

Presencia de bacterias rizosféricas resistentes a mercurio en suelos del sur de Bolívar, Colombia

Presence of mercury-resistant rhizosphere bacteria in soils in the Southern Bolívar, Colombia

Paternina H Ramón¹ Ing. Amb y Sanit, Pérez C Alexander*² Ph.D, Vitola R Deimer³ Biol.

¹Corporación Autónoma Regional de Sucre- CARSUCRE, fortalecimiento del programa y monitoreo del recurso hídrico, Sincelejo, Colombia.

²Universidad de Sucre, Facultad de Ciencias Agropecuarias, departamento de Fitotecnia, Grupo de investigación en Bioprospección Agropecuaria, Sincelejo, Colombia.

³Universidad de Sucre, grupo de investigación Bioprospección Agropecuaria, Sincelejo, Colombia.

Keywords:

Bacteria;
rhizosphere;
mercury;
resistance.

Abstract

The objective of the present study was to isolate rhizospheric bacteria from samples from the Santa Cruz Mine, department of Bolívar, in order to evaluate *in vitro* resistance activity at different concentrations of mercury. The samples were collected randomly from different sites near the Santa Cruz gold mine, from which they isolated rhizospheric bacteria. The resistance capacity of bacteria at different concentrations of mercury in the form of mercury chloride (HgCl₂) at concentrations of 50 ppm, 100 ppm, 150 ppm, 200 ppm and 250 ppm was evaluated *in vitro*; also the bacteria resistant to this metal were used to evaluate the ability to promote growth in plants. The results showed that the bacterium identified as *Pseudomonas luteola*, resisted *in vitro* at 200 ppm of mercury chloride (HgCl₂), and qualitatively had the ability to produce siderophores and biologically fix nitrogen. *P. luteola* was isolated from the rhizosphere near the Santa Cruz mine in the department of Bolívar, Colombia, with soils with high concentrations of mercury and extremely acidic soil reaction.

Palabras Clave:

Bacteria;
rizósfera;
mercurio;
resistencia.

Resumen

El objetivo del presente estudio fue aislar bacterias rizosféricas de muestras provenientes de la Mina de Santa Cruz, departamento de Bolívar, con el propósito de evaluar *in vitro* la actividad de resistencia a diferentes concentraciones de mercurio. Las muestras fueron recolectadas aleatoriamente de diferentes sitios de cerca de la mina de oro Santa Cruz, a partir de la cuales se aislaron bacterias rizosféricas. Se evaluó *in vitro* la capacidad de resistencias de las bacterias a diferentes concentraciones de mercurio en forma de cloruro de mercurio (HgCl₂) a concentraciones de 50 ppm, 100 ppm, 150 ppm, 200 ppm y 250 ppm; así mismo las bacterias resistentes a este metal se utilizaron para evaluar la capacidad de promoción de crecimiento en las plantas. Los resultados mostraron que la bacteria identificada como *Pseudomonas luteola*, resistió *in vitro* a 200 ppm de cloruro de mercurio (HgCl₂), y cualitativamente tuvo la capacidad de producir sideróforos y fijar biológicamente nitrógeno. *P. luteola* fue aislada de la rizósfera cerca de la mina de Santa Cruz en el departamento de Bolívar, Colombia, con suelos con altas concentraciones de mercurio y con reacción del suelo extremadamente ácida.

INFORMACIÓN

Recibido: 02-05-2017;

Aceptado: 10-09-2017.

