

FACULTAD DE CIENCIAS BÁSICAS Y BIOMÉDICAS

PROGRAMA MICROBIOLOGÍA

**AISLAMIENTO E IDENTIFICACIÓN DE BACTERIAS RESISTENTES
AL MERCURIO EN SEDIMENTOS DE LA CIÉNAGA DE
MALLORQUÍN, ATLÁNTICO, COLOMBIA.**

Presentado por:

Valentina Bravo Ortiz

Natalia Carolina Consuegra Padilla

Alfredo de Jesús Robledo Meza

Profesor Tutor:

Zamira Elena Soto Varela

Co-tutor:

Mario Peña Freile

Trabajo de investigación

11 noviembre 2022

**BARRANQUILLA, ATLÁNTICO REPÚBLICA
DE COLOMBIA**

RESUMEN

La contaminación con metales pesados son una de las problemáticas ambientales que más afectan a los ecosistemas acuáticos, uno de los factores que influyen en esto son las prácticas industriales y mineras que arrojan los metales pesados como desechos a los afluentes y que pueden ocasionar la muerte de la flora, fauna, diversidad microbiana e incluso a los habitantes que rodean esta zona, causando afectaciones en órganos o tejidos e incluso cáncer. El objetivo de esta investigación es determinar la presencia de bacterias tolerantes al mercurio en muestras de sedimentos en la Ciénaga de Mallorquín ubicada en el Departamento del Atlántico, Colombia con potencial para una futura biorremediación de este ecosistema. Las muestras de sedimentos fueron tomadas de 4 puntos de la ciénaga, a partir de las cuales se realizaron cultivos para el aislamiento de bacterias. A los aislados bacterianos se les realizaron pruebas de susceptibilidad al mercurio en su forma de sal (HgCl) con concentraciones de 0,01 mM, 0,05 mM, 0,1 mM, 0,25 mM 0,50 mM y 0,75 mM. Las cepa 003 *Micrococcus aloeverae* y 008 *Halobacillus dabanensis* fueron las que tuvieron mayor tolerancia al crecer a concentraciones de 0,5 mM. Por último, el aislamiento de bacterias que resisten altas concentraciones de Hg abre la posibilidad en un futuro de biorremediar los ecosistemas contaminados con este metal pesado.

PALABRAS CLAVES: Contaminación de agua, laguna, metales pesados, resistencia bacteriana.

ABSTRACT

Heavy metals are one of the environmental problems that most affect lagoon ecosystems, this is caused by industrial and mining practices that throw heavy metals as waste into tributaries and that can cause the death of flora and fauna, causing damage to organs or tissues and even cancer. The objective of this research is to determine the presence of mercury-tolerant bacteria in sediment samples in the Majorcan swamp located in the Department of Atlántico, Colombia with potential for future bioremediation of this ecosystem. The sediment samples were taken from 4 points of the swamp, from which cultures were made for the isolation of bacteria; Bacterial isolates were tested for susceptibility to mercury in its salt form (HgCl) with concentrations of 0.01 mM, 0.05 mM, 0.1 mM, 0.25 mM, 0.50 mM and 0.75 mM. Strain 003 *Micrococcus aloeverae* and 008 *Halobacillus dabanensis* were the ones with the highest tolerance when growing at concentrations of 0.5 mM. Finally, the genetic identification of resistant bacteria was done using the 16S rRNA gene. The isolation of bacteria that resist high concentrations of Hg opens the possibility in the future of bioremediating ecosystems contaminated with this heavy metal.

KEYWORDS: Bacterial resistance, heavy metals, lagoon, pollutants, water contamination.

INTRODUCCIÓN

La contaminación ambiental es considerada como uno de los problemas que más está afectando a la sociedad y al medio ambiente en el siglo XXI. (Reyes et al., 2016), entre estos contaminantes ambientales se encuentran los metales pesados, los cuales, en la actualidad son un grave problema por la contaminación de fuentes hídricas en el mundo (Pabón et al., 2020). Estos problemas de contaminación por metales pesados son comúnmente ocasionados por actividades mineras, por las industrias que vierten sus desechos sin tratamientos previos y por productos que son arrojados a las fuentes hídricas por la comunidad (Prieto et al., 2009). Estos metales pesados pueden incorporarse a diferentes ecosistemas, en especial a los acuáticos, lo cual puede ocasionar intoxicaciones mediante el consumo de peces que habitan en este ecosistema causando problemas en la salud humana y animal como efectos teratogénicos, cáncer e incluso la muerte (Londoño Franco et al., 2016). Ahora bien, se han encontrado concentraciones de As, Cr, Cd y Pb superiores a los valores seguros en el río Karnaphuli, Bangladesh (Mohammad M, et al, 2006). Tal como en humedales de ventanilla, Perú donde encontraron que el arsénico y el mercurio tenían valores altos, lo cual era preocupante (Fajardo Vidal & Solís Acosta, 2017) , del mismo modo, en la Ciénaga de Mallorquín, Barranquilla-Colombia, se han encontrado altos niveles de Hg, Cr y Cd (Portz et al., 2020).

