiménez Gómez (2023). Bioremediation of environments contaminated with mercury. Present and perspectives. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*. 39. <https://doi.org/10.1007/s11274-023-03686-1>
- Gworek, B., W. Dmuchowski & A. H. Baczevska-Dąbrowska (2020). Mercury in the terrestrial environment: a review. *Environmental Sciences Europe*. 32. <https://doi.org/10.1186/s12302-020-00401-x>
- Han, T., D. Li, K. Liu, J. Huang, L. Zhang, S. Liu, A. Shah, L. Liu, G. Feng & H. Zhang (2023). Soil potassium regulation by initial K level and acidification degree when subjected to liming: A meta-analysis and long-term field experiment. *CATENA*. 232:107408. <https://doi.org/10.1016/j.catena.2023.107408>
- Han, T., K. Liu, J. Huang, M. N. Khan, Z. Shen, J. Li & H. Zhang (2024). Temporal and spatial characteristics of paddy soil potassium in China and its response to organic amendments: A systematic analysis. *Soil and Tillage Research*. 235:105894. <https://doi.org/10.1016/j.still.2023.105894>
- Holoka, M. H. (2003). Effect of pH on Mercury Uptake by an Aquatic Bacterium: Implications for Hg Cycling:2941-2946. <https://doi.org/10.1021/es026366o>
- Hood, S. K. & E. A. Zottola (1997). Isolation and identification of adherent gram-negative microorganisms from four meat-processing facilities. *Journal of food protection*. 60:1135-1138. <https://doi.org/10.4315/0362-028X-60.9.1135>
- Imron, M. F., S. B. Kurniawan & A. Soegianto (2019). Characterization of mercury-reducing potential bacteria isolated from Keputih non-active sanitary landfill leachate, Surabaya, Indonesia under different saline conditions. *Journal of Environmental Management*. 241:113-122. <https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2019.04.017>
- Indecopi (2001). Suelos. Descripción e Identificación de suelos. Procedimiento visual-manual. Páginas 14-17. <https://bit.ly/41vXaaA>
- Irawati, W., Patricia, Y. Soraya & A. H. Baskoro (2012). A study on mercury-resistant bacteria isolated from a gold mine in Pongkor Village, Bogor, Indonesia. *Hayati Journal of Biosciences*. 19:197-200. <https://doi.org/10.4308/hjb.19.4.197>
- Ito, H., Y. Tomura, J. Oshida, S. Fukui, T. Kodama & D. Kobayashi (2023). The role of gram stain in reducing broad-spectrum antibiotic use: A systematic literature review and meta-analysis. *Infectious Diseases Now*. 53:104764. <https://doi.org/10.1016/j.idnow.2023.104764>
- Jafari, S. A., S. Cheraghi, M. Mirbakhsh, R. Mirza & A. Maryamabadi (2015). Employing response surface methodology for optimization of mercury bioremediation by *Vibrio parahaemolyticus* PG02 in coastal sediments of Bushehr, Iran. *Clean - Soil, Air, Water*. 43:118-126. <https://doi.org/10.1002/clen.201300616>
- Joorabian, S., E. Abdollahzadeh & A. Esmaili-sari (2023). Journal of Hazardous Materials Advances A review of mercury contamination in representative flora and fauna of Iran : seafood consumption advisories. *Journal of Hazardous Materials Advances*. 10:100291. <https://doi.org/10.1016/j.hazadv.2023.100291>
- Julca-Otiniano, A., L. Meneses-Florián, R. Blas-Sevillano & S. Bello-Amez (2006). La materia orgánica, importancia y experiencia de su uso en la agricultura. *Idesia (Arica)*. 24:49-61. <https://doi.org/10.4067/s0718-34292006000100009>
- Kelly, C. A., J. W. M. Rudd & M. H. Holoka (2003). Effect of ph on mercury uptake by an aquatic bacterium: Implications for Hg cycling. *Environmental Science and Technology*. 37:2941-2946.