Correspondencia autor:

alexpcor@yahoo.com

Introducción

La contaminación de los ecosistemas por metales pesados es uno de los principales objeto de estudios de las ciencias relacionadas con el ambiente. Esto es debido a que esas sustancias químicas presentan alta toxicidad y propiedades de acumulación en los organismos. Los residuos generados por la industria pueden contener uno o más metales tóxicos, y dan orígenes a efluentes químicamente complejos. El mercurio es un metal pesado altamente tóxico y un contaminante global referenciados en diversas literaturas científicas, el cual es continuamente depositado en los ecosistemas terrestre y acuáticos y la reemisión de nuevo a la atmósfera a través de fuentes naturales (CHUNG y CHON, 2014), dentro la cuales se encuentran las emisiones de reservorios naturales como las actividades volcánicas y los incendios forestales; y la reemisión del mercurio depositada a través de fuentes antropogénicas y naturales (ZHANG *et al.*, 2014). Estudios recientes y los modelos del ciclo en el medio ambiente, estima que las emisiones de mercurio y las reemisiones desde el suelo y la vegetación es de aproximadamente 5500 – 8900 toneladas, incluyendo además un 19-51% de emisión a la atmósfera a través de otras las fuentes (UNEP, 2013).

ZHOU *et al.*, (2015), han señalado que la emisión del mercurio a partir de los bosques y las praderas se han convertido en una fuente importante del total del mercurio gaseoso que se encuentra en la atmósfera, por lo que, el flujo de intercambio suelo/ aire es un componente importante dentro del ciclo biogeoquímicos del mercurio total. La toxicidad y los efectos adversos del mercurio en la salud humana y en los ecosistemas han sido dados a conocer desde hace mucho tiempo atrás. Los suelos contaminados contribuyen con la contaminación global de este metal y el impacto directo que tiene sobre el agua, vegetación, el aire y las consecuencias para la salud humana y animal. Las formas orgánicas de metil-mercurio (MeHg⁺) y etil-mercurio (EtHg⁺), son las formas más móviles, tóxicas y bioacumulables, con respecto a las formas inorgánicas (BLOOM y PORCELLA, 1994). El mercurio en el suelo intercambia entre formas orgánicas e inorgánicas dependiendo de los factores físico-químicos y ambientales (YASUTAKE *et al.*, 2011).

Según lo manifiesta PAISIO *et al.*, (2012), el mercurio (Hg) se encuentra en la naturaleza en forma inorgánica: elemental Hg (0) o iónicas Hg (I y II) y orgánicas: metilmercurio (CH₃Hg) (MeHg), dimetilmercurio (CH₃)₂Hg y fenilmercurio (C₆H₅Hg). El Hg (II) tiende a unirse fuertemente a los componentes del suelo, lo cual reduce su biodisponibilidad. Las formas orgánicas de este metal pesado, principalmente el MeHg, son altamente tóxicas y se acumulan en membranas biológicas. Una vez presente en el medioambiente, el Hg (0) se oxida a Hg iónico, el cual se deposita eficientemente en el suelo y/o agua y es convertido en MeHg por bacterias anaeróbicas reductoras de sulfuro.

WANG *et al.*, (2012), señalan que el mercurio se encuentra en el ambiente a partir de diversas fuentes, incluyendo naturales y antropogénicas. Su deposición natural en suelos proviene de la meteorización de rocas, de eventos volcánicos y actividad geotérmica, en concentraciones entre 0.03 y 0.1 mg/Kg). Con relación a las fuentes de procedencia antropogénicas, las actividades mineras son una de las principales vías de ingreso directo de Hg dentro del ambiente, particularmente las de explotación de oro y plata.

De lo antes, expuesto surge la necesidad inmediata de contribuir a mitigar el Hg en los sitios contaminados, con el propósito de reducir los riesgos para el ambiente y en la salud de los organismos incluyendo al hombre. En este sentido, el desarrollo de nuevas tecnologías de remediación ambiental es en la actualidad un campo de investigación de mucho interés. Existen métodos físico-químicos y biológicos de remoción de Hg de efluentes industriales; de suelos y aguas contaminadas. Sin embargo, como lo manifiesta GERHARDT *et al.*, (2009), los métodos físico – químicos, poseen algunas desventajas, tales como sus altos costos, utilización de grandes cantidades de reactivos y sus efectos adversos sobre los ecosistemas, entre otros. Surge la necesidad de aplicar tecnologías de remediación más eficientes y ambientalmente “amigables”, como los métodos de remediación biológica, los cuales utilizan organismos vivos para reducir, eliminar, contener o transformar los contaminantes en suelo, agua y aire.

