

UNIVERSIDAD PERUANA UNIÓN
FACULTAD DE INGENIERÍA Y ARQUITECTURA
Escuela Profesional de Ingeniería Ambiental



**Remoción de mercurio por bacterias nativas aislada de relaves
mineros**

Tesis para obtener el Título Profesional de Ingeniero Ambiental

Autores:

Liseth Jazmin Huayhua Mamani

Eddy Denilson Condori Pari

Asesor:

MSc. Rose Adeline Callata Chura

Juliaca, diciembre de 2023

DECLARACIÓN JURADA DE ORIGINALIDAD DE TESIS

Yo Rose Adeline Callata Chura, docente de la Facultad de Ingeniería y Arquitectura, Escuela Profesional de Ingeniería Ambiental, de la Universidad Peruana Unión.

DECLARO:

Que la presente investigación titulada: **“REMOCIÓN DE MERCURIO POR BACTERIAS NATIVAS AISLADA DE RELAVES MINEROS”** de los autores **Lisseth Jazmin Huayhua Mamani** y **Eddy Denilson Condori Pari** tiene un índice de similitud de 6% verificable en el informe del programa Turnitin, y fue realizada en la Universidad Peruana Unión bajo mi dirección.

En tal sentido asumo la responsabilidad que corresponde ante cualquier falsedad u omisión de los documentos como de la información aportada, firmo la presente declaración en la ciudad de Juliaca, a los 26 días del mes de diciembre del año 2023.



MSc. Rose Adeline Callata Chura

ACTA DE SUSTENTACIÓN DE TESIS



En Puno, Juliaca, Villa Chullunquiari, a 21 día(s) del mes de diciembre del año 2023, a las 10:00 horas, se reunieron los miembros del jurado en la Universidad Peruana Unión Campus Juliaca, bajo la dirección del (de la) presidente(a):

Ing. Enrique Mamani Luella, el (la) secretario(a): Mrs. Leayda Abigail Gonderi Turpo y los demás miembros Mrs. Juan Eduardo Vigo Rivera Ing. Nancy Lurani Rafael y el (la) asesor(a) Mrs. Rosa Adelina Gallala Ghura con el propósito de administrar el acto académico de sustentación de la tesis titulado: Remoción de mercurio por bacterias nativas aisladas de relaves mineros

del(los) bachiller(es): a) Leuth Jaymin Huayhua Mamani
 b) Eddy Denilson Gonderi Pari
 c) _____

conducente a la obtención del título profesional de: Ingeniero Ambiental
(Denominación del Título Profesional)

El Presidente inició el acto académico de sustentación invitando al (a la) / a (los) (las) candidato(a)s a hacer uso del tiempo determinado para su exposición. Concluida la exposición, el Presidente invitó a los demás miembros del jurado a efectuar las preguntas, y aclaraciones pertinentes, las cuales fueron absueltas por al (a la) / a (los) (las) candidato(a)s. Luego, se produjo un receso para las deliberaciones y la emisión del dictamen del jurado. Posteriormente, el jurado procedió a dejar constancia escrita sobre la evaluación en la presente acta, con el dictamen siguiente:

Bachiller (a): Leuth Jaymin Huayhua Mamani

CALIFICACIÓN	ESCALAS			Mérito
	Vigesimal	Literal	Cualitativa	
<u>Aprobado</u>	<u>18</u>	<u>A-</u>	<u>Muy Bueno</u>	<u>Sobresaliente</u>

Bachiller (b): Eddy Denilson Gonderi Pari

CALIFICACIÓN	ESCALAS			Mérito
	Vigesimal	Literal	Cualitativa	
<u>Aprobado</u>	<u>18</u>	<u>A-</u>	<u>Muy Bueno</u>	<u>Sobresaliente</u>

Bachiller (c): _____

CALIFICACIÓN	ESCALAS			Mérito
	Vigesimal	Literal	Cualitativa	

(*) Ver parte posterior
 Finalmente, el Presidente del jurado invitó al (a la) / a (los) (las) candidato(a)s a ponerse de pie, para recibir la evaluación final y concluir el acto académico de sustentación procediéndose a registrar las firmas respectivas.

[Firma]
 Presidente/a
[Firma]
 Asesor/a
[Firma]
 Bachiller (a)

[Firma]
 Miembro
[Firma]
 Bachiller (b)

[Firma]
 Secretario/a
[Firma]
 Miembro

 Bachiller (c)

AGRADECIMIENTO

A Dios, por la oportunidad de aprender más acerca de él a través de la presente investigación, enseñándome a través de ella, la perseverancia y la existencia de su amor infinito.

A mi familia, en primer lugar, a mis padres Rosa Elvira Mamani Cayo y Eduardo Huayhua Toque, por su amor y apoyo incondicional. En segundo lugar, a mis hermanos Jhon Edward Huayhua Mamani y José Faustino Huayhua Mamani por su confianza y motivación.

A la Universidad Peruana Unión, por los conocimientos brindados en aula, aportando en la formación académica y profesional de mi persona. En especial a la MSc. Rose Adeline Callata Chura, por su disposición, apoyo y orientación.

Lisseth Jazmin Huayhua Mamani

Agradezco a Dios quien me ha guiado y me ha dado la fortaleza para seguir adelante, a mi madre Maria Janet Pari Ochochoque que ha sabido formarme con buenos sentimientos, hábitos y valores lo cual me ha ayudado a avanzar en los momentos difíciles, a mi hermana Leslie Marianela Condori Pari por su comprensión y estímulo constante, además de su apoyo incondicional a lo largo de mis estudios, y a todas las personas que de una y otra forma me apoyaron en la realización de este trabajo. Por último, agradecer a la universidad que me ha exigido tanto, pero al mismo tiempo me ha permitido obtener mi tan ansiado título.

