

Bioprospección bacteriana en sedimento del Río Chiquito, en León, Nicaragua durante época seca y lluviosa.

Bacterial bioprospecting in sediment from the Chiquito River, in León, Nicaragua during dry and rainy seasons.

Pérez, Zulma Francisca; Uriarte Ortiz, Rommel Benjamín

 Zulma Francisca Pérez

kzulma@gmail.com

Universidad Nacional Autónoma de Nicaragua,
Managua, Nicaragua, Nicaragua

 Rommel Benjamín Uriarte Ortiz

ruobio@yahoo.es

Universidad Nacional Autónoma de Nicaragua,
Managua, Nicaragua, Nicaragua

Revista Torreón Universitario

Universidad Nacional Autónoma de Nicaragua-Managua,
Nicaragua

ISSN: 2410-5708

ISSN-e: 2313-7215

Periodicidad: Cuatrimestral

vol. 11, núm. 32, 2022

revis.torreon.faremc@unan.edu.ni

Recepción: 31 Enero 2022

Aprobación: 31 Agosto 2022

URL: <http://portal.amelica.org/ameli/journal/387/3873452014/>

DOI: <https://doi.org/10.5377/rtu.v11i32.15034>

Financiamiento

Fuente: Esta investigación forma parte del Proyecto: Aislamiento e identificación de bacterias provenientes de sedimento expuesto a los efluentes de las tannerías en el Río Chiquito en León. En el período comprendido 2020-2021. Financiado por los Fondos para Proyectos de Investigación (FPI) de la Universidad Nacional Autónoma de Nicaragua. Ubicado en la línea de Investigación de Biotecnología Ambiental.

El autor o los autores de los artículos, ensayos o investigaciones conceden a la Universidad Nacional Autónoma de Nicaragua, Managua (UNAN-Managua) los derechos de edición (copyright) del trabajo enviado, por consiguiente la Universidad cuenta con el derecho exclusivo para publicar el artículo durante el período completo de los derechos de autor.



Esta obra está bajo una [Licencia Creative Commons Atribución-NoComercial-SinDerivar 4.0 Internacional](https://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/).

Resumen: Se realizaron dos muestreos (época seca y lluviosa) en sedimentos expuestos a efluentes de tannería y agua residual doméstica (Muestra Expuesta); y en sedimento visualmente contaminado por agua residual doméstica (Muestra Referencia), con el objetivo de aislar e identificar bacterias según Gram (estructural) y concentraciones de metales pesados de interés. El mayor porcentaje de colonias encontradas fue en el sedimento expuesto, en época lluviosa (66.67), siendo éstas Gram⁻ y el menor de 33.33 en la misma época, correspondiendo a Gram⁺. La mayor actividad enzimática de lipasa fue en la MR en verano (3219 µg de Pnp /g.10 min) y la menor actividad se obtuvo en la ME en invierno (1710.6 µg de Pnp/g.10 min). La variación de pH acuoso y contenido de humedad no fue significativa en ambos sitios tanto en época seca como lluviosa. Cromo hexavalente y Arsénico no fueron detectados durante los periodos de muestreo. La textura del sedimento es arenosa, lo que probablemente facilita el transporte de metales pesados. La concentración de Hierro fue similar en verano e invierno, en la MR y la ME (36,416 y 36,428 g.Kg⁻¹ respectivamente). Las concentraciones de Plomo fueron de 12, 12.242 y 22 mg.kg⁻¹, en los puntos MR invierno, MR verano y ME verano respectivamente; en la ME en invierno no se detectó. Los resultados sugieren que, debido a la interacción microbiana con los metales, han creado resistencia y tolerancia mediante diferentes mecanismos. Es necesario conocer las Concentraciones mínimas inhibitorias de las bacterias aisladas y potencializar su aplicación en Biorremediación.

Palabras clave: Bioprospección, metales pesados, sedimentos.