Algunas bacterias son capaces de resistir a la contaminación de metales pesados a través de la transformación química por reducción, oxidación, metilación y la desmetilación. El mecanismo de resistencia más ampliamente descrito para este metal se basa en la presencia de grupos de genes organizados en un único operón, denominado “operón *mer*”, que permite la detoxificación enzimática del metal conocido hasta el momento que permite la transformación de formas tóxicas a formas no tóxicas volátiles (MATHEMA *et al.*, 2011).

Así, el objetivo del presente estudio fue aislar bacterias del suelo provenientes de la Mina de Santa Cruz, departamento de Bolívar, Colombia y evaluar *in vitro* la resistencia a diferentes concentraciones de mercurio con el propósito de encontrar bacterias del suelo que a futuro se conviertan en alternativa biológica para mitigar el efecto de este metal en el suelo.

Materiales y métodos

Sitio de muestreo. Para la selección del sitio de muestreo, se tomó como referencia, el levantamiento de información bibliográfica con reporte de ambientes contaminados con mercurio en el caribe colombiano presentado por PÉREZ *et al.*, (2016). Se identificó el corregimiento de Mina Santa Cruz, pertenecientes al municipio de San Martín de Loba, localizado en el sur de Bolívar, Colombia. Las coordenadas geográficas del sitio de muestreo correspondió a: 08° 46.42'08" latitud Norte y 74°10.21',02" longitud. Este. El corregimiento de Mina Santa Cruz, presenta como principal actividad la explotación artesanal de oro, el proceso de extracción de este metal implica el uso de altas concentraciones de mercurio el cual llega al suelo, debido a que las corrientes acuosas que salen de los molinos de la amalgamación y a la quema de mercurio, para su purificación de oro. En la Figura 1 se muestra la georeferenciación de la Mina de Santa Cruz, departamento de Bolívar, Colombia.

En los sitios de muestreo, se recolectaron muestras en una extensión de una hectárea, llevando a cabo marcación de los puntos de muestreo al azar y abarcando toda el área seleccionada. Para la toma de las muestras, se utilizó la metodología propuesta por el IGAC, (2015). De cada sitio

demarcado se recolectaron muestras de suelo y suelos con raíces de plantas; las cuales fueron rotuladas y conservadas para su transporte. Las muestras de suelo fueron utilizadas para caracterización física-química en el laboratorio de suelos y aguas de la Universidad de Sucre y las muestras de suelos más raíces se utilizaron para el aislamiento de bacterias rizosféricas y pruebas de resistencia *in vitro* a diferentes concentraciones de mercurio.



Figura 1. Mina de Santa Cruz, departamento de Bolívar, Colombia. Fuente: <http://google earth>, 2017.

Aislamiento de bacterias rizosféricas. Se aislaron bacterias de suelo rizosférico. Para el aislamiento de las bacterias rizosféricas se utilizó el protocolo propuesto por MURATOVA *et al.*, (2003), el cual consistió en remover el suelo no rizosférico de las raíces; la raíz con suelo rizosférico adherido se lavó en 100 mL de agua destilada y se agitó por 30 minutos. Se dejaron sedimentar las partículas de suelo y con la suspensión se prepararon diluciones seriadas desde 10^{-1} a 10^{-7} , las cuales fueron inoculadas sobre la superficie de agar McConkey por triplicado y se incubaron a 33 ± 2 °C por 72 horas. Después de este tiempo, se seleccionaron aquellas colonias con características visibles en cuanto a forma, color, tamaño y consistencia y se conservaron en agar nutritivo a 4 °C. La densidad de bacterias, en UFC/g de suelo, fue estimada por conteo directo de colonias sobre la superficie de los medios agar nutritivo y McConkey. Durante el conteo fueron observadas y seleccionadas las colonias que se distinguían en cuanto a forma, aspecto de la superficie, color y tamaño. Los morfotipos seleccionados fueron purificados y mantenidos en agar nutritivo para su posterior análisis e identificación.