El mercurio (Hg) es considerado como uno de los elementos más tóxicos que afectan la salud humana y los ecosistemas (Mesquidaz et al., 2013), cuyo riesgo depende de la fase química en que se encuentre, por ejemplo, el metilmercurio, el cual es un compuesto orgánico del mercurio, se caracteriza por ser uno de los más tóxicos, este se incorpora fácilmente en la cadena alimenticia y tiene la capacidad de bioacumularse en los seres vivos, como en los peces, en los cuales se ha podido encontrar su presencia en concentraciones elevadas, que al ser ingeridos por la comunidad o por otros animales causa problemas en el sistema nervioso, cardiovascular, daños en el cerebro en estado fetal y también puede ser cancerígeno (Reyes Y, et al. 2016). Las intoxicaciones por mercurio suceden desde la antigüedad, uno de los casos más conocidos es el desastre de Minamata en Japón, el cual ocurrió entre 1932 y 1968 provocando un desorden neurotóxico conocido en la actualidad como enfermedad de Minamata a causa del vertimiento de varios compuestos orgánicos de mercurio (García et al., 2010; Zarza, 2017). En un estudio realizado por Basu et al., (2018), encontraron que la mayoría de los participantes tenían concentraciones por debajo de 5µg/L de Hg en la sangre, resaltando a la república de Corea como la más alta de dichas concentraciones, seguido por Francia, Bélgica y Eslovenia, en donde los adultos tenían aproximadamente 2,1 veces valores más altos que los niños. Sin embargo, Estados Unidos, Canadá y República Checa han disminuido concentraciones de Hg en sangre a lo largo de los años, debido a estrategias como el convenio de Minamata, en el cual se busca proteger la salud humana y el medio ambiente de las emisiones y liberaciones antropógenos de mercurio (Organización De Las Naciones Unidas, 2019).

En Colombia en un periodo entre el 2007 y el 2011, se encontró que los mayores casos de intoxicación por metales pesados eran por inhalación (79.33%), la mayoría de los casos se encontraron en personas entre 20 a 49 años, resaltando que las personas mayores a 20 años habían padecido intoxicaciones crónicas, lo cual puede deberse a que el daño por metales pesados está mediado por el tiempo en contacto con dichos compuestos (Muñoz & Domínguez, 2013). De acuerdo con lo anterior, en Colombia, se establecieron políticas de

control como la ley 1658 del 2013 que prohíbe el uso del mercurio para la minería, pero las industrias pueden seguir utilizándolo hasta el 15 de julio del 2023, lo que sigue provocando un aumento de las concentraciones de mercurio en aguas. En este sentido, un estudio reciente, reportó que el mercurio en la Ciénaga de Mallorquín era uno de los metales pesados que se encontraba por encima de los límites establecidos en Colombia (Portz et al., 2020).

Aunque para diversos organismos el mercurio y otros metales pesados tienen una alta toxicidad, algunas bacterias consiguen adaptarse a diversas condiciones ambientales para poder sobrevivir, lo que les permite vivir en presencia de dichas sustancias y al mismo tiempo transformarlas en menos tóxicas, asimismo estas adquieren resistencia a estos metales, abriendo una puerta como opción para biorremediación. Sin embargo, hasta el momento solo se han implicado dos microorganismos en la biorremediación de metales pesados, *Bacillus* spp y *Shewanella oneidensis* (Beltrán & Gómez, 2016). El estudio para el control de esta problemática se ha incrementado poco a poco, de hecho, existen diferentes estrategias basadas en microorganismos, entre estas la microrremediación, la cual es una de las opciones más recomendadas puesto que tiene la capacidad de minimizar la toxicidad y la biodisponibilidad de los metales pesados (Beltrán & Gómez, 2016).

Una de las técnicas usadas en la biorremediación es la bioaumentación, la cual se caracteriza por activar a la población microbiana nativa, que será el punto de partida para empezar con el proceso de biorremediación con el fin de remover la acumulación de metales peligrosos (Rajendran et al., 2003). Por tal razón, estudiar y conocer los microorganismos y mecanismos que actúan para la tolerancia de metales pesados es indispensable, debido a que estos se pueden encontrar en cualquier lugar contaminado por dichos compuestos, además, el hecho de conocer las interacciones metal-microbiota permite realizar e implementar diferentes métodos de remoción, recuperación o detoxificación de metales pesados en el ecosistema, ya que muchos de estos son capaces de retener los metales pesados a intervalos de tiempo cortos cuando están en contacto con Cr, Ni, Zn, Hg, etc. (Michael, 2000). Cabe resaltar que el estudio de microorganismos tolerantes de metales pesados tiene diferentes intenciones, una de estas es restaurar los ecosistemas y minimizar los costos en el proceso de remediación, es por esto que la búsqueda de estos microorganismos se encuentra de manera constante, ya sea para ser utilizado un solo microorganismo o como consorcios microbianos (Lebeau et al., 2002).