Eddy Denilson Condori Pari

INDICE GENERAL

1. INTRODUCCIÓN	8
2. MATERIALES Y MÉTODOS	10
2.1. Toma de muestras de relaves mineros.....	10
2.2. Aislamiento e identificación microbiológica	11
2.3. Dosificación microbiana para tratamiento	11
2.4. Análisis fisicoquímicos	12
2.5. Análisis estadístico.....	12
3. RESULTADOS.....	12
3.1. Caracterización del relave minero	12
3.2. Análisis microbiológico.....	13
3.3. Capacidad remediadora de mercurio por bacterias nativas	14
3.4. Variación del pH en el tiempo por influencia del metabolismo celular bacteriana	14
3.5. Remoción de Hg por bacterias nativas aisladas	15
3.6. Interpretación Estadística	16
4. DISCUSIÓN	17
4.1. Caracterización de relaves mineros	17
4.2. Análisis microbiológico.....	18
4.3. Capacidad remediadora de mercurio por bacterias nativas	19
4.4. Variación del pH en el tiempo por influencia del metabolismo celular bacteriana	20
4.5. Remoción de Hg por bacterias nativas aisladas	21
REFERENCIAS	21

Remoción de mercurio por bacterias nativas aislada de relaves mineros

RESUMEN

El problema ambiental generado a partir de la contaminación por mercurio en zonas mineras afecta a la salud humana, a los ecosistemas, principalmente al ecosistema del suelo, modificando su calidad fisicoquímica y microbiológica. Los compuestos derivados del mercurio elemental como el mercurio orgánico y el metilmercurio presentes en el suelo pueden ingresar a la cadena trófica magnificando su toxicidad. Por esta razón se planteó el objetivo de evaluar la eficiencia de remoción de Hg mediante la aplicación de bacterias nativas aisladas de relaves mineros. Se aisló cinco cepas bacterianas, seleccionándose dos con codificaciones PA-RM01 y PA-RM03, debido a sus características morfológicas y bioquímicas en respuesta al ambiente contaminado, exhibiendo adaptaciones notables y una similitud con las bacterias del género *Pseudomona*; con el inóculo de las cepas bacterianas (T2, T3, T4, T5, T6 Y T7) se dosificaron a muestras de 50g de relaves mineros incubados a 37°C por un periodo de 24, 48 y 72 horas, con un blanco control (T1). En cuanto al acceso a nutrientes de la población bacteriana se limita a la concentración inicial de materia orgánica y macronutrientes para su metabolismo celular y para su crecimiento bacteriano. La mayor remoción del mercurio se asoció al T2 (PA-RM01 – 1.67ml de dosis) a las 72 horas con un porcentaje de remoción de 80.48. Este estudio resalta la importancia del uso de bacterias nativas como una alternativa de remediación de suelos contaminados con mercurio.

Palabras clave: metal tóxico; biotransformación; operón Mer

Mercury removal by native bacteria isolated from mine tailings

ABSTRACT

The environmental problem generated by mercury contamination in mining areas affects human health and ecosystems, mainly the soil ecosystem, modifying its physicochemical and microbiological quality. Compounds derived from elemental mercury such as organic mercury and methylmercury present in the soil can enter the trophic chain, magnifying their toxicity. For this reason, the objective was to evaluate the Hg removal efficiency through the application of native bacteria isolated from mine tailings. Five bacterial strains were isolated, selecting two with codifications PA-RM01 and PA-RM03, due to their morphological and biochemical characteristics in response to the contaminated environment, exhibiting remarkable adaptations and a similarity to bacteria of the genus *Pseudomona*; The bacterial strains (T2, T3, T4, T5, T6 and T7) were inoculated with 50 g samples of mine tailings incubated at 37°C for a period of 24, 48 and 72 hours, with a control blank (T1). Access to nutrients for the bacterial population was limited to the initial concentration of organic matter and macronutrients for cell metabolism and bacterial growth. The highest mercury removal was associated with T2 (PA-RM01 - 1.67ml dose) at 72 hours with a removal percentage of 80.48. This study highlights the importance of the use of native bacteria as an alternative for remediation of contaminated soils with mercury.

Keywords: toxic metal; biotransformation; Mer operon

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 atmosfera 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 (Hg⁰) es estable pero sufre reacciones químicas, biológicas y fotoquímicas (Mantey et al. 2020); y la forma mercuriosa (Hg¹⁺) no es estable, siendo propenso a la desproporción (Malik y Aleem. 2018); la forma inorgánica (Hg²⁺) 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 and 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 (CH₃Hg⁺), 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, cardiaco, 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 H₂O₂, Na₂S₂O₃ y Na₂S 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 and 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 and 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 and 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

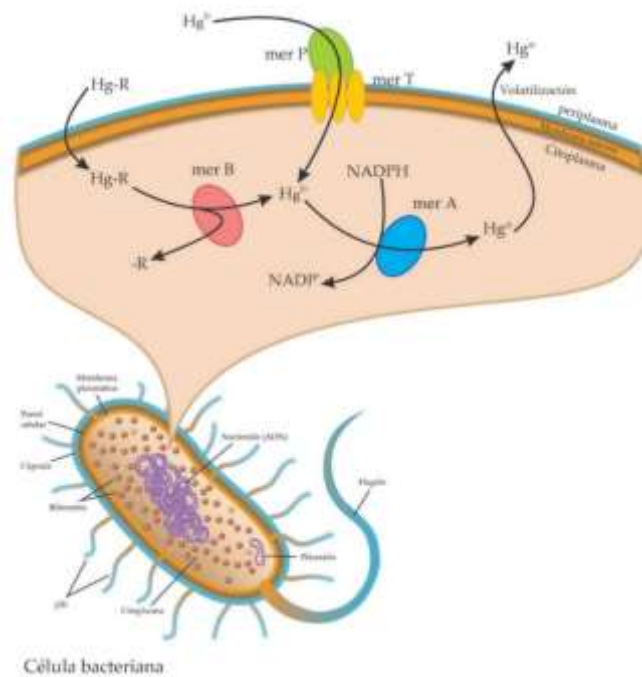
de los tratamientos aplicados en agua, suelo con costos accesibles (Besnard et al. 2021).