Abstract: Two sample collection (dry and rainy season) were carried out in sediments exposed to tannery effluents and domestic wastewater (Exposed Sample); and in sediment visually contaminated by domestic wastewater (Reference Sample), with the aim of isolating and identifying bacteria according to Gram (structural) and concentrations of heavy metals of interest. The highest percentage of colonies found was in the exposed sediment, in the rainy season (66.67), identified as Gram⁻ and the lowest was 33.33 in the same season, corresponding to Gram⁺. The highest enzymatic activity of lipase was in the MR in summer (3219 µg of Pnp/g/10 min) and the lowest activity was obtained in the ME in winter (1710.6 µg of Pnp/g.10 min). The variation

of aqueous pH and moisture content was not significant at both sites, both in the dry and rainy seasons. Hexavalent Chromium and Arsenic were not detected during the sampling periods. The texture of the sediment is sandy, which probably facilitates the transport of heavy metals. Iron concentration was similar in summer and winter, in the MR and ME (36.416 and 36.428 g.Kg⁻¹ respectively). Lead concentrations were 12, 12,242 and 22 mg.kg⁻¹, at the MR winter, MR summer and ME summer points, respectively; in the ME in winter it was not detected. The results suggest that, due to microbial interaction with metals, they have created resistance and tolerance through different mechanisms. It is necessary to know the minimum inhibitory concentrations of the isolated bacteria and to enhance their application in Bioremediation.

Keywords: Bioprospecting, heavy metals, sediments.

INTRODUCCIÓN

Los mataderos y curtidoras de cuero causan gran contaminación ambiental, principalmente por el uso de cromo trivalente y a veces hexavalente, además de la sangre, grasa y otros desechos orgánicos. En León, los mataderos y curtidoras no siguen los lineamientos para el tratamiento de residuos y reducción de la contaminación. (Cubillo, 2018).

La contaminación de ecosistemas acuáticos debido a las actividades antropogénicas es un serio problema ambiental a nivel mundial. Esta es la realidad que enfrenta el Río Chiquito, al recibir los vertidos sin tratamiento de aguas de desecho de las actividades domésticas, así como de las artesanales y semi-industriales de curtido de pieles. (Alvarado, 2019).

Debido a la falta de información sobre comunidades microbianas en sedimentos expuestos a contaminación, surge la necesidad de desarrollar investigaciones que permitan conocer la diversidad y densidad bacteriana. Al realizar una bioprospección y cumplir con los objetivos propuestos en el estudio, se puede maximizar su aplicación, por tanto, es una herramienta para la Biotecnología vinculada a las tecnologías de Biorremediación.

Pocos estudios se han hecho relacionados con ésta problemática, Páramo et ál. (2021), realizaron investigación en aislamiento y caracterización de microorganismos provenientes de ríos, suelos, bosques, empresas artesanales de procesamiento de queso y oro en algunas zonas mineras del país.

En el Río Chiquito se realizó un estudio orientado a la obtención de datos actualizados de calidad del sedimento, para estimar el potencial impacto que están generando las actividades antropogénicas de la ciudad, mediante la medición de algunos parámetros físico-químicos incluyendo metales y metaloides, estimación del estado de la estructura de las comunidades de macro-invertebrados bentónicos, así como una estimación de la funcionalidad de las comunidades microbianas al medir su actividad enzimática. (Alvarado, 2019)

No se han publicado investigaciones referentes al sedimento del Río Chiquito, donde se relacione la densidad bacteriana con parámetros físico químicos y la presencia de metales pesados. Mediante los mecanismos bacterianos de adaptación y sus límites de tolerancia a concentraciones de metales, podría considerarse que las bacterias aisladas, probablemente tengan potencial para contribuir a la recuperación del Río Chiquito.

Este estudio pretende aislar bacterias para realizar ensayos en futuras investigaciones donde se puedan aplicar tecnologías de Biorremediación y recuperar cuerpos de agua que han sido afectados debido a las actividades antropogénicas; por lo que se realizaron dos campañas de muestreo una en época seca y lluviosa

(enero 2021 y octubre 2021), se seleccionaron dos puntos de muestreo, uno alejado de la contaminación de aguas residuales semi industriales de tenerías (MR) y otro que estuviera directamente expuesto a la contaminación (ME).

METODOLOGÍA

La colecta de las muestras de sedimento se realizó en dos muestreos, durante los períodos lluvioso y seco, en enero y octubre del 2021. Al realizar la colecta se seleccionaron dos sitios, considerando como principal criterio un punto donde el vertido de aguas residuales de las tenerías fuese directo (ME) con las coordenadas 1373347 Norte y 0511241 Este y otro que estuviese alejado a esta exposición (MR) 1374523 Norte y 0514025 Este.