Pruebas de Resistencia a Mercurio. Los morfotipos de bacterias más predominantes fueron purificados y usados para evaluar *in vitro* la sensibilidad o resistencia a diferentes concentraciones de mercurio. El nivel de resistencia de bacterias a mercurio se evaluará en medio Tris-tampón bajo en fosfato (TLP) propuesto por RATHNAYAKE *et al.*, (2013). Los aislamientos fueron inoculados en medio TLP enriquecido con Hg, en forma de cloruro de mercurio (HgCl_2) con diferentes concentraciones (50 ppm, 100 ppm, 150 ppm, 200 ppm y 250 ppm). Para cada uno de los aislamientos, la concentración mínima y máxima que inhibe el crecimiento visible se determinará después de la incubación a 28°C por 7 días. La determinación cualitativa del crecimiento se efectuará mediante observación del crecimiento de las bacterias en el medio. Las bacterias con presencia de tolerancia a mercurio fueron purificadas y conservadas para su posterior evaluación de la actividad promotora del crecimiento.

Actividades promotoras de crecimiento. Los morfotipos que mostraron *in vitro* resistencia a mercurio, fueron purificados y utilizado para evaluar cualitativamente las siguientes actividades:

Fijación biológica de nitrógeno. La evaluación cualitativa de la fijación biológica de los aislamientos se realizó por la metodología descrita por PÉREZ *et al.*, (2014) en medio selectivo agar ASHBY. Cada uno de los morfotipos de aislamientos fueron sembrados en forma directa sobre la superficie del medio e incubados a 28 °C por 72 horas. Después de este tiempo, se seleccionaron los morfotipos que fueron capaces de crecer en el medio, indicando la presencia de aquellas bacterias endófitas que poseen el sistema enzimático que les permite reducir el nitrógeno atmosférico y utilizarlo en su metabolismo.

Solubilización de fosfatos. Para la evaluación cualitativa de la solubilización de fosfato de los aislamientos, se realizó, siguiendo la metodología propuesta por PÉREZ *et al.*, (2014), sobre medio NBRIP con Ca_3PO_4 como fuente de fósforo insoluble a pH 7. Cada morfotipo fue inoculado sobre la superficie del medio e incubado a 28 °C por 72 horas. La observación cualitativa de los aislados se determinó por observación de la formación de halo transparente visible alrededor y debajo de la colonia.

Producción de sideróforos. La producción de sideróforos fue realizado sobre el medio cromo azurol-S (CAS) propuesto por SCHWYN y NEILANDS (1987), y evaluado por PÉREZ *et al.*, 2017; el cual consistió en disolver 60.5 mg de CAS en 50 ml de agua destilada, a esta mezcla se le adicionó 10 ml de solución de hierro (III) (1 mM de $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ y 10 mM de HCl), bajo agitación. La solución se mezcla con 72.9 mg de HDTMA disuelto en 40 ml de agua. El líquido azul resultante se autoclavó a 121°C por 15 minutos. En otro recipiente también se autoclavó una mezcla de 750 ml de agua, 15 gr de agar, 30.24 g de pipes, y 12 g de una solución 50% (w/w) de NaOH ajustado a pH de 6.8. Al medio se le agregaron 4 g de glucosa como fuente de carbono. Los aislados se sembraron utilizando palitos de madera y se incubaron durante 7 días a 30°C. La habilidad de la bacteria para producir sideróforos se evidenció por la formación de un halo.