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 Hg²⁺ orgánico como el inorgánico a Hg⁰ 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 Hg²⁺ (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 *Pseudomona sp.* aisladas de un campo de hortalizas del distrito de Fengxian, Shanghái, China a una dosis de 100L/hm² 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 proporciona 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 responsable 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 Hg²⁺ 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 Hg²⁺ es reducido a Hg⁰ por el enzima mercúrico reductasa (MerA) con compuestos NADPH (Dash and 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

Esquematación del operón Mer en la bacteria. " MerA: Hg reductasa; MerB: liasa organomercurica; 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

2.1. Toma de muestras de relaves mineros

Se 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).

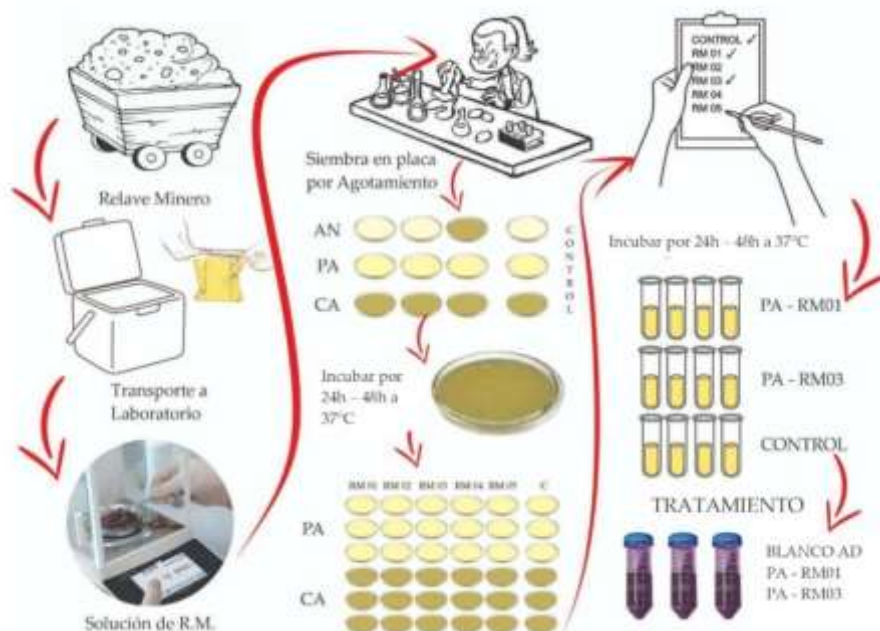
2.2. Aislamiento e identificación microbiológica

Para el aislamiento microbiológico de las bacterias nativas se utilizó la metodología de (Medvinsky-Roa and 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 Pseudomona 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 Pseudomona 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 and Zottola. 1997; Martínez-Sánchez et al. 1998; Shahzadi et al. 2019)

Figura 2

Esquematación del aislamiento bacteriano de relaves mineros.



2.3. 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 par la remoción de mercurio en relaves mineros.

Tratamientos	
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

2.4. 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).

2.5. 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 estadístico de Levene. Las pruebas estadísticas se realizaron con un nivel de significancia (α) 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

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.

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.

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	
Morfología	Tamaño	0.1cm	1.09 cm	0.05cm	0.67 cm
	Pigmentación (PA)	Crema	Blanquecina	Crema oscura	Crema
	Elevación	Planoconvexa	Umbilicada	Planoconvexa	Umbilicada
	Borde	Redondeado	Lobulado	Redondeado	Lobulado
	Forma	Circular	Irregular	Circular	Irregular
	Superficie	Lisa	Rugosa	Lisa	Rugosa
	Reflexión de Luz	Brillante	Mate	Brillante	Mate
	Aspecto	Húmedo	Seco	Húmedo	Seco
	Consistencia	Butirosa	Vitrea	Butirosa	Vitrea
Bioquímica	Tinción de Gram	Negativa	Negativa	Negativa	Negativa
	Catalasa	Negativa	Positiva	Negativa	Positiva
	Oxidasa	Negativa	Negativa	Positiva	Negativa
	Indol	Negativa	Negativa	Negativa	Negativa
	Agar Glucosa	Negativa	Positiva	Positiva	Positiva
	Simons Citrato Agar	Negativa	Negativa	Negativa	Negativa
	Agar MacConkey	Negativa	Negativa	Negativa	Negativa
	Agar Manitol	Negativa	Positiva	Negativa	Positiva
	Sabouraud Dextrosa Agar	Negativa	Positiva	Positiva	Positiva

Cetrimida Agar	Positiva	Positiva	Negativa	Negativa
Pseudomona Agar	Positiva	Positiva	Negativa	Positiva
Agar nutritivo	Positiva	Positiva	Positiva	Positiva
Agar Urea	Positiva	Positiva	Positiva	Positiva

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 *Pseudomona* sp.