<https://doi.org/10.1021/es0263660>

Kucharski, R., A. Sas-Nowosielska, E. Małkowski, J. Japenga, J. M. Kuperberg, M. Pogrzeba & J. Krzyzak (2005). The use of indigenous plant species and calcium phosphate for the stabilization of highly metal-polluted sites in southern Poland. *Plant and Soil.* 273:291-305.  
<https://doi.org/10.1007/s11104-004-8068-6>

Kunugiza, Y., M. Tamaki, T. Miyamoto, S. Tsuji, K. Takahi, M. Nishikawa, A. Yoshida, K. Nomura, K. Iwamoto, T. Fujito, K. Toge, T. Ishibashi, S. Okada & T. Tomita (2023). Gram staining of the preoperative joint aspiration for the diagnosis of infection after total knee arthroplasty. *Journal of Joint Surgery and Research.* 1:175-178. <https://doi.org/10.1016/j.jjoisr.2023.07.005>

L. Rodriguez (2016). Conservación de los recursos naturales para una agricultura sostenible.  
<https://bit.ly/3v6yclS>

Li, L., F. Wang, B. Meng, M. Lemes, X. Feng & G. Jiang (2020). Speciation of methylmercury in rice grown from a mercury mining area. *Environmental Pollution.* 158:3103-3107.  
<https://doi.org/10.1016/j.envpol.2010.06.028>

Lopardo, H. A. (2016). Introducción a la microbiología clínica. Página (U. N. de L. P. – E. de la U. de La Plata, Ed.). Buenos Aires. <https://bit.ly/3RMQeCm>

Ma, J., G. Liu, J.-Y. Zhai, K. Zhao, Y. Wu, R. Yu, G. Hu & Y. Yan (2023). Roxarsone biotransformation by a nitroreductase and an acetyltransferase in *Pseudomonas chlororaphis*, a bacterium isolated from soil. *Chemosphere.* 345:140558. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2023.140558>

Mahbub, K. R., M. M. Bahar, M. Labbate, K. Krishnan, S. Andrews, R. Naidu & M. Megharaj (2017a). Bioremediation of mercury: not properly exploited in contaminated soils! *Applied Microbiology and Biotechnology.* 101:963-976. <https://doi.org/10.1007/s00253-016-8079-2>

Mahbub, K. R., K. Krishnan, R. Naidu & M. Megharaj (2017b). Mercury remediation potential of a mercury resistant strain *Sphingopyxis* sp. SE2 isolated from contaminated soil. *Journal of Environmental Sciences (China).* 51:128-137. <https://doi.org/10.1016/j.jes.2016.06.032>

Malik, A. & A. Aleem (2011). Incidence of metal and antibiotic resistance in *Pseudomonas* spp. from the river water, agricultural soil irrigated with wastewater and groundwater. *Environmental Monitoring and Assessment.* 178:293-308. <https://doi.org/10.1007/s10661-010-1690-2>

Mantey, J., K. B. Nyarko, F. Owusu-Nimo, K. A. Awua, C. K. Bempah, R. K. Amankwah, W. E. Akatu & E. Appiah-Effah (2020). Mercury contamination of soil and water media from different illegal artisanal small-scale gold mining operations (galamsey). *Heliyon.* 6:e04312.  
<https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2020.e04312>

Martínez-Sánchez, L., F. J. Vasallo, F. García-Garrote, L. Alcalá, M. Rodríguez-Créixems & E. Bouza (1998). Clinical isolation of a DF-3 microorganism and review of the literature. *Clinical Microbiology and Infection.* 4:344-346. <https://doi.org/10.1111/j.1469-0691.1998.tb00070.x>

Mary Kensa, V. (2011). Bioremediation - An overview. *Journal of Industrial Pollution Control* 27:161-168.  
<https://bit.ly/3RLA81i>

McCarthy, D., G. C. Edwards, M. S. Gustin, A. Care, M. B. Miller & A. Sunna (2017). An innovative approach to bioremediation of mercury contaminated soils from industrial mining operations. *Chemosphere.* 184:694-699. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2017.06.051>

Medvinsky-Roa, G.; Caroca, V; Vallejos, J. (2015). Informe sobre la situación de los relaves mineros en

Chile para ser presentado en el cuarto informe periódico de Chile para el comité de derechos económicos, sociales y culturales, perteneciente al Consejo Económico Social de la Naciones Unidas. Relave.Org:1-23. <https://bit.ly/3GTASpm>

Mezzari, M. P., D. M. H. Zimermann, H. X. Corseuil & A. V. Nogueira (2011). Potential of grasses and rhizosphere bacteria for bioremediation of diesel-contaminated soils. *Revista Brasileira de Ciência do Solo*. 35:2227-2236. <https://doi.org/10.1590/s0100-06832011000600038>