El presente trabajo de investigación se desarrolló en la Ciénaga de Mallorquín, ubicada en el extremo norte de Barranquilla sobre la desembocadura del río Magdalena, caracterizada por ser una laguna costera en el que se ha determinado la presencia de diferentes metales pesados como el Cr, Ni, Cd y Hg (Bolívar, 2020). Para poder tratar la contaminación del agua, una alternativa podría ser utilizar microorganismos de sedimentos de esta Ciénaga de Mallorquín, que estén adaptados a las condiciones del sitio, que tenga la capacidad de ser resistente al mercurio y que pueda bioacumularlo o transformarlo en una sustancia menos tóxica, siendo así una alternativa viable en la biorremediación de estos ecosistemas. Por tal motivo, el objetivo primordial de esta investigación fue la determinación de la presencia de bacterias tolerantes al mercurio en muestras de sedimentos en la ciénaga de Mallorquín como potencial para una futura biorremediación de este ecosistema.

MATERIALES Y MÉTODOS

Área de estudio y colección de muestras

El área de muestreo fue en la ciénaga de mallorquín, la cual está ubicada al extremo nororiental de la ciudad de Barranquilla, en el margen izquierdo de donde desemboca el río Magdalena con el mar Caribe, denominado “Boca de cenizas” formando así, el fenómeno geográfico que se conoce como agua salobre por la mezcla del Río Magdalena con el mar Caribe, a los alrededores de la Ciénaga se encuentran el barrio Las flores y el corregimiento La Playa. Por otro lado, su tamaño oscila entre 857 y 650 hectáreas y sus principales afluentes son el Arroyo Grande y Hondo o León, Arroyo San Luis y Granada. (Páez C, 2015; Alcaldía de Barranquilla, s.f.).

Para la recolección de las muestras se establecieron 4 puntos de muestreo en los cuales Portz L, et al, en 2020, encontraron mayores concentraciones de Hg en sedimentos, por lo que es probable que en estas zonas se encuentren bacterias resistentes al Hg. *Figura 1*. Posteriormente, se recogieron 500g de sedimentos en cada punto de muestreo en bolsas estériles para la toma de muestras (Whirl-Pak) las cuales estuvieron en refrigeración para su posterior traslado al laboratorio.



Figura 1. Puntos de muestreo en la Ciénaga de Mallorquín, Barranquilla, Colombia.

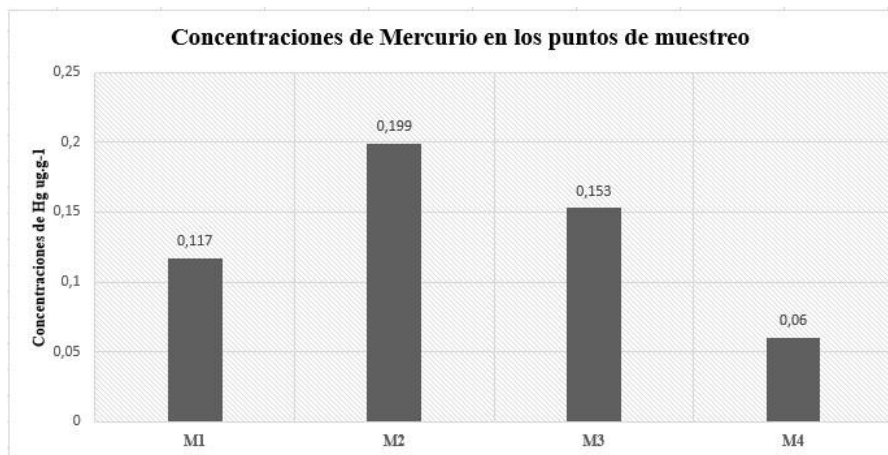


Figura 2. Concentraciones de mercurio medidas en el año 2020 en ug.g-1 en los puntos de toma de muestras.

Fuente: (Bolívar D, 2020)

Aislamiento

Para el aislamiento de las bacterias presentes en las muestras se realizaron diluciones seriadas 1/10, pesando 10 gramos de sedimento y agregándolos en 90 ml de solución salina al 0,9%, posteriormente las diluciones 10^{-3} y 10^{-4} se sembraron por duplicado utilizando el asa de Drigalsky, agregando 100 μ l en agar BHI con un 25% de agua de mar estéril. Para la prueba de susceptibilidad se tomaron las colonias diferentes en forma, color y margen de los diferentes medios de cultivo.

Prueba de susceptibilidad al mercurio

Inicialmente, se realizó un inóculo en BHI para la activación de cepas que se encontraban conservadas por 3 semanas en glicerol, a partir de este cada aislado se inóculó en caldo BHI con diferentes concentraciones de Hg en su forma de sal, es decir, (HgCl), dichas concentraciones fueron en forma ascendente (0,01, 0,05, 0,1, 0,25 y 0,75 mM), asegurando así que las bacterias que consigan crecer en concentraciones más elevadas de HgCl tengan mayor resistencia a este metal.

Identificación de bacterias tolerantes al mercurio.

El proceso de identificación se realizó para todas las colonias aisladas que eran diferentes forma, color y margen. Se realizó un análisis macroscópico y microscópico mediante observación directa y tinción de Gram a todas las bacterias aisladas.