3.3. Capacidad remediadora de mercurio por bacterias nativas

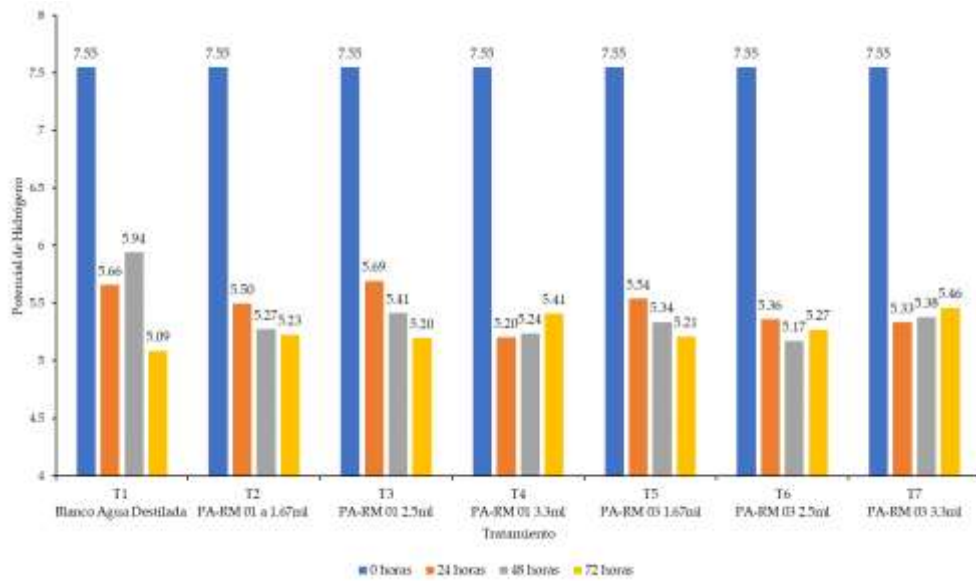
La aplicación del tratamiento experimental se realizó por un periodo de 72 horas, con una temperatura constante de 37°C y a una humedad relativa constante de 84% proporcionada por el agua destilada. En el transcurso del tratamiento se efectuaron mediciones correspondientes al pH y Hg.

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 continuó 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



3.5. Remoción de Hg por bacterias nativas aisladas

Figura 4.

Promedio de remoción del Hg por acción de las bacterias nativas aisladas

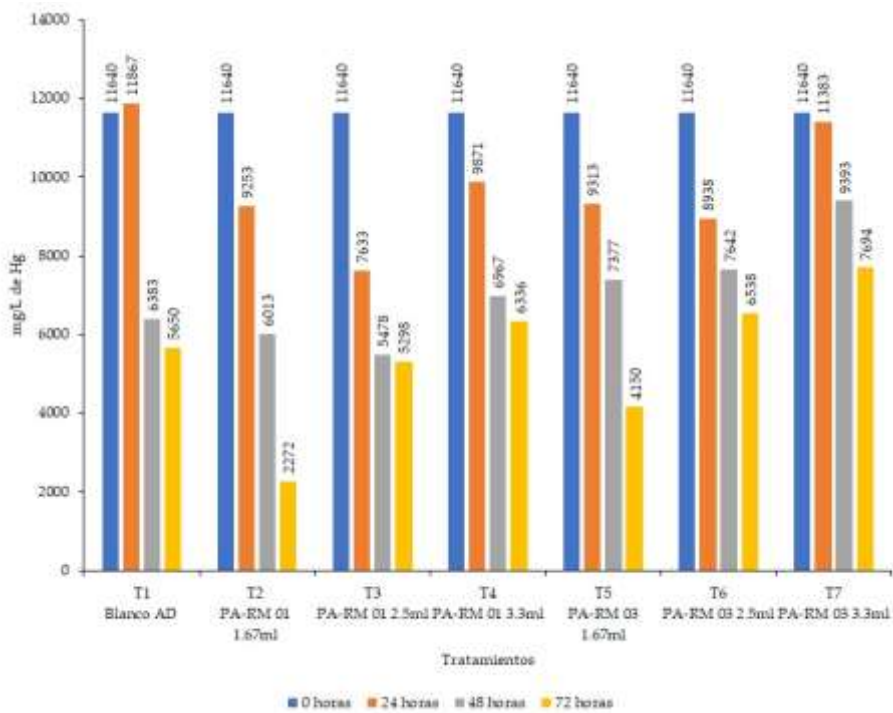
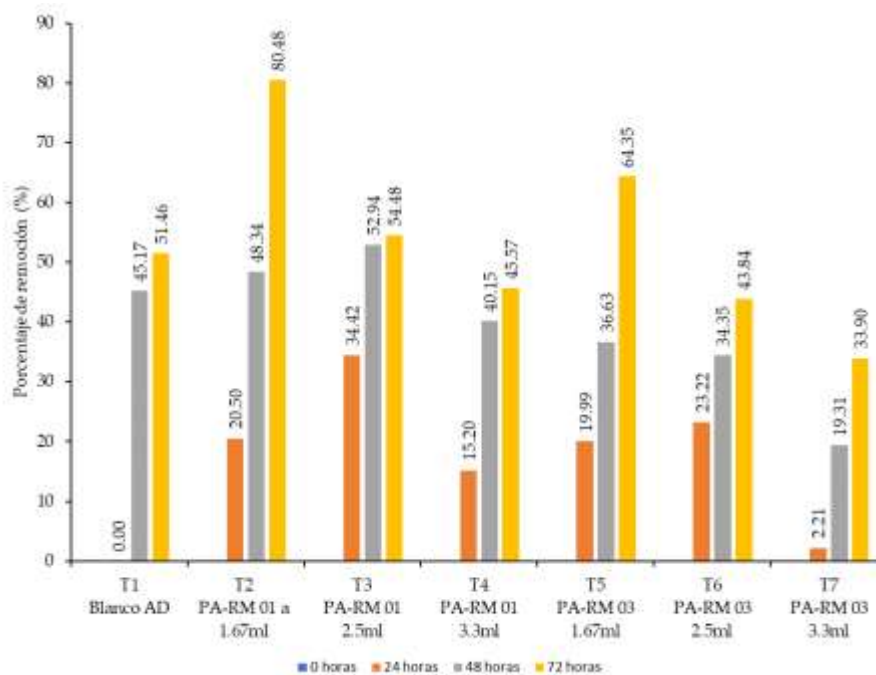


Figura 5.