Ministerio de Agricultura y Riego (2017). Manual de procedimientos de los análisis de suelos y agua con fines de riego. manual de procedimientos de los análisis de suelos y agua con fines de riego 1. <https://bit.ly/3Rs4saC>

Ministerio del Ambiente (2014). Guía para el muestreo de suelos. Ministerio del Ambiente:72. <https://bit.ly/3R059fG>

Mohan, M., M. S. S. Chandran & E. V. Ramasamy (2021). Mercury contamination at Vembanad Lake and near-shore regions in the southwest coast of India. *Regional Studies in Marine Science*. 44:101754. <https://doi.org/10.1016/j.rsma.2021.101754>

Molina, L. T., L. Gallardo, M. Andrade, D. Baumgardner, M. Borbor-Córdova, R. Börquez, G. Casassa, F. Cereceda-Balic, L. Dawidowski, R. Garreaud, N. Huneeus, F. Lambert, J. L. McCarty, J. Mc Phee, M. Mena-Carrasco, G. B. Raga, C. Schmitt & J. P. Schwarz (2015). Pollution and its impacts on the South American Cryosphere. *Earth's Future*. 3:345-369. <https://doi.org/10.1002/2015EF000311>

Muñoz, L., P. Olivera, M. Santillán & C. Tamariz (2019). Microorganismos tolerantes a metales pesados del pasivo minero Santa Rosa, Jangas (Perú). *Revista peruana de Biología*. 26:109-118.

Nagahiro, T., B. K. Puri, M. Katyal & M. Satake (1984). Determination of nickel by flame atomic-absorption spectrophotometry after separation by adsorption of its nioxime complex on microcrystalline naphthalene. *Talanta*. 31:1008-1009. [https://doi.org/10.1016/0039-9140\(84\)80235-0](https://doi.org/10.1016/0039-9140(84)80235-0)

Nguyen, T. H., S. Won, M.-G. Ha, D. D. Nguyen & H. Y. Kang (2021). Bioleaching for environmental remediation of toxic metals and metalloids: A review on soils, sediments, and mine tailings. *Chemosphere*. 282:131108. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2021.131108>

Ochoa-Agudelo, S., J. Bedoya-Velez & F. Paternina-Mercado (2022). Comportamiento cualitativo de Pseudomonas aisladas de aguas residuales, expuestas a mercurio. *Informador Técnico*. 86:205-219. <https://doi.org/10.23850/22565035.4353>

Ogunremi, O. O., C. O. Ogunkunle & P. O. Fatoba (2023). Characterization and remediation potential of sorghum and rice straw-derived biochars on incubated spent-oil contaminated soil. *Scientific African*. 22:e01921. <https://doi.org/10.1016/j.sciaf.2023.e01921>

Okino, S., K. Iwasaki, O. Yagi & H. Tanaka (2000). Development of a biological mercury removal-recovery system. *Biotechnology Letters*. 22:783-788. <https://doi.org/10.1023/A:1005653825272>

ONU (2015). Evaluación mundial sobre el mercurio. Panorama:1-303. <https://bit.ly/47acKts>

Oraegbunam, C. J., S. E. Obalum, T. Watanabe, Y. M. Madegwa & Y. Uchida (2022). Differences in carbon and nitrogen retention and bacterial diversity in sandy soil in response to application methods of charred organic materials. *Applied Soil Ecology*. 170:104284. <https://doi.org/10.1016/j.apsoil.2021.104284>

Patel, J. H., D. J. Ong, C. R. Williams, L. K. Callies & A. E. Wills (2022). Elevated pentose phosphate pathway flux supports appendage regeneration. *Cell Reports*. 41:111552.