La identificación genética se realizó en el laboratorio de Ecología Microbiana de Ambientes extremos del Centro de Biología Molecular Severo Ochoa en Madrid, España, mediante la amplificación del gen del ARNr 16s, para esto se empleó la PCR de colonias, donde se utilizó 5,0 μ L de tampón 10x (Tris-HCl 10 mM, KCl 50 mM), 2,0 μ L de 50 mM MgCl₂, 0,5 μ L de 10 mM dNTP, 0,5 μ L de cada cebador (50 μ M), 0,125 μ L de ADN polimerasa Taq (0,75 U)

y agua Milli-Q hasta 20 μ L (FA Sebastião, et al, 2015), para los cebadores se tomó los siguientes 27f (5-AGAGTTTGATCCTGGCTCAG-3) y 1492r (5-GGTACCTTGTACGACTT-3). Las condiciones de amplificación fueron una desnaturalización inicial a 95°C durante 5 minutos, seguido de 35 ciclos que constaron de una desnaturalización a 94°C por 1 min, una hibridación a 56°C por 1m y una extensión a 72 °C durante 2 minutos, seguido de una etapa final de extensión a 72°C durante 5 minutos. La verificación de los productos de la PCR se realizó mediante electroforesis en gel de agarosa al 1% a 120V. La purificación de los productos amplificados se llevó a cabo mediante el uso del kit Gen Speedtools PCR clean-up-Bitools y estos fueron enviados a secuenciar en MacroGen, España. Las secuencias obtenidas se visualizaron utilizando el software Bioedit Sequence Alignment Editor (Sainjan N, et al. 2015) y fueron comparadas en la base de datos de *National Center for Biotechnology Information* (NCBI), utilizando el programa Blast (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/BLAST/>).

RESULTADOS

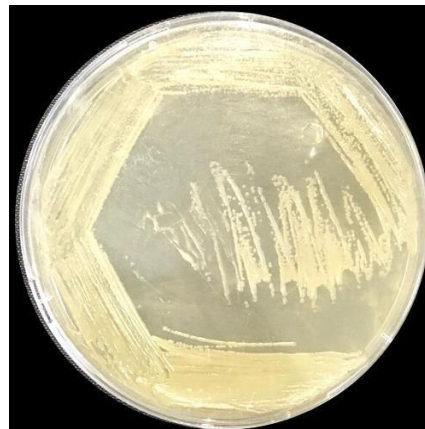
Aislamiento

En el aislamiento se obtuvieron resultados significativos en la dilución 10^{-3} y 10^{-4} , siendo la muestra 1 la que presentó mayor cantidad de UFC en ambas diluciones, seguido por la muestra 2. (**Tabla 1**). En el punto de muestreo M1 se obtuvieron 3 cepas, en el segundo punto M2 1 cepas, en el tercero M3 se aislaron 3 cepas y en el punto 4 una cepa para un total de 8 cepas aisladas en los 4 puntos de muestreo.

Tabla 1. UFC obtenidas de cada muestra según su dilución.

Diluciones	Punto de muestreo			
	M1	M2	M3	M4
10 ⁻³	40.5 $\cdot 10^2$ UFC	25.5 $\cdot 10^2$ UFC	2.3 $\cdot 10^3$ UFC	19.5 $\cdot 10^2$ ufc
10 ⁻⁴	$\cdot 10^3$ UFC	3 $\cdot 10^3$ UFC	0 UFC	0 UFC

Figura 3. a) Colonias de *Micrococcus aloeverae* en agar BHI, b) Colonias de *Halobacillus dabanensis* en agar BHI.



Prueba de susceptibilidad al Hg

Todas las bacterias aisladas resistieron las primeras dos concentraciones de Hg, sin embargo, a una concentración de 0,1mM la bacteria codificada como 006 no presentó crecimiento. Por el contrario, las bacterias codificadas como 003 y 008 resistieron concentraciones de hasta 0.5 mM, siendo la 003 la que presentó crecimiento a la concentración más alta (0,75mM) (Tabla 2).

Tabla 2. Bacterias aisladas con la concentración de Hg en mM a la que resistieron.

Metal Hg						
Concentración en mM						
Codificación de bacterias.	1 0.01mM	2 0.05mM	3 0.1mM	4 0.25mM	5 0.5mM	6 0.75mM
002	+	+	+	+	-	-
002.2	+	+	+	+	-	-
002.3	+	+	+	-	-	-
003	+	+	+	+	+	+
004	+	+	+	+	-	-
005	+	+	+	-	-	-
006	+	+	-	-	-	-
008	+	+	+	+	+	-

Identificación de bacterias tolerantes al mercurio.

Los microorganismos más resistentes identificados mediante el gen ARNr 16s fueron *Micrococcus aloeverae* y *Halobacillus dabanensis* con un 96,1 % y 91% de identidad respectivamente. La mayoría de las bacterias aisladas, fueron del género *Bacillus*, de hecho, se identificaron *Rosellomorea marisflavi* y *Priestia megaterium* que antes pertenecían a este género.

Tabla 3. Identificación de las bacterias mediante el RNAr 16s.