Porcentaje de remoción del Hg por acción de las bacterias nativas aisladas



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.

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.

4. DISCUSIÓN

4.1. Caracterización de relaves mineros

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 and 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 pérdida 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).

4.2. Análisis microbiológico

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 (Ferrerres 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 (Arrieta 2001), mientras, PA-RM01 permaneció negativa señalando una menor capacidad de neutralizar el peróxido de hidrógeno, sugiriendo una mayor probabilidad de estrés oxidativo (Shen and 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 ($\text{Hg}^{2+} + \text{O}_2 \rightarrow \text{Hg}_2\text{O}_2$ como superóxido, $\text{O}_2^{\bullet-} + \text{H}_2\text{O} \rightarrow \text{H}_2\text{O}_2 + \text{O}_2$ como peróxido de hidrógeno, $\text{H}_2\text{O}_2 + \text{Fe}_2^+ \rightarrow \bullet\text{OH} + \text{OH}^- + \text{Fe}_3^+$ 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, FADH₂, CO₂ y ATP las que serán aprovechadas como fuente de energía celular (Malik and 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 and 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 Pseudomona 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 and 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 *Pseudomona*, sin embargo, es necesario realizar pruebas moleculares para su identificación específica.

4.3. Capacidad remediadora de mercurio por bacterias nativas

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 (Rodríguez 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 (Rodríguez 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).

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

Los resultados de la Figura 2 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 mostraron 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^+ , 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^-) 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.

4.5. Remoción de Hg por 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 3). 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, convirtiéndolo 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 and 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.

REFERENCIAS

- Al-Ansari, M. M., H. Benabdelkamel, R. H. AlMalki, A. M. Abdel Rahman, E. Alnahmi, A. Masood, S. Ilavenil, y 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, y 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, y 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, y 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., y 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/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, y 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, y 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, y 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.
- Caiza, G. 2018. Mercurio en el Suelo. Contaminación y remediación. Universidad Complutense, Facultad de Farmacia:1-20. <https://bit.ly/41JBpEI>
- Calheiros, C. S. C., S. I. A. Pereira, y 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, y 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, y 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, y 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, y C. Geng. 2024. Modelling polarization effect in electrical conductivity of frozen soil. *Cold Regions Science and Technology* 218:104075. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.coldregions.2023.104075>
- Choudhary, V., K. Wu, Z. Zhang, M. Dulchavsky, T. Barkman, J. C. A. Bardwell, y 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/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, y 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/https://doi.org/10.1016/j.cdc.2021.100650>
- Dash, H. R., y S. Das. 2012. Mercury bioremediation and the importance of bacterial mer genes. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.ibiod.2012.07.023>
- Dermont, G., M. Bergeron, G. Mercier, y 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. Styrihave, 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, y 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, y 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/https://doi.org/10.1016/S1575-0973\(01\)78583-2](https://doi.org/https://doi.org/10.1016/S1575-0973(01)78583-2)

- Ferreres, G., K. Ivanova, J. Torrent-Burgués, y 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/https://doi.org/10.1016/j.jcis.2023.04.184>
- Francisco López, A., E. G. Heckenauer Barrón, y 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, y 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/https://doi.org/10.1016/j.wri.2016.10.002>
- Ge, Q., Q. Tian, R. Hou, y 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/https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2021.132835>
- Ghosh, S., S. Banerjee, A. Mukherjee, y 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/https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2023.139184>
- Golding, G. R., R. Sparling, y 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, y 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, y A. H. Baczewska-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, y 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/https://doi.org/10.1016/j.catena.2023.107408>
- Han, T., K. Liu, J. Huang, M. N. Khan, Z. Shen, J. Li, y 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/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., y 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/https://doi.org/10.4315/0362-028X-60.9.1135>

- Imron, M. F., S. B. Kurniawan, y 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/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, y 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, y 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/https://doi.org/10.1016/j.idnow.2023.104764>
- Jafari, S. A., S. Cheraghi, M. Mirbakhsh, R. Mirza, y 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, y 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, y 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, y 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/es026366o>
- Kucharski, R., A. Sas-Nowosielska, E. Małkowski, J. Japenga, J. M. Kuperberg, M. Pogrzeba, y 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, y 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/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, y 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 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/https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2023.140558>
- Mahbub, K. R., M. M. Bahar, M. Labbate, K. Krishnan, S. Andrews, R. Naidu, y 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, y 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., y 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, y 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, y 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/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/3RIA81i>
- McCarthy, D., G. C. Edwards, M. S. Gustin, A. Care, M. B. Miller, y A. Sunna. 2017. An innovative approach to bioremediation of mercury contaminated soils from industrial mining operations. *Chemosphere* 184:694-699. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2017.06.051>
- Medvinsky-Roa, G. ;Caroca, V; Vallejos, J. 2015a. 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>
- Medvinsky-Roa, G. ;Caroca, V; Vallejos, J. 2015b. 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.
- Mezzari, M. P., D. M. H. Zimermann, H. X. Corseuil, y 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/3RO59fG>
- Mohan, M., M. S. S. Chandran, y 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. Huneus, F. Lambert, J. L. McCarty, J. Mc Phee, M. Mena-Carrasco, G. B. Raga, C. Schmitt, y 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, y 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, y 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/https://doi.org/10.1016/0039-9140\(84\)80235-0](https://doi.org/https://doi.org/10.1016/0039-9140(84)80235-0)
- Nguyen, T. H., S. Won, M.-G. Ha, D. D. Nguyen, y H. Y. Kang. 2021. Bioremediation for environmental remediation of toxic metals and metalloids: A review on soils, sediments, and mine tailings. *Chemosphere* 282:131108. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2021.131108>
- Ochoa-Agudelo, S., J. Bedoya-Velez, y 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, y 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/https://doi.org/10.1016/j.sciaf.2023.e01921>
- Okino, S., K. Iwasaki, O. Yagi, y H. Tanaka. 2000. Development of a biological mercury removal-recovery system. *Biotechnology Letters* 22:783-788. <https://doi.org/10.1023/A:1005653825272>
- ONU, M. A. 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 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/https://doi.org/10.1016/j.apsoil.2021.104284>
- Patel, J. H., D. J. Ong, C. R. Williams, L. K. Callies, y A. E. Wills. 2022. Elevated pentose phosphate pathway flux supports appendage regeneration. *Cell Reports* 41:111552. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.celrep.2022.111552>
- Peng, Y., Q. Liu, D. Xu, J. Fu, L. Zhang, L. Qiu, y 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/https://doi.org/10.1016/j.bcp.2023.115856>