El sedimento fue colectado utilizando una draga Van Veen con capacidad de un kilogramo, se realizaron tres sub muestras, se homogenizaron y se obtuvo aproximadamente un kilogramo, se depositó en bolsa de plástico de polietileno con capacidad de 10 libras y se preservaron en termo con hielo. Los análisis realizados se detallan en la tabla uno.

Aislamiento

Se realizaron diluciones en serie (en solución salina 0.85%) a partir de 10 gramos de sedimento e inoculadas en medio de cultivo sólido no selectivo (Agar estándar método), se incubaron a 35°C durante 48 horas, los repiques fueron sucesivos hasta obtener cultivos axénicos (Aquiahualt Ramos y otros, 2012).

Identificación mediante Tinción de Gram

La identificación estructural se realizó mediante la Tinción de Gram (Leboffe y Pierce, 2011)

TABLA 1
Lista de métodos fisico-químicos y metales utilizados

Parámetro	Método
pH acuoso	USEPA9045D ¹
Conductividad eléctrica	USEPA9045D ¹
Contenido de humedad	ASTM D 2974-87 ²
Materia orgánica	Margesin and Schiner ³
Cromo hexavalente	USEPA 3060.A-1 ⁴
Arsénico	USEPA 200.7 ⁵
Hierro	USEPA 200.7 ⁵
Manganeso	USEPA 200.7 ⁵
Plomo	USEPA 200.7 ⁵
Textura	ASTM 422-63, ASTM 854-02 ⁶

¹ United States Environmental Protection Agency (USEPA) –Método 9045D.2004. Soil and waste pH.

- 2 American Society for Testing and Materials, International (ASTM). D 2974-87. 1993. Standard Test Methods for Moisture, Ash and Organic Matter of Peat and Other Organic Soils.
- 3 Margesin R. and Schiner, F., 2005: Manual of soil analysis-Monitoring and assesing soil bioremediation. Chapter 2. Determination of Chemical and Physical Soil Propierties
- 4 El resultado corresponde a la concentración de cromo hexavalente por digestión alcalina con hidróxido de sodio: carbonato de sodio (2:3) seguido del análisis por Espectrometría UV-Vis. El método utilizado es 3060A, United States Environmental Protection Protection Agency (USEPA), Revisión 1, 1996. Alkaline Digestion for Hexavalent Chromium. El resultado está en base húmeda.
- 5 Los resultados corresponden a metales totales recuperables en sedimentos por digestión con ácido nítrico y clorhídrico 1+1 seguido del análisis por ICP-OES (Espectrometría de Emisión Óptica por Plasma Acoplado Inductivamente). El método utilizado es 200.7 United States Environmental Protection Protection Agency (USEPA), Revisión 4.4, 1994 y el método 3120.B. Stándar Methods for the Examination of Water and Wastewater (SMWW) 22va. Edición.2012
- 6 La clasificación textural fue determinada por medio del análisis del tamaño de partículas (Granulometría e Hidrometría ASTM 422-63) y la determinación de la gravedad específica (ASTM 854-02) siguiendo las recomendaciones y procedimientos de United States Department of Agriculture (USDA). (2021) Soil Texture Calculator.

RESULTADOS

Aislamiento e identificación estructural

En la tabla 2 se observa el número de colonias identificadas estructuralmente según la tinción de Gram. En la muestra de sedimento considerada como referencia, tanto en época seca como lluviosa, la cantidad de colonias identificadas fue igual; en cambio, la muestra colectada directamente en el punto de contaminación de los efluentes de las tenerías varió ligeramente según la época, identificándose 5 colonias en verano y 9 en invierno.

TABLA 2
Número de colonias identificadas según tinción de Gram

	Época y punto de muestreo			
	Sedimento (MR verano)	Sedimento (ME verano)	Sedimento (MR invierno)	Sedimento (ME invierno)
Número de colonias	7	5	7	9

En la figura 1 se observan los porcentajes de variación de las bacterias Gram positivas y Gram negativas por época de muestreo. En la muestra referencia (MR) colectada en verano, el 57.14% de las colonias identificadas son Gram negativas y en invierno fue de 42.86%; el porcentaje de Gram positivas en verano fue de 42.86 y en invierno 57.14. En el sedimento expuesto (ME), los porcentajes de colonias Gram negativas fueron de 40 en verano y de 66.67 en invierno; las Gram positivas presentaron un 60% en verano y 33.33% en invierno.