Codificación	Nombre de la bacteria	Porcentaje de identidad NCBI	Query ID
003	<i>Micrococcus aloeverae</i>	96,10% *	lcl Query_16499

002	<i>Rosellomorea marisflavi</i>	96,40% *	lcl Query_13203
002.2	<i>Bacillus infantis</i>	93,94%*	lcl Query_5603
002.3	<i>Bacillus tropicus</i>	99,05%	lcl Query_24873
004.	<i>Bacillus tropicus</i>	99,01%	lcl Query_17843
005	<i>Photobacterium ganghwense</i>	97,76%	lcl Query_55487
006	<i>Priestia megaterium</i>	94,89%*	lcl Query_6665
008	<i>Halobacillus dabanensis</i>	91,0% *	lcl Query_323755

Tabla 4. Características de microorganismos identificados.

Bacteria	Gram	Morfología	Producción de esporas	Movilidad	Referencias
<i>Micrococcus aloeverae</i>	+	Cocos	-	-	(Prakash et al., 2014)
<i>Rosellomorea marisflavi</i>	+	Bastón	+	+	(Gupta et al., 2020)
<i>Bacillus infantis</i>	+	Bacilo	+	+	(Massilamany et al., 2016)
<i>Bacillus tropicus</i>	+	Bacilo	+		(Massilamany et al., 2016)
<i>Photobacterium ganghwense</i>	-	Bastón	-	+	(Paul et al., 2021; Vega Alonso, 2015)
<i>Priestia megaterium</i>	+	Bastón	+	+	(Biedendieck et al., n.d.)
<i>Halobacillus dabanensis</i>	+	Bastón	-	+	(Liu et al., 2005)

DISCUSIÓN

La Ciénaga de Mallorquín es un ecosistema que se encuentra rodeado de manglares, estos son considerados recursos multifuncionales debido a que juegan un papel importante en el mantenimiento del hábitad para diferentes especies, también es importante para moderar las inundaciones y protección costera (Gómez & Gloria de las M, 2005), de acá la importancia de evitar la contaminación de estos, para así también evitar su reducción.

Según el Invemar, 2020, en las aguas marinas costeras de la región Caribe solo el 11% se encuentran en estado óptimo, lo cual es una situación alarmante. Por otro lado, el río

Magdalena es uno de los más importantes en la región Caribe, alrededor de este, se presentan diferentes actividades como la pesca, la minería y la agricultura, lo cual convierte sus desechos en el contaminante principal de esta fuente hídrica. Es importante resaltar, que en el departamento del Atlántico no existen muchos estudios científicos sobre la contaminación de metales pesados y por tal, hay pocos referentes respecto a la Ciénaga de Mallorquín. Sin embargo, (Bolívar D, 2020) propone y resalta en su investigación la importancia de realizar investigaciones con dichos fines para preservar este ecosistema.

En este sentido, el presente proyecto, confirmó lo anunciado por (Portz et al., 2020), el cual mencionaba que actualmente en la Ciénaga de Mallorquín existe presencia de metales pesados provenientes del arroyo León y de las aguas de la infiltración directa en la que llegan diferentes tipos de residuos tanto sólidos como líquidos de la localidad y de algunas industrias; por lo tanto, esa contaminación de la ciénaga puede condicionar la presencia de especies bacterianas con la capacidad de inmovilizar, reducir y/o tolerar estos metales pesados, en especial el Hg (Portz et al., 2020).

Todas las bacterias tuvieron por lo menos una mínima resistencia al Hg (0,01 mM), esto puede deberse a que mantienen un contacto permanente con este elemento (Acevedo & Severiche, 2013), haciendo así que desarrollen mecanismos de resistencias a este metal, como, por ejemplo, en la mayoría de los casos de aislamiento de bacterias resistentes al Hg se debe a que producen la enzima mercurio (II) reductasa producida por el gen Mer, que reduce el Hg_2 a Hg_0 el cual es menos tóxico y se volatiliza rápidamente (Peter et al., 1986), de hecho, en un estudio realizado por (Cardona et al., 2022) obtuvieron que la gran mayoría de sus cepas aisladas de sedimentos con alta resistencia al Hg eran portadoras del gen MerA. Otros mecanismos de resistencia además del gen MerA, pueden ser el secuestro de Hg por mecanismos extracelulares a través de la secreción de sustancias poliméricas secretadas (EPS) que se unen al Hg; así mismo también se ha reportado la resistencia mediante la bioacumulación, sin embargo, este último no es un mecanismo común de resistencia al Hg, pero también es una herramienta valiosa para la biorremediación (Priyadarshane et al., 2022).

Diversos estudios han demostrado el aislamiento de bacterias resistentes a mercurio, en el río Mithi; por ejemplo, se han aislado cepas del género *Bacillus*, *Enterobacter*, *Klebsiella pneumoniae*, y *Acinetobacter seohaensis* resistentes al Hg en concentraciones hasta de 700 ppm, valor que se encuentra muy por encima de lo evaluado en este estudio, siendo la única bacteria que concuerda con lo encontrado en este estudio es *Bacillus spp*, pero esta logró tolerar concentraciones de 500ppm, concentración mucho más alta de las toleradas por las cepas de *Bacillus* aisladas en el presente trabajo (Pushkar B, et al. 2019). También se ha reportado otra cepa de *Bacillus spp* que resiste concentraciones de hasta 0,12 mM, valor que entra en el rango establecido en este estudio y que esta correlacionado con la concentración mínima inhibitoria de *Bacillus tropicus* que fue de 0,1mM. Además, se puede comparar con las otras 2 cepas de *Bacillus spp* encontradas que toleraron hasta la concentración de 0,25 mM (Purkan et al., 2017).