Identificación de la bacteria rizosféricas resistentes a mercurio. Para la identificación de bacterias rizosféricas que mostraron resistencia a mercurio y actividad positiva para la fijación biológica de nitrógeno, solubilización de fosfato, producción de sideróforos; se realizó la prueba de oxidasa, observación de la bacteria con tinción diferencial y siembra en medios selectivos agar MacConkey, Agar EMB y cetrimida. La identificación se llevó a cabo por medio de diferentes pruebas bioquímicas que se contenían en una galería plástica con micro tubos con cultivos deshidratados o que contenían sustratos de diferentes enzimas, en este caso se utilizó el sistema miniaturizado API20 NE, el cual arroja un perfil numérico que se ingresó a la página web <https://apiweb.biomerieux.com> y permitió la identificación de la bacteria

Resultados y discusión

Análisis físico-químico del suelo. Los resultados de la caracterización de los parámetros físico-químicos encontrados en la muestra de suelo recolectada en la zona de Mina Santa Cruz, se describen en la Tabla 1.

Los resultados mostrados en la Tabla 1 señalan que los suelos presentaron las siguientes características físico-químicas: valores de pH

Tabla 1. Análisis físico-químico de suelos de la Mina de Santa Cruz, Bolívar, Colombia

Parámetros Físico-químicos	Valor	Interpretación	Valores referencias
pH (Agua 1:1 P/V)	2,36	Extremadamente ácido	5,80 – 7,20
Materia orgánica (%)	0,78	Contenido muy pobre	2,0 – 4,0
Fósforo (ppm), Bray II	57,72	Contenido alto	15 – 30
C.I.C. (meq/100 gr de suelo)	12, 50	Contenido moderado	10 – 20
Calcio (Cmol.kg-1 suelo)	0	Nulo	5 – 7
Magnesio (Cmol.kg-1 suelo)	0	Nulo	2 – 3
Potasio (Cmol.kg-1 suelo)	0,01	Contenido muy pobre	0,2-0,4
Sodio (Cmol.kg-1 suelo)	2,3	Contenido abundante	<1,0
Aluminio intercambiable (Cmol.kg ⁻¹ suelo)	15	Contenido excesivo	<0,2
Azufre, ppm, fotométrico, IGAC 6 Ed 2006	3624	Contenido excesivo	
Textura (M. Bouyoucos)	F.L	Franco Limoso	Franco arcilloso
Arena (%)	23,33		20-50
Arcilla (%)	13,33		20-60
Limo (%)	63,34		20-70
Saturación de calcio (%)	0	Contenido muy pobre	50 – 70
Saturación de magnesio (%)	0	Contenido muy pobre	20 – 30
Saturación de sodio (%)	13,29	Contenido abundante	<6,0
Saturación de aluminio (%)	86,66	Contenido excesivo	<5,0
Relación calcio /magnesio	0	-	2 – 4 (normal)
Conductividad eléctrica (MicroS/cms)	8050	Suelo sódico	< 2.000
Salinidad % en pasta saturada	4,5	-	-

Fuente. Laboratorio suelos y aguas de la Universidad de Sucre, 2017.

extremadamente ácido; contenidos de materia orgánica, potasio, saturación de calcio y magnesio muy pobres; de fósforo alto; aluminio intercambiable y azufre excesivo; capacidad de intercambio catiónico moderado; calcio y magnesio nulos; sodio y saturación de sodio abundante; la conductividad eléctrica indicó un suelo sódico y textura franco limosa.

Como lo manifiesta PÉREZ et al., (2016) y lo corroboran KABATA-PENDIAS (2011) y TERÁN-MITA et al., (2013), presencia de valores de pH extremadamente ácido encontrado en los suelos de la zona del presente estudio, sugieren que la absorción del mercurio es alta y, como consecuencia, es fácilmente transportado en el suelo por escorrentía hacia cuerpos de agua aledaños. Asimismo, el contenido excesivo de aluminio en estos suelos está muy relacionado con el pH ácido del mismo, lo que posiblemente causaría inhibición del crecimiento radical y, como resultado, reducción en la toma de agua y de nutrientes por parte de las plantas establecidas en esos suelos (CASIERRA- POSADA y AGUILAR-AVENDAÑO, 2007).