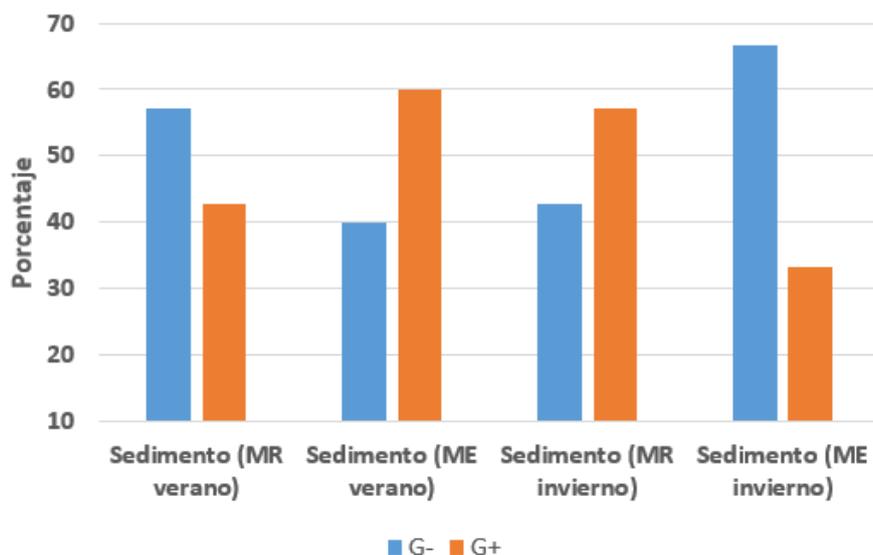


FIGURA 1
Porcentaje de identificación estructural por época seca y lluviosa

La figura 2 muestra la actividad enzimática de las bacterias identificadas. La mayor actividad fue de 3219.00 μg de Pnp/ g^*10 min, registrada en la muestra referencia en verano, seguido de la muestra expuesta en verano con 2658.67 μg de Pnp/ g^*10 min, luego encontramos 2151.17 μg de Pnp/ g^*10 min en MR/invierno y la muestra con menor actividad encontrada fue la expuesta en invierno con 1710.60 μg de Pnp/ g^*10 min.

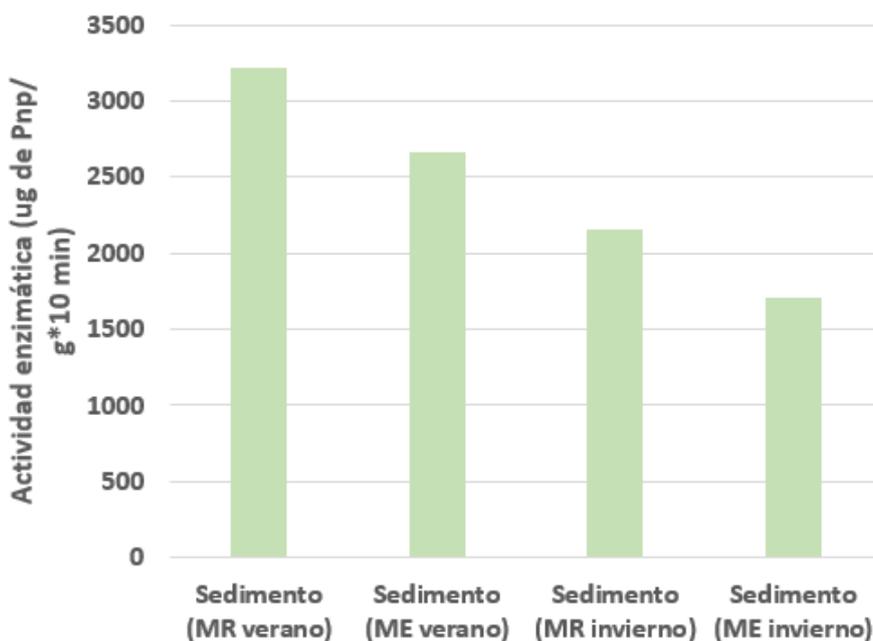


FIGURA 2
Actividad enzimática por época de muestreo

En la tabla 3 se presentan los resultados de los parámetros físico-químicos. El valor de pH de la MR en invierno y verano fue de 6.75 y 6.85 respectivamente; los valores de la ME en invierno y verano fueron de 6.99 y 6.67 respectivamente.