- Powers-Fletcher, M. V, y 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/https://doi.org/10.1016/j.diagmicrobio.2023.115923>
- Pribil, M. J., V. Rimondi, P. Costagliola, P. Lattanzi, y 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, y 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/https://doi.org/10.3168/jds.2020-18527>
- Rasmussen, L. D., y 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., y 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, y 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, y 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/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, y 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, y J. Shuster. 2023. From biomolecules to biogeochemistry: Exploring the interaction of an indigenous bacterium with gold. *Chemosphere* 339:139657. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2023.139657>
- Shahzadi, S., Z. Khan, A. Rehman, M. A. Nisar, S. Z. Hussain, y 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/https://doi.org/10.1016/j.eti.2019.100359>
- Shen, C., y 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/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 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, y 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, y 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/https://doi.org/10.1016/j.micres.2019.126394>
- Vermote, L., J. De Roos, M. Cnockaert, P. Vandamme, S. Weckx, y 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/https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2023.110163>
- Wang, J., y M. Aghajani Delavar. 2023. Techno-economic analysis of phytoremediation: A strategic rethinking. *Science of The Total Environment* 902:165949.
<https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2023.165949>
- Wang, X., W. Yuan, C.-J. Lin, y 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, y 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/https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2023.167174>
- West, A. W., D. J. Ross, y 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/https://doi.org/10.1016/0038-0717\(86\)90018-0](https://doi.org/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/https://doi.org/10.1016/B978-0-12-762860-8.50005-4>
- Xiang, Y., Y. Wang, H. Shen, y 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, y 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/https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2023.140042>
- Yang, G., H. Wang, X. Zhang, y 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/https://doi.org/10.1016/j.algal.2023.103050>

- Yang, Y. kui, C. Zhang, X. jun SHI, T. Lin, y 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, y Z. Chen. 2023. Isolation and identification of mercury-tolerant bacteria LBA119 from molybdenum-lead mining soils and their removal of Hg²⁺. *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, y 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/https://doi.org/10.1016/j.apsoil.2023.105161>
- Zhao, C., J. Wang, F. Zang, W. Tang, G. Dong, y 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/https://doi.org/10.1016/j.ejsobi.2022.103419>

ANEXOS

Anexo 1.

Evidencia de sumisión del artículo

18/12/23, 18:27

Gmail - [EA] Acuse de recibo de envío



Lisseth HM <lissethjhm@gmail.com>

[EA] Acuse de recibo de envío

Esteban Jobbágy via Ecología Austral <noreply@ecologiaaustral.com.ar>

18 de diciembre de 2023, 18:12

Responder a: Esteban Jobbágy <manuscritos@ecologiaaustral.com.ar>

Para: Lisseth Jazmin Huayhua Mamani <lissethjhm@gmail.com>

Lisseth Jazmin Huayhua Mamani:

Gracias por enviar el manuscrito, "La Remoción de mercurio por bacterias nativas aislada de relaves mineros: Mercury removal by native bacteria isolated from mine tailings" a Ecología Austral. Con nuestro sistema de gestión de revistas en línea, podrá iniciar sesión en el sitio web de la revista y hacer un seguimiento de su progreso a través del proceso editorial:

URL del manuscrito: https://ojs.ecologiaaustral.com.ar/index.php/Ecologia_Austral/authorDashboard/submission/2372

Nombre de usuario/a: lisseth_27

En caso de dudas, contáctenos a manuscritos@ecologiaaustral.com.ar

Eva L. Florio
Editora de compaginación y comunicación
Ecología Austral

Esteban Jobbágy
Este es un mail automatico, por favor no lo responda

Ecología Austral - <http://ojs.ecologiaaustral.com.ar>

Anexo 2.

Copia de resolución de inscripción del perfil de proyecto de tesis en formato artículo aprobado por el consejo de facultad correspondiente



“AÑO DE LA UNIDAD, LA PAZ Y EL DESARROLLO”

RESOLUCIÓN N° 0953-2023/UPeU-FIA-CF

Lima, Naña, 12 de diciembre de 2023

VISTO:

El expediente de los (las) bachilleres **Liseth Jazmin Huayhua Mamani** identificado(a) con código universitario N° 201610709 y **Eddy Denilson Condori Pari** identificado(a) con código universitario N° 201712481, de la Escuela Profesional de Ingeniería Ambiental de la Facultad de Ingeniería y Arquitectura de la Universidad Peruana Unión;

CONSIDERANDO:

Que la Universidad Peruana Unión tiene autonomía académica, administrativa y normativa, dentro del ámbito establecido por la Ley Universitaria N° 30220 y el Estatuto de la Universidad;

Que la Facultad de Ingeniería y Arquitectura de la Universidad Peruana Unión, mediante sus reglamentos académicos y administrativos, ha establecido las formas y procedimientos para la sustentación de la tesis en formato artículo;