Concentración de mercurio en muestras de suelo. La concentración de mercurio determinada en la muestra por mediante técnica instrumental de absorción atómica en la Universidad de Córdoba fue de 4.9 mg·kg⁻¹, según los resultados este un suelo se considera de categoría tóxico, debido a que se encuentra dentro del rango de 0,3–5mg·kg⁻¹. A esta concentración el mercurio presente en el suelo, comienza a inhibir procesos en el suelo, tales como la respiración microbiana, la mineralización y la nitrificación, según lo reportan (POSCHENRIEDER y BARCELÓ, 2003; KABATA-PENDIAS, 2011). Según lo reporta ADRIANO (2001), en los suelos los valores de mercurio oscilan entre 0.01 y 0.2mg·kg⁻¹, pero estos valores pueden incrementar, significativamente, en aquellos suelos intervenidos por explotación minera.

Bacterias rizosféricas. Se aislaron cinco morfotipos de bacterias, las cuales fueron rotuladas como: M1SBLB, M2SBLIM, M3SBLIM, M4SBLIM y M5SBLIM (M: morfotipo; S: suelos; B: Bolívar; LIM: laboratorio investigaciones microbiológicas universidad de Sucre), purificadas y conservadas sobre la superficie de agar nutritivo para los las pruebas y análisis respectivos.

Crecimiento de bacterias rizosféricas a diferentes concentraciones de mercurio. Los resultados obtenidos como se observan en la Figura 2, muestran que solo el morfotipo M4SBLIM obtuvo un crecimiento de 86×10^4 UFC/ml hasta la concentración de 200 ppm, con respecto a los demás morfotipos evaluados y hasta la concentración 100 ppm de Hg, solo se obtuvo crecimiento de los morfotipos M2SBLIM; M3SBLIM y M5SBLIM. El morfotipo M1SBLIM, solamente mostró capacidad de resistir al mercurio en forma de cloruro de mercurio (HgCl_2) hasta las 50 ppm.

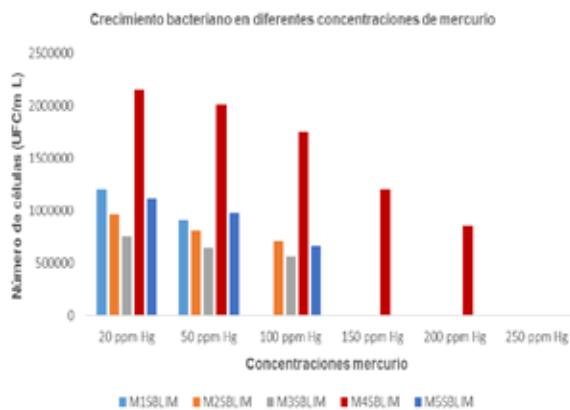


Figura 2. Crecimiento bacteriano (UFC/ ml) de los morfotipos aislados de suelos de la mina Santa Cruz, Bolívar, Colombia a diferentes concentraciones de mercurio. M: morfotipos; SB: suelos mina Santa Cruz, Bolívar.

La presencia de altas concentraciones de mercurio en el medio ambiente produce una baja abundancia de comunidades microbianas. Esta situación ocurre debido a que relativamente la baja diversidad genética de las comunidades microbianas se aclimata a la presencia del mercurio e induce un cambio en la composición de las mismas comunidades (RASMUSSEN *et al.*, 2008). Además, la tolerancia al mercurio en las comunidades microbianas aclimatadas, varía en respuestas a las diferentes concentraciones del metal en los diferentes ambientes. La resistencia de mercurio en las bacterias está determinada por la presencia del *operon Mer*, el cual se localiza en plásmidos, transposones, integrones y el DNA genómico y frecuentemente además en los genes resistentes a antibióticos (NASCIMENTO y CHARTONE-SOUZA, 2003).