Con relación a las bacterias más resistentes que fueron aisladas en este trabajo, en un estudio encontraron que *Micrococcus aloeverae*, una bacteria endófito, presentó resistencia a concentraciones de 0,3 a 0,8 mM, valores que concuerdan con los obtenidos en este trabajo donde esta misma bacteria llegó a resistir la concentración de 0,75 mM que fue la máxima

evaluada en este trabajo (Navarro-Torre et al., 2016). En el caso la bacteria *Halobacillus*, se ha reportado resistencia al Hg a una concentración mínima inhibitoria de 0,12 mM (Journal et al., 2017); sin embargo, en dicho estudio no se llegó a identificar la especie. Por otro lado, se ha demostrado que *Halobacillus dabanensis* puede acelerar la remediación de ecosistemas salinos contaminados por petróleo debido a la producción de biosurfactantes (Kheiralla et al., 2013), sustancias que también funcionan con metales pesados y pueden ser útiles en procesos de biorremediación (Giraldo et al., 2014). Finalmente, se ha evidenciado que *Priestia megaterium*, es una bacteria promotora del crecimiento vegetal y además es portadora del gen MerA, teniendo una concentración mínima inhibitoria de 0,075mM de Hg, valor que es muy similar a los obtenidos en este estudio, ya que, a una concentración de 0,05mM se evidencio crecimiento, pero al aumentar la concentración a 1mM el crecimiento fue nulo. (Guzmán-Moreno et al., 2022).

CONCLUSIÓN

En la actualidad uno de los contaminantes que más afectan las fuentes hídricas en el mundo son los metales pesados, provenientes principalmente de industrias y de la minería, entre estos metales pesados se encuentra el mercurio que es considerado uno de los más tóxicos. La Ciénaga de Mallorquín es un ecosistema que se encuentra conminado por metales pesados como el mercurio, lo que probablemente ha ocasionado que las bacterias presentes en este ambiente deban tolerar altos niveles de Hg para poder vivir creando mecanismos de resistencia. Las 2 bacterias que obtuvieron mayor resistencia al mercurio fueron *Micrococcus aloeverae* tolerando una concentración de 0,75 mM y *Halobacillus dabanensis* una concentración de 0,5 mM, esto puede deberse a que en los lugares donde se tomaron las muestras de estos microorganismos tienen altos porcentajes de Hg, en la zona de muestreo M2 para *M. aloeverae* se encontró un porcentaje de 0,199 ug. g-1 y M3 para *H. dabanensis* con 0,153 ug. g-1 (Bolívar D, 2020).

Bibliografía

1. Acevedo, R., & Severiche, C. (2013). Identification of di-bromide mercury Resistant Bacteria Isolated from Sediment Beaches in Cartagena de Indias, Colombian Caribbean. In *AVANCES Investigación en Ingeniería* (Vol. 10, Issue 2).
<https://revistas.unilibre.edu.co/index.php/avances/article/view/2750/2170>
2. Basu, N., Horvat, M., Evers, D. C., Zastenskaya, I., Weihe, P., & Tempowski, J. (2018). A state-of-the-science review of mercury biomarkers in human populations worldwide between 2000 and 2018. In *Environmental Health Perspectives* (Vol. 126, Issue 10). Public Health Services, US Dept of Health and Human Services.
<https://doi.org/10.1289/EHP3904>
3. Beltrán, M., & Gómez, A. (2016). Biorremediación de metales pesados cadmio (Cd), cromo (Cr) y mercurio (Hg), mecanismos bioquímicos e ingeniería genética: una revisión. *Revista Facultad de Ciencias Básicas*, 12(2), 172–197.
<https://doi.org/10.18359/rfcb.2027>