<https://doi.org/10.1016/j.celrep.2022.111552>

Peng, Y., Q. Liu, D. Xu, J. Fu, L. Zhang, L. Qiu & J. Lin (2023). M4IDP stimulates ROS elevation through inhibition of mevalonate pathway and pentose phosphate pathway to inhibit colon cancer cells. *Biochemical Pharmacology*. 217:115856. <https://doi.org/10.1016/j.bcp.2023.115856>

Powers-Fletcher, M. V & A. G. Smulian (2023). The low sensitivity of direct smears limit the utility of intraoperative gram stains for predicting culture-positivity in acute surgical settings. *Diagnostic Microbiology and Infectious Disease*. 106:115923. <https://doi.org/10.1016/j.diagmicrobio.2023.115923>

Pribil, M. J., V. Rimondi, P. Costagliola, P. Lattanzi & D. L. Rutherford (2020). Assessing mercury distribution using isotopic fractionation of mercury processes and sources adjacent and downstream of a legacy mine district in Tuscany, Italy. *Applied Geochemistry*. 117:104600. <https://doi.org/10.1016/j.apgeochem.2020.104600>

Rakhmanova, A., T. Wang, G. Xing, L. Ma, Y. Hong, Y. Lu, L. Xin, W. Xin, Q. Zhu & X. Lü (2021). Isolation and identification of microorganisms in Kazakhstan koumiss and their application in preparing cow-milk koumiss. *Journal of Dairy Science*. 104:151-166. <https://doi.org/10.3168/jds.2020-18527>

Rasmussen, L. D. & S. J. Sørensen (2001). Effects of mercury contamination on the culturable heterotrophic, functional and genetic diversity of the bacterial community in soil. *FEMS Microbiology Ecology*. 36:1-9. [https://doi.org/10.1016/S0168-6496\(01\)00111-8](https://doi.org/10.1016/S0168-6496(01)00111-8)

Ray, A. & A. Selvakumar (2000). Laboratory studies on the remediation of mercury contaminated soils. *Remediation Journal*. 10:49-56. <https://doi.org/10.1002/rem.3440100406>

Rice, K. M., E. M. Walker, M. Wu, C. Gillette & E. R. Blough (2014). Environmental mercury and its toxic effects. *Journal of Preventive Medicine and Public Health*. 47:74-83. <https://doi.org/10.3961/jpmph.2014.47.2.74>

Rivera Flores, V. K., T. A. DeMarsh & S. D. Alcaine (2021). Lactose oxidase: Enzymatic control of *Pseudomonas* to delay age gelation in UHT milk. *Journal of Dairy Science*. 104:2758-2772. <https://doi.org/10.3168/jds.2020-19452>

Rwiza, M. J., E. Focus, J. Bayuo, J. M. Kimaro, M. Kleinke, T. J. Lyasenga, J. T. Mosses & J. Marwa (2023). Artisanal and small-scale mining in Tanzania and health implications: A policy perspective. *Heliyon*. 9:e14616. <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2023.e14616>

Sanyal, S. K., T. Pukala, P. Mittal, F. Reith, J. Brugger, B. Etschmann & J. Shuster (2023). From biomolecules to biogeochemistry: Exploring the interaction of an indigenous bacterium with gold. *Chemosphere*. 339:139657. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2023.139657>

Shahzadi, S., Z. Khan, A. Rehman, M. A. Nisar, S. Z. Hussain & S. T. Asma (2019). Isolation and characterization of bacillus amyloliquefaciens 6A: A novel kerosene oil degrading bacterium. *Environmental Technology & Innovation*. 14:100359. <https://doi.org/10.1016/j.eti.2019.100359>

Shen, C. & Y. Zhang (2022). CHAPTER 15 - Biochemistry test of bacteria-1 (urease test, carbohydrate fermentation, catalase test, oxidase test). Páginas 67-76 en C. Shen y Y. Zhang, editores. Introductory Microbiology Lab Skills and Techniques in Food Science. *Academic Press*. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-821678-1.00005-8>

Shi, D., D. Li, Y. Zhang, X. Li, Y. Tao, Z. Yan & Y. Ao (2019). Effects of *Pseudomonas alkylphenolica* KL28 on immobilization of Hg in soil and accumulation of Hg in cultivated plant. *Biotechnology Letters*. 41:1343-1354. <https://doi.org/10.1007/s10529-019-02736-9>