Según lo reportado por SABRY *et al.*, (1997); De SOUZA *et al.*, (2006), la resistencia de bacterias a metales pesados es considerado un indicador biológico para ambientes contaminados con metales pesados. Las bacterias resistentes a mercurio potencialmente contribuyen al ciclo biogeoquímico de este metal. Pero en respuesta a una resistencia incrementada a diferentes metales, ellas representan un impacto negativo sobre la funcionalidad de los ecosistemas debido al decrecimiento de la expresión de diferentes enzimas microbianas.

Identificación. El morfotipo M4SBLIM, de acuerdo a los resultados de identificación por medio un kit api 20 NE, arrojó un 99.5% de homología con secuencias de la bacteria *Pseudomonas luteola*, quien fue capaz de crecer hasta 200 ppm de mercurio en forma de cloruro de mercurio (HgCl_2). De otra parte en la tabla 2, se observa que el morfotipo M4SB (*P. luteola*) mostró *in vitro* capacidad de producción de sideróforos y fijación biológica de nitrógeno simultáneamente, mientras que los morfotipos M1SBLIM y M5SBLIM, mostraron actividad de fijación de nitrógeno.

Como lo manifiestan CASALTA *et al.*, (2005), *Pseudomonas luteola* (*P. luteola*) es una bacteria aerobia, Gram-negativa, morfología en forma de varilla, formación de pigmento de color amarillo. El organismo es no fermentativo, oxidasa-negativo, catalasa-positivo, y crece en agar MacConkey. Esta bacteria originalmente fue denominada *P. Luteola*, pero estudios sobre la base de los bajos niveles de ADN-DNA, que fue posteriormente reclasificado como *Chryseomonas luteola*. Sin embargo, el análisis de las secuencias de 16S rDNA de esta bacteria, indican que nombres de género *Chryseomonas*, *Flavimonas* y *Pseudomonas* son sinónimos, como consecuencia, se llegó a la conclusión de que los nombres *P. Luteola* y *Pseudomonas oryzihabitans* debe utilizarse. El hábitat normal de *P. Luteola* no es definido, a pesar de que pertenece a un grupo de bacterias que normalmente se encuentran en el agua, el suelo, la humedad y otros entornos. Asimismo, esta bacteria ha sido considerada una bacteria saprofita, pero en ocasiones se comporta como un patógeno oportunista que causa bacteriemia, meningitis, endocarditis, peritonitis en humanos y animales.

Levantamiento de información bibliográfica en bases de datos a nivel mundial no señalan estudios de *Ps. luteola* con capacidad de absorber mercurio, sin embargo, trabajos llevados a cabo por OZDEMIR y BAYSAL, (2004), señalan que *P. luteola* puede absorber ciertos metales pesados tales como Cr (VI) y Al (III), presente en aguas residuales industriales bajo condiciones relativamente ácidas (pH: 4 y 5 para cada ion respectivamente). Los experimentos realizados por OZDEMIR, (2005), esta bacteria muestra una alta capacidad de adsorción de 55.2 mg g⁻¹ para Al (III) y 3.0 mg g⁻¹ para Cr (VI). Otros estudios han señalado que esta especie produce exopolisacárido (EPS) utilizado en la adsorción de níquel y cobre.