Que el Comité Dictaminador ha emitido su dictamen aprobando el informe de tesis titulado "Remoción de mercurio por bacterias nativas aisladas de relaves mineros", presentado por los(las) bachilleres **Liseth Jazmin Huayhua Mamani** y **Eddy Denilson Condori Pari**, reuniendo de esta manera las condiciones previas para la declaratoria de expedito para la programación de la sustentación;

Estando a lo acordado en la sesión del Consejo de la Facultad de Ingeniería y Arquitectura de la Universidad Peruana Unión, celebrada el 12 de diciembre de 2023, y en aplicación del Estatuto y el Reglamento General de investigación de la Universidad;

SE RESUELVE:

1. Declarar expedito a los (las) bachilleres **Liseth Jazmin Huayhua Mamani** y **Eddy Denilson Condori Pari**, para que sustenten la tesis en formato artículo titulada "Remoción de mercurio por bacterias nativas aisladas de relaves mineros", conducente a la obtención del título profesional de Ingeniero Ambiental, el 21 de diciembre de 2023, a las 10:00 horas, en el Auditorio Wellesley Muir.
2. Designar el Jurado de Sustentación, encargado de gestionar la sustentación respectiva, el mismo que queda constituido por los siguientes miembros:

Presidente: Ing. Enrique Mamani Cuela
Secretario: MSc. Loayda Abigail Condori Turpo
Asesor: MSc. Rose Adeline Callata Chura
Vocal 1: Mtro. Juan Eduardo Vigo Rivera
Vocal 2: Ing. Nancy Curasi Rafael

Regístrese, comuníquese y archívese.




Dra. Erika Inés Acuña Salinas
DECANA

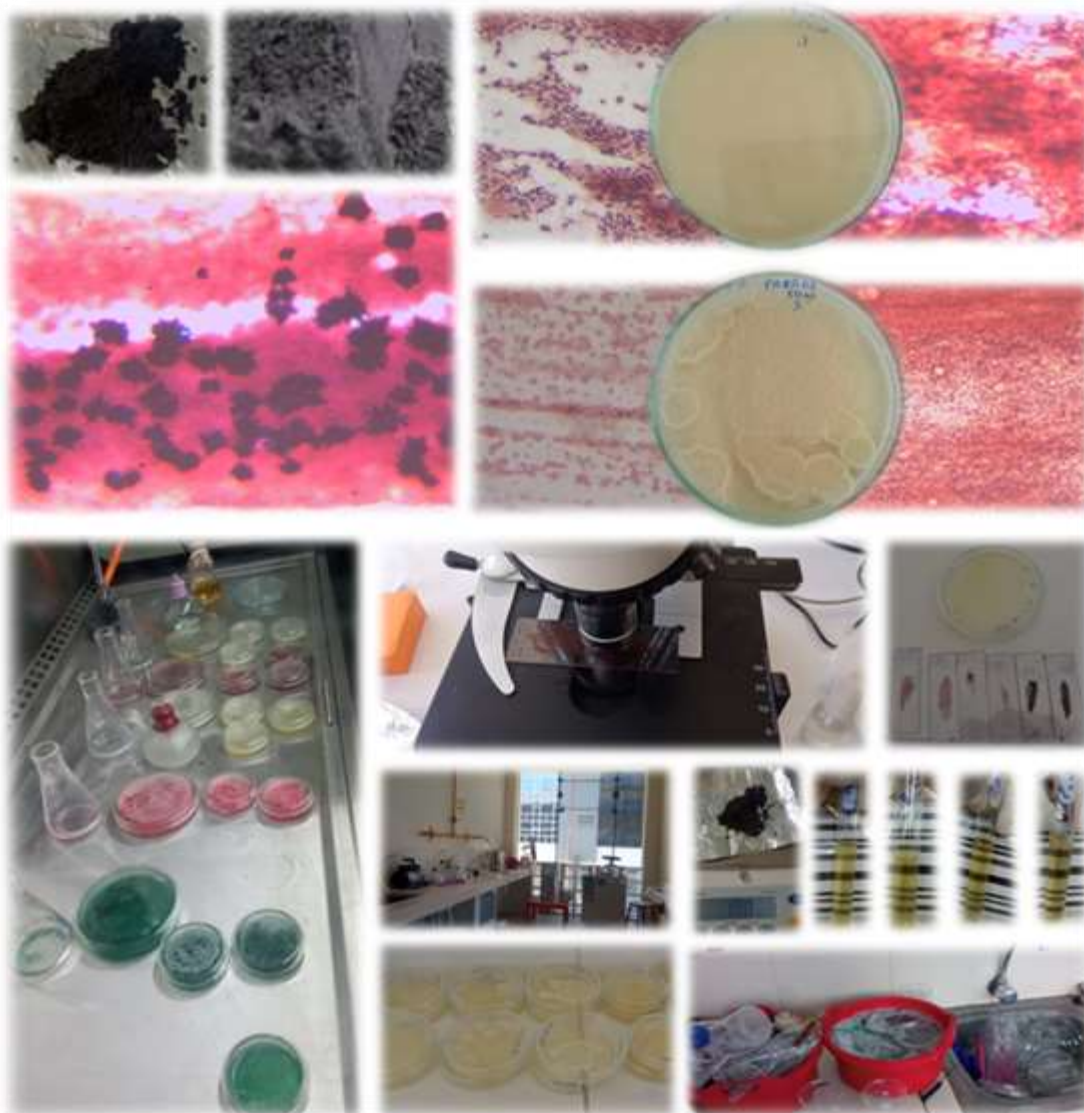



Mg. Ketty Magaly Arellano Lino
SECRETARIA ACADÉMICA

cc:
-Interesado
-Jurado (04)
-Secretaría General
-Archivo

Anexo 3.