La conductividad eléctrica ($\mu\text{S}\cdot\text{cm}^{-1}$), en MR invierno y verano fue de 2510 y 1178 respectivamente; en ME invierno y verano fue de 918.3 y 1944 respectivamente

El porcentaje del contenido de humedad en MR invierno y verano fue de 23.6 y 23.9 respectivamente; la ME en invierno y verano fue de 24 y 26.1 respectivamente.

El porcentaje de materia orgánica en MR invierno y verano fue de 1.7 y 1.2 respectivamente; en la ME invierno y verano fue de 1 y 1.3 respectivamente.

Los metales Arsénico y Cromo hexavalente no fueron detectados en ninguna muestra.

El metal Hierro ($\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$) en MR invierno y verano fue de 47.52 y 36.42 respectivamente; en ME invierno y verano fue de 36.43 y 42.96 respectivamente.

El metal Manganeseo ($\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$) en MR invierno y verano fue de 0.39 y 0.33 respectivamente; en ME invierno y verano fue de 0.39 y 0.41 respectivamente.

El metal Plomo ($\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$) en MR invierno y verano fue de 12 y 12.24 respectivamente; en ME invierno no fue detectado y en verano fue de 22.

TABLA 3
Resultados de parámetros físico químicos en sedimento en época seca y lluviosa

Parámetro	Sedimento (MR verano)	Sedimento (ME verano)	Sedimento (MR invierno)	Sedimento (ME invierno)	Unidades
pH acuoso	6.85	6.67	6.75	6.99	Unidades de pH
Conductividad eléctrica	1178	1944	2510	918.3	$\mu\text{S}\cdot\text{cm}^{-1}$
Contenido de humedad	23.9	26.1	23.6	24	%
Materia orgánica	1.2	1.3	1.7	1	%
Cromo hexavalente	ND	ND	ND	ND	$\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$
Arsénico	<LD	<LD	<LD	ND	$\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$
Hierro	36.42	42.96	47.52	36.43	$\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$
Manganeseo	0.33	0.41	0.39	0.39	$\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$
Plomo	12,24	22	12	<LD	$\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$

DISCUSIÓN

Alvarado (2019), realizó un estudio en muestras de sedimento en los mismos sitios seleccionados en esta investigación, según este autor, los resultados en los metales cromo hexavalente y arsénico no fueron detectados, coincidiendo con los resultados de este estudio. Estas similitudes pueden deberse a la textura

arenosa del sedimento, dificultando la acumulación de estos contaminantes y facilitando el transporte hacia otros puntos del cuerpo de agua.

Las concentraciones de hierro obtenidas en época lluviosa en ambos sitios son menores a las reportada por Alvarado (2019), sin embargo, en época seca los resultados de ambos estudios son similares. Espitia (2014) menciona que el hierro es el cuarto elemento de la corteza terrestre, por lo tanto, su concentración es más alta en sedimentos en comparación a otros metales, lo cual coincide con los resultados de este estudio.

La mayor actividad enzimática registrada fue en MR verano, esto podría indicar que las concentraciones de Fe, Mn y Pb no son determinantes en el metabolismo microbiano, lo cual es respaldado por Shao y Sun (2007), quienes concluyen que la concentración mínima inhibitoria (CMI) de Mn^{2+} es inferior a 30 mM en algunos microorganismos, como *Escherichia coli* en el que es de 20 mM, para *Bacillus circulans* es de 24 mM y para *Sacharomyces cerevisiae* se ha reportado de 10 mM.

Según Ehrlich (1999) y Emerson (2000), la tolerancia de las bacterias Gram negativas a elevadas concentraciones de manganeso, parece ser debido a la oxidación enzimática periplásmica de manganeso, lo cual confirma nuestros resultados al obtener mayores concentraciones de Mn (0.41 g.kg^{-1}) y actividad enzimática de ($3219.06 \mu\text{g de Pnp/g} \cdot 10 \text{ min}$).

Pucurrul (2016), menciona que el manganeso es el quinto metal de transición más abundante en la corteza terrestre y el segundo metal traza más común después del hierro, la velocidad de oxidación biótica de este metal es cinco veces mayor que la abiótica, lo cual sugiere que la oxidación biológica domina en el medioambiente y que la mayor cantidad de óxidos de manganeso ($OxMn$) que se encuentran en la naturaleza derivan directamente de la oxidación biológica; este proceso es llevado a cabo por microorganismos oxidadores de manganeso que incluyen una variedad de bacterias y hongos; uno de los hábitats más comunes de las bacterias oxidadoras de manganeso son los sedimentos, lo cual explica las altas concentraciones de actividad enzimática en este estudio.