4. Biedendieck, R., Knuuti, T., Moore, S. J., & Jahn, D. (n.d.). *The “beauty in the beast”-the multiple uses of Priestia megaterium in biotechnology.* <https://doi.org/10.1007/s00253-021-11424-6/Published>
5. Bolívar, D. (2020). *CUANTIFICACIÓN DE METALES PESADOS (HG, CR, CD, NI) EN SEDIMENTOS DE LA CIÉNAGA MALLORQUÍN, BARRANQUILLA COLOMBIA.*
<https://repositorio.cuc.edu.co/bitstream/handle/11323/7269/CUANTIFICACI%C3%93N%20DE%20METALES%20PESADOS%20%28HG%2C%20CR%2C%20CD%2C%20NI%29%20EN%20SEDIMENTOS%20DE%20LA%20CI%C3%89NAGA%20MALLORQU%C3%8DN%2C%20BARRANQUILLA%20-%20COLOMBIA.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
6. Cardona, G. I., Escobar, M. C., Acosta-González, A., Marín, P., & Marqués, S. (2022). Highly mercury-resistant strains from different Colombian Amazon ecosystems affected by artisanal gold mining activities. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 106(7), 2775– 2793. <https://doi.org/10.1007/s00253-022-11860-y>
7. Fajardo Vidal, N., & Solís Acosta, H. (2017). *Determination of heavy metals in water bodies from the Regional Conservation Area Wetlands of Ventanilla-Callao, Peru* (Vol. 20). <https://doi.org/10.15381/iigeo.v20i39.14177>
8. García, L., Marrugo, J., & Alvis, E. (2010). *Contaminación por mercurio en humanos y peces en el municipio de Ayapel, Córdoba, Colombia, 2009*Mercury. 118–124.
9. Giraldo, Jd., Gutiérrez, S., & Merino, F. (2014). OIL EMULSIFYING ACTIVITY AND REMOVAL OF HEAVY METALS BY PSEUDOMONAS AERUGINOSA PB 25 RHAMNOLIPID. In *Rev Soc Quím Perú* (Vol. 80, Issue 1). http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1810-634X2014000100005#:~:text=El%20ramnol%C3%ADpido%20producido%20por%20P,e mpleo%20en%20procesos%20de%20biorremediaci%C3%B3n.
10. Gómez, P., & Gloria de las M. (2005). *Importancia económico-ambiental del ecosistema manglar.* 138, 111–134. <https://www.redalyc.org/pdf/4255/425541308005.pdf>
11. Gupta, R. S., Patel, S., Saini, N., & Chen, S. (2020). Robust demarcation of 17 distinct bacillus species clades, proposed as novel bacillaceae genera, by phylogenomics and comparative genomic analyses: Description of robertmurraya kyonggiensis sp. nov. and proposal for an emended genus bacillus limiting it only to the members of the subtilis and cereus clades of species. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 70(11), 5753–5798. <https://doi.org/10.1099/ijsem.0.004475>
12. Guzmán-Moreno, J., García-Ortega, L. F., Torres-Saucedo, L., Rivas-Noriega, P., Ramírez- Santoyo, R. M., Sánchez-Calderón, L., Quiroz-Serrano, I. N., & VidalesRodríguez, L. E. (2022). Bacillus megaterium HgT21: a Promising Metal Multiresistant Plant Growth- Promoting Bacteria for Soil Biorestation. *Microbiology Spectrum.* <https://doi.org/10.1128/spectrum.00656-22>

13. Invemar. (2020). Diagnóstico y evaluación de la calidad de las aguas marinas y costeras del caribe y pacífico colombianos. *Instituto de Investigaciones Marinas y Costeras "José Benito de Andrés."*
http://cinto.invemar.org.co/alfresco/d/d/workspace/SpacesStore/bf9631aa-cd73-48be-8ee4-73251a1f7c03/Diagn%C3%B3stico%20y%20evaluaci%C3%B3n%20de%20la%20calidad%20de%20las%20aguas%20marinas%20y%20costeras%20en%20el%20Caribe%20y%20pac%C3%ADfico%20colombianos?ticket=TICKET_41500af697e9457eb0eb1630e360d141f6ed5dfe
14. Journal, I., Noroozi, M., Ali Amoozegar, M., Ali Pourbabae, A., Naghavi, S., & Nourmohammadi, Z. (2017). Evaluation of the Moderately Halophilic Bacteria Resistant to Mercury from Saline Soil 1 2*. In *Ecology* (Vol. 44, Issue 2).
15. Kheiralla, Z. H., Ashour, S. M., Rushdy, A. A., & Ahmed, H. A. (2013). Characterization of biosurfactants produced by *Halobacillus dabanensis* and *Pontibacillus chungwhensi* isolated from oil-contaminated mangrove ecosystem in Egypt. *Applied Biochemistry and Microbiology*, 49(3), 263–269.
<https://doi.org/10.1134/S0003683813030186>
16. Lebeau, T., Bagot, D., Jezequel, K., & Fabre, B. (2002). Cadmium biosorption by free and immobilised microorganisms cultivated in a liquid soil extract medium: effects of Cd, pH and techniques of culture. In *The Science of the Total Environment* (Vol. 291). 10.1016/s0048- 9697(01)01093-2
17. Liu, W. Y., Zeng, J., Wang, L., Dou, Y. T., & Yang, S. S. (2005). *Halobacillus dabanensis* sp. nov: And *Halobacillus aidingensis* sp. nov., isolated from salt lakes in Xinjiang, China. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 55(5), 1991–1996. <https://doi.org/10.1099/ijs.0.63787-0>
18. Londoño Franco, L. F., Londoño Muñoz, P. T., & Muñoz Garcia, F. G. (2016). LOS RIESGOS DE LOS METALES PESADOS EN LA SALUD HUMANA Y ANIMAL. *Biotechnología En El Sector Agropecuario y Agroindustrial*, 14(2), 145. [https://doi.org/10.18684/bsaa\(14\)145-153](https://doi.org/10.18684/bsaa(14)145-153)
19. Massilamany, C., Mohammed, A., Loy, J. D., Purvis, T., Krishnan, B., Basavalingappa, R. H., Kelley, C. M., Guda, C., Barletta, R. G., Moriyama, E. N., Smith, T. P. L., & Reddy, J. (2016). Whole genomic sequence analysis of *Bacillus infantis*: Defining the genetic blueprint of strain NRRL B-14911, an emerging cardiopathogenic microbe. *BMC Genomics*, 17. <https://doi.org/10.1186/s12864-0162900-2>
20. Mesquidaz, E., Marrugo, J., & Pinedo, H. (2013). *Exposición a mercurio en trabajadores de una mina de oro en el norte de Colombia*. 29, 534–541. <http://www.scielo.org.co/pdf/sun/v29n3/v29n3a13.pdf>
21. Michael, G. (2000). Bioremedial potential of microbial mechanisms of metal mobilization and immobilization. *Environmental Biotechnology*, 271–279.