Panel fotográfico de la ejecución del proyecto de investigación.



Anexo 4.

Constancia de revisión lingüista

CONSTANCIA

Yo, **JAEL CALLA CALLA**, docente de la E.P. Ingeniería Ambiental y especialista en REDACCIÓN TÉCNICA AMBIENTAL e idioma extranjero (INGLÉS).

Realicé la revisión de la **redacción** y del **abstract** del trabajo de investigación titulado "*Remoción de mercurio por bacterias nativas aislada de relaves mineros*" de los estudiantes: Lisseth J. Huayhua Mamani y Eddy D. Condori Pari, de la E.P. Ingeniería Ambiental.

Siendo el resultado el siguiente:

- Aprobado sin Observaciones

Constancia que se expide a petición de la parte interesada el 19 de diciembre del 2023.



Firma

CIP:146540

DNI:10250002

**PERÚ**

Ministerio de Educación

Superintendencia Nacional de
Educación Superior UniversitariaDirección de Documentación e
Información Universitaria y
Registro de Grados y Títulos**REGISTRO NACIONAL DE GRADOS ACADÉMICOS Y TÍTULOS PROFESIONALES**

Graduado	Grado o Título	Institución
CALLA CALLA, JAEL DNI 10250002	INGENIERO AGRONOMO Fecha de diploma: 14/11/2003 Modalidad de estudios: -	UNIVERSIDAD NACIONAL AGRARIA LA MOLINA <i>PERU</i>
CALLA CALLA, JAEL DNI 10250002	BACHILLER EN CIENCIAS - AGRONOMIA Fecha de diploma: 24/11/1998 Modalidad de estudios: - Fecha matrícula: Sin información (***) Fecha egreso: Sin información (***)	UNIVERSIDAD NACIONAL AGRARIA LA MOLINA <i>PERU</i>
Calla Calla, Jael DNI 10250002	Magister Scientiae en Ingeniería Ambiental Fecha de diploma: 27/12/17 Modalidad de estudios: PRESENCIAL Fecha matrícula: 19/04/2014 Fecha egreso: 31/07/2016	UNIVERSIDAD NACIONAL DEL ALTIPLANO <i>PERU</i>
CALLA CALLA, JAEL DNI 10250002	TÍTULO DE SEGUNDA ESPECIALIDAD PROFESIONAL EN ENSEÑANZA DEL INGLÉS COMO LENGUA EXTRANJERA ENSEÑANZA DEL INGLÉS COMO LENGUA EXTRANJERA Fecha de diploma: 09/11/18 Modalidad de estudios: PRESENCIAL Fecha matrícula: 30/03/2015 Fecha egreso: 28/02/2016	UNIVERSIDAD ANDINA NÉSTOR CÁCERES VELÁSQUEZ <i>PERU</i>

Anexo 5.

Constancia de revisión estadística

Juliaca 16 de diciembre de 2023

A quien corresponda:

El que suscribe Ingeniero Estadístico e Informático Henry Pari Mamani, hace constatar la validación Estadística del trabajo de investigación de los interesados:

LISSETH JAZMIN HUAYHUA MAMANI Y EDDY DENILSON CONDORI PARI

La validación estadística de la investigación denominada “Remoción de mercurio por bacterias nativas aislada de relaves mineros” consta de un diseño DBCA (Diseño De Bloques Completamente Aleatorio), donde se realizó un ANOVA (Análisis de Varianza) para determinar la influencia de las bacterias nativas sobre el componente de pH y remoción de mercurio, teniendo los factores de tratamiento y horas, para ello precedentemente se realizó la prueba de normalidad de Shapiro-Wilk y homogeneidad de varianza por la prueba estadística de Levene, posterior a ello se aplicó la prueba H de Kruskal-Wallis para los resultados no significativos de los supuestos del modelo. Finalmente se realizó las comparaciones múltiples de Tukey y Duncan para determinar las mejores pruebas.

Se expide el presente documento a solicitud de los interesados.

ATENTAMENTE.



Henry Pari Mamani
INGENIERO ESTADÍSTICO E INFORMÁTICO
CIP: 263331

ING. HENRY PARI MAMANI
ESTADISTICO E INFORMATICO

**PERÚ**

Ministerio de Educación

Superintendencia Nacional de
Educación Superior UniversitariaDirección de Documentación e
Información Universitaria y
Registro de Grados y Títulos**REGISTRO NACIONAL DE GRADOS ACADÉMICOS Y TÍTULOS PROFESIONALES**

Graduado	Grado o Título	Institución
PARI MAMANI, HENRY DNI 42152724	INGENIERO ESTADISTICO E INFORMATICO Fecha de diploma: 24/06/2014 Modalidad de estudios: -	UNIVERSIDAD NACIONAL DEL ALTIPLANO <i>PERU</i>
PARI MAMANI, HENRY DNI 42152724	BACHILLER EN CIENCIAS ESTADISTICAS E INFORMATICA Fecha de diploma: 21/08/2009 Modalidad de estudios: - Fecha matrícula: Sin información (***) Fecha egreso: Sin información (***)	UNIVERSIDAD NACIONAL DEL ALTIPLANO <i>PERU</i>
PARI MAMANI, HENRY DNI 44615825	BACHILLER EN MEDICINA Fecha de diploma: 11/04/16 Modalidad de estudios: PRESENCIAL. Fecha matrícula: 27/04/2004 Fecha egreso: 25/01/2016	UNIVERSIDAD NACIONAL DE LA AMAZONIA PERUANA <i>PERU</i>
PARI MAMANI, HENRY DNI 44615825	MÉDICO CIRUJANO Fecha de diploma: 05/09/16 Modalidad de estudios: PRESENCIAL.	UNIVERSIDAD NACIONAL DE LA AMAZONIA PERUANA <i>PERU</i>