El plomo es considerado un contaminante ambiental común que se encuentra en los suelos; a diferencia de otros metales, no tiene propiedades biológicas y es potencialmente tóxico para los microorganismos. Los efectos de niveles bajos de Plomo (1 ppm) y altos (500-2000) han sido investigados en comunidades microbianas del suelo mediante el análisis PCR/DGGE de los marcadores genéticos 16S y nirK, utilizando esta metodología fue posible detectar que el Plomo tiene efectos sobre la diversidad de la comunidad, incluso en la concentración más baja. Sin embargo, datos preliminares obtenidos en este estudio sugieren que la comunidad microbiana desnitrificante se adapta a niveles elevados de Plomo mediante la acción de nitritos reductasas. El Plomo es considerado uno de los metales más persistentes, se estima que su tiempo de retención en el suelo va de 150 a 5000 años (Sobolev y Begonia, 2008).

Las concentraciones de Plomo detectadas (mg.kg^{-1}) fueron de 12 (MR/invierno) y 22 (ME/verano), esto podría provocar afectaciones en la diversidad microbiana, no así en la densidad, lo que hace suponer que los microorganismos identificados han creado resistencia a la presencia del Plomo, por los diversos mecanismos de interacción.

Alvarado (2019), registró concentraciones de Plomo entre 10 y 17 mg.kg^{-1} en los mismos sitios, lo cual coincide con los resultados de nuestro estudio; estos valores podrían ser utilizados en otros ensayos, para calcular la capacidad mínima inhibitoria de los microorganismos aislados. Las concentraciones de metales pesados en los sedimentos pueden ser indicadores de contaminación debido a que se considera que puede ser utilizado como depósito, pero también puede liberarlos nuevamente a los cuerpos de agua a través de métodos como bioturbación y bioirrigación (Li et ál, 2020).

Según Marrero et ál. (2010) los determinantes genéticos que codifican las proteínas involucradas en los mecanismos de resistencia a metales, se encuentran generalmente localizados en el cromosoma bacteriano, en elementos móviles como plasmidios o transposones o en ambos. Los determinantes plasmídicos que confieren resistencia a metales, poseen una gran especificidad. Se han descrito genes de resistencia a plata, arsénico, cadmio, cromo, cobre, mercurio, níquel, plomo, antimonio y cinc localizados en plasmídios. Estos

hallazgos son de vital importancia ya que los plasmidios generalmente confieren resistencia a elevadas concentraciones de metales y pueden moverse fácilmente de una célula a otra por transmisión horizontal de material genético, de modo que contribuyen considerablemente en la adaptación a corto plazo de las comunidades microbianas en ambientes contaminados. Según Smets et ál (2003 como se citó en Marrero et ál 2010) corroboran esta hipótesis, pues demostraron que, en comunidades microbianas de sedimentos, la retención o transferencia de plasmidios exógenos se incrementó al aumentar la exposición de estas a concentraciones superiores de metales.

El sedimento al ser de textura arenosa, podría favorecer la movilidad de los metales hacia el subsuelo y la posible contaminación a los niveles freáticos, según Alvarado (2019), la textura arenosa del sedimento del Río Chiquito limita la acumulación de los contaminantes provenientes de las aguas residuales domésticas y de las tenerías y facilita el transporte aguas abajo.

Los resultados de esta investigación reflejan una alta densidad bacteriana pero no en diversidad, esto coincide con la actividad enzimática el cual es un indicador de la viabilidad de las bacterias aisladas. La no detección de algunos metales, posiblemente esté asociado a la textura arenosa del sedimento, al pH y a la materia orgánica presente que favorece la formación de otros complejos.

CONCLUSIONES

Es importante conocer las interacciones microbianas con los metales, los resultados brindan información preliminar sobre la viabilidad bacteriana, densidad y diversidad a nivel estructural mediante la tinción de Gram. Probablemente las bacterias aisladas han creado resistencia a hierro, plomo y manganeso mediante diferentes mecanismos de tolerancia y resistencia, pero es necesario realizar investigaciones para conocer la concentración mínima inhibitoria ante estos contaminantes en estas condiciones ambientales. Así como determinar a mayor profundidad sus interacciones con factores que indiquen el nivel de toxicidad del sedimento.