22. Muñoz, M., & Domínguez, Lady. (2013). *IQEN INFORME QUINCENAL EPIDEMIOLOGICO NACIONAL*.
<https://www.ins.gov.co/buscador/IQEN/IQEN%20vol%2018%202013%20num%204.pdf>
23. Navarro-Torre, S., Mateos-Naranjo, E., Caviedes, M. A., Pajuelo, E., & Rodríguez-Llorente, I. D. (2016). Isolation of plant-growth-promoting and metal-resistant cultivable bacteria from *Arthrocnemum macrostachyum* in the Odiel marshes with potential use in phytoremediation. *Marine Pollution Bulletin*, 110(1), 133–142. <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2016.06.070>
24. Pabón, S., Benítez, R., Sarria, A., & Gallo, A. (2020). Contaminación del agua por metales pesados, métodos de análisis y tecnologías de remoción. Una revisión. *Entre Ciencia e Ingeniería*, 14, 9–18. <https://doi.org/10.31908/19098367.1734>
25. Paul, S. I., Rahman, M. M., Salam, M. A., Khan, M. A. R., & Islam, M. T. (2021). Identification of marine sponge-associated bacteria of the Saint Martin's island of the Bay of Bengal emphasizing on the prevention of motile *Aeromonas* septicemia in *Labeo rohita*. *Aquaculture*, 545. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2021.737156>
26. Peter, A., Ford, S., & Brown, L. (1986). Transcriptional Regulation of the Mercuryresistance Genes of Transposon Tn501. In *Journal of General Microbiology*. 10.1099/00221287-132- 2-465
27. Portz, L., Manzolli, R. P., de Andrade, C. F. F., Villate Daza, D. A., Bolivar Bandeira, D. A., & Alcántara-Carrió, J. (2020). Assessment of Heavy Metals Pollution (Hg, Cr, Cd, Ni) in the Sediments of Mallorquin Lagoon - Barranquilla, Colombia. *Journal of Coastal Research*, 95(sp1), 158–162. <https://doi.org/10.2112/SI95-031.1>
28. Prakash, O., Nimonkar, Y., Munot, H., Sharma, A., Vemuluri, V. R. amana, Chavadar, M. S., & Shouche, Y. S. (2014). Description of *Micrococcus aloeverae* sp. nov., an endophytic actinobacterium isolated from *Aloe vera*. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 64, 3427–3433. <https://doi.org/10.1099/ijls.0.063339-0>
29. Prieto, J., Gonzáles, R., Romá, G., & Prieto, F. (2009). CONTAMINACIÓN Y FITOTOXICIDAD EN PLANTAS POR METALES PESADOS PROVENIENTES DE SUELOS Y AGUA. *Tropical and Subtropical Agroecosystems*, 10(1), 29–44. <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=93911243003>
30. Priyadarshane, M., Chatterjee, S., Rath, S., Dash, H. R., & Das, S. (2022). Cellular and genetic mechanism of bacterial mercury resistance and their role in biogeochemistry and bioremediation. In *Journal of Hazardous Materials* (Vol. 423). Elsevier B.V. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2021.126985>
31. Purkan, P., Nuzulla, Y. F., Hadi, S., & Prasetyawati, E. T. (2017). Biochemical Properties of Mercuric Reductase from Local Isolate of *Bacillus* sp for Bioremediation Agent. *Molekul*, 12(2), 182. <https://doi.org/10.20884/1.jm.2017.12.2.398>
32. Rajendran, P., Muthukrishnan, J., & Gunasekaran, P. (2003). Microbes in heavy metal remediation. *Indian Journal of Experimental Biology*, 41, 935–944.
33. Reyes, Y. C., Vergara, I., Torres, O. E., Díaz, M., & González, E. E. (2016). *Heavy metals contamination: implications for health and food safety*. 16, 66–77.

34. Vega Alonso, J. (2015). *INTERACCIÓN DE PHOTOBACTERIUM DAMSELAЕ SUBSP. PISCICIDA CON CÉLULAS SAF-1*.
35. Zarza, L. (2017). *Historias del agua (3): El desastre de Minamata*.
<https://www.iagua.es/blogs/laura-f-zarza/historias-agua-3-desastre-minamata>