- Tao, L. L., Y. P. Xiang, D. Y. Wang, M. L. Huang & H. Shen (2016). Identification of a facultative bacterium strain with the ability to methylate mercury under both aerobic and anaerobic conditions. *Huanjing Kexue/Environmental Science*. 37:4389-4394. <https://doi.org/10.13227/j.hjkx.201603198>
- Tapia-Vázquez, I., R. Sánchez-Cruz, M. Arroyo-Domínguez, V. Lira-Ruan, A. Sánchez-Reyes, M. del Rayo Sánchez-Carbente, D. Padilla-Chacón, R. A. Batista-García & J. L. Folch-Mallol (2020). Isolation and characterization of psychrophilic and psychrotolerant plant-growth promoting microorganisms from a high-altitude volcano crater in Mexico. *Microbiological Research*. 232:126394. <https://doi.org/10.1016/j.micres.2019.126394>
- Vermote, L., J. De Roos, M. Cnockaert, P. Vandamme, S. Weckx & L. De Vuyst (2023). New insights into the role of key microorganisms and wooden barrels during lambic beer fermentation and maturation. *International Journal of Food Microbiology*. 394:110163. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2023.110163>
- Wang, J. & M. Aghajani Delavar (2023). Techno-economic analysis of phytoremediation: A strategic rethinking. *Science of The Total Environment*. 902:165949. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2023.165949>
- Wang, X., W. Yuan, C.-J. Lin & X. Feng (2022). Mercury cycling and isotopic fractionation in global forests. *Critical Reviews in Environmental Science and Technology*. 52:3763-3786. <https://doi.org/10.1080/10643389.2021.1961505>
- Welman-Purchase, M. D., J. Castillo, A. Gomez-Arias, A. Matu & R. N. Hansen (2024). First insight into the natural biodegradation of cyanide in a gold tailings environment enriched in cyanide compounds. *Science of The Total Environment*. 906:167174. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2023.167174>
- West, A. W., D. J. Ross & J. C. Cowling (1986). Changes in microbial C, N, P and ATP contents, numbers and respiration on storage of soil. *Soil Biology and Biochemistry*. 18:141-148. [https://doi.org/10.1016/0038-0717\(86\)90018-0](https://doi.org/10.1016/0038-0717(86)90018-0)
- Wood, T. (1985). 1 - Introduction. Páginas 1-2 en T. Wood, editor. The pentose phosphate pathway. Academic Press. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-762860-8.50005-4>
- Xiang, Y., Y. Wang, H. Shen & D. Wang (2020). The draft genome sequence of *Pseudomonas putida* Strain TGRB4, an aerobic bacterium capable of producing methylmercury. *Current Microbiology*. 77:522-527. <https://doi.org/10.1007/s00284-019-01670-3>
- Xu, J. (2018). Remediación de suelos contaminados con mercurio y metilación biológica del mercurio en el paisaje. <https://bit.ly/4aq5cWe>
- Yan, Z., W. Ding, G. Xie, M. Yan, J. Li, Y. Han, X. Xiong & C. Wang (2023). Identification of cadmium phytoavailability in response to cadmium transformation and changes in soil pH and electrical conductivity. *Chemosphere*. 342:140042. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2023.140042>
- Yang, G., H. Wang, X. Zhang & B. Ji. (2023). Microalgal-bacterial granular sludge under constant dark and weak light conditions: Morphology, performance and microbial community. *Algal Research*. 71:103050. <https://doi.org/10.1016/j.algal.2023.103050>
- Yang, Y. kui, C. Zhang, X. jun SHI, T. Lin & D. yong Wang (2007). Effect of organic matter and pH on mercury release from soils. *Journal of Environmental Sciences*. 19:1349-1354. [https://doi.org/10.1016/S1001-0742\(07\)60220-4](https://doi.org/10.1016/S1001-0742(07)60220-4)
- Yao, H., H. Wang, J. Ji, A. Tan, Y. Song & Z. Chen (2023). Isolation and identification of mercury-tolerant bacteria LBA119 from molybdenum-lead mining soils and their removal of Hg<sup>2+</sup>. *Toxics*. 11:261.

<https://doi.org/10.3390/toxics11030261>

Zhang, H., A. Degré, C. De Clerck, S. Li, J. Lian, Y. Peng, T. Sun, L. Luo, Y. Yue, G. Li & J. Zhang (2024).

Changes in bacterial community structure and carbon metabolism in sandy soil under the long-term application of chitin-rich organic material and attapulgite. *Applied Soil Ecology*. 194:105161.

<https://doi.org/10.1016/j.apsoil.2023.105161>

Zhao, C., J. Wang, F. Zang, W. Tang, G. Dong & Z. Nan (2022). Water content and communities of sulfur-oxidizing bacteria affect elemental sulfur oxidation in silty and sandy loam soils. *European Journal of Soil Biology*. 111:103419. <https://doi.org/10.1016/j.ejsobi.2022.103419>