AGRADECIMIENTOS

A la Vice-Rectoría de Investigación, Posgrado y Extensión Universitaria de la UNAN-Managua, la cual financió esta investigación a través de los Fondos para Proyectos de Investigación (FPI), Universidad Nacional Autónoma de Nicaragua (UNAN-Managua). Al Centro de Investigación en Biotecnología por brindarnos apoyo logístico, en especial al Licenciado Jorge Esquivel Quezada. A los miembros de la Cooperativa Carlos Alvarado por el apoyo en la colecta de muestras.

BIBLIOGRAFÍA

- Alvarado, E. O. (2019). Impacto de las actividades antropogénicas de la ciudad de León sobre la calidad del sedimento del Río Chiquito, Mayo 2016 – Enero 2017. Monografía para optar al título de Licenciatura en Química Ambiental. Obtenido de <https://repositorio.unan.edu.ni/14312/>
- Aquihualt Ramos, M. d., Sepúlveda, T. V., Prado Barragán, L. A., Shirai Matsumoto, K., Ramírez Vives, F., & Salazar González, M. (2012). Manual de prácticas de laboratorio. Microbiología general.
- Cubillo, F. J. (2018). Contaminantes y aprovechamiento de desechos en curtidoras de León, producir biogás y biodiesel. *Revista Iberoamericana de Bioeconomía y Cambio Climático*, 4(8), 954-964. doi:10.5377/ribcc.v4i8.6675
- Ehrlich, H. L. (1999). Microbes as geologic agents: their role in mineral formation. *Journal Geomicrobiol*, 16, 135-153.
- Emerson, D. (2000). Microbial oxidation of Fe(II) and Mn(II) at circumneutral pH. *Environmental Metal-Microbe Interactions.*, 31-52.

- Espitia, N. (2014). Determinación de metales pesados en sedimentos superficiales en cuerpos de agua del canal del dique en las poblaciones de Gambote y Soplavientos (Bolívar). *Revista del Instituto de Investigación (RIIGEO), FIGMMG-UNMSM*, 17(34), 91-100.
- Leboffe, M. J., & Pierce, B. E. (2011). *A Photographic Atlas for the Microbiology Laboratory*.
- Li, C., Quan, Q., Gan, Y., Dong, J., Fang, J., Wang, L., & Liu, J. (2020). Effects of heavy metals on microbial communities in sediments and establishment of bioindicators based on microbial taxa and function for environmental monitoring and management. *Science of the Total Environment*, 749.
- Marrero Coto, J., Díaz Valdivia, A., & Coto Pérez, O. (2010). Mecanismos moleculares de resistencia a metales pesados en las bacterias y sus aplicaciones en la biorremediación. *CENIC Ciencias Biológicas*, 41(1), 67-78.
- Páramo Aguilera, L. A., Delgado Silva, H. D., & Ríos Guevara, C. K. (2021). Potencial del laboratorio de biotecnología del PIESA-UNI para desarrollar bioprocesos ambientales, agrícolas e industriales. *Nexo*, 34(02), 534-546. Obtenido de <https://doi.org/10.5377/nexo.v34i02.11540>
- Pucurrul, F. (2016). Expresión heteróloga de una posible manganeso oxidasa bacteriana de origen antártico. Trabajo de Grado, Licenciatura en Bioquímica.
- Shao, Z., & Sun, F. (2007). Intracellular sequestration of manganese and phosphorus in a metal-resistant fungus *Cladosporium cladosporioides* from deep-sea sediment. *Extremophiles*, 11, 435-443. doi:10.1007/s00792-006-0051-0
- Smets, B. F., Morrow, J. B., & Arango Pinedo, C. (2003). Plasmid Introduction in Metal-Stressed, Subsurface-Derived Microcosms: Plasmid Fate and Community Response. *Applied and Environmental Microbiology*, 69(7), 4087-4097.
- Sobolev, D., & Begonia T, M. F. (2008). Effects of Heavy Metal Contamination upon Soil Microbes: Lead-induced Changes in General and Denitrifying Microbial Communities as Evidenced by Molecular Markers. *Environmental Research and Public Health*, 5(5), 450-456.