El presente estudio fue observada *in vitro* la producción cualitativa de sideróforos y fijación biológica de nitrógeno por parte de *P. luteola* (Tabla 2). La producción de sideróforos es una estrategia más común para la acumulación de hierro en los microorganismos. Como lo indican HIDER y KONG, (2010), estos compuestos son moléculas de bajo peso molecular (500-1500 Da), poseen alta afinidad y selectividad por el hierro (III). Existe alrededor de 200 compuestos con distintas estructuras identificados como sideróforos, no obstante en la naturaleza los grupos funcionales no difieren mucho entre ellos (KREWULAK y VOGUEL, 2007). Así mismo, WINKELMANN, (1987); WINKELMANN, (1991), argumentan que el papel de estos compuestos es captar hierro del medio ambiente, tomarlo disponible para la célula bacteriana y después ser secretado al medio extracelularmente. Este compuesto forma complejos con el Fe³⁺, que es transportado al interior de la célula para su disponibilidad del metal a la bacteria (DOBBELAERE *et al.*, 2003). Los complejos estables entre el sideróforo y otros cationes metálicos diferentes al hierro también son formados como lo manifiestan NEUBAUER *et al.*, (2000), ejemplos de estos complejos estables que se pueden formar entre los sideróforos y los metales fueron las evaluaciones hechas sobre 16 los siguientes metales Ag⁺, Al³⁺, Cd²⁺, Co²⁺, Cr²⁺, Cu²⁺, Eu³⁺, Ga³⁺, Hg²⁺, Mn²⁺, Ni²⁺, Pb²⁺, Sn²⁺, Tb³⁺, Tl⁺ y Zn²⁺ y comprobaron que los dos principales sideróforos formados por la especie de bacteria *Pseudomonas aeruginosa* correspondieron a pioverdina y piochelina y son considerados los aptos para quelar todos estos metales (BRAUD *et al.*, 2009 a,b).

Tabla 2. Actividad cualitativa de solubilización de fosfatos, producción de sideróforos y fijación biológica de nitrógeno de morfotipos aislados de suelos de la Mina de Santa Cruz, Bolívar, Colombia. +: actividad positiva; -: actividad negativa.

Morfotipos	Actividad promotora de crecimiento		
	Solubilización de fosfatos	Producción de sideróforos	Fijación biológica de nitrógeno
M1SBLIM	-	-	+
M2SBLIM	-	-	-
M3SBLIM	-	-	-
M4SBLIM	-	+	+
M5SBLIM	-	-	+

Con respecto a la actividad de solubilización de fosfato mostrada cualitativamente *in vitro* por M4SBLIM, estudios llevados a cabo por SANTANAS *et al.*, (2002), en donde aislaron bacterias del suelo asociadas a cultivos de crisantemo, señalaron la presencia de actividad de solubilización de fosfatos en las especies de bacterias identificadas como: *Bacillus licheniformis*, *Pseudomonas putida* y *Pseudomonas luteola*. Así mismo VASQUEZ *et al.*, (2000), identificaron a cepas bacterianas asociadas a la capacidad solubilizadora de fosfato están las aisladas a partir de mangle blanco: *B. licheniformis*, *Chryseomonas luteola* (*Pseudomonas luteola*) y *Pseudomonas stutzeri*.

Según estudios realizados por GONZÁLEZ *et al.*, (2015), sobre eficiencia de las Bacterias Promotoras del Crecimiento Vegetal (BPCV) en Caña de Azúcar, reportan a *Ps. luteola* como una rizobacteria con alta capacidad de producir índoles totales después de ser inoculadas en plantas de caña de azúcar. En este sentido mismo sentido YANG *et al.*, (2009) definen a las rizobacterias promotoras de crecimiento son microorganismos capaces de promover el crecimiento de las plantas a través de diferentes mecanismos tales como: absorción y movilidad de nutrientes, producción de antibióticos, fijación biológica de nitrógeno, la producción de fitohormonas, solubilización de fosfatos, producción de sideróforos y el control biológico sobre fitopatógenos (BASHAN y DE-BASHAN, 2005).

Conclusiones

En el presente estudio aisló a *Pseudomonas luteola*, de rizósfera de suelo de la mina Santa Cruz, localizada en el Sur del departamento de Bolívar. La actividad de resistencia *in vitro* demostró capacidad de resistir a 200 ppm de mercurio en forma de cloruro de mercurio (HgCl_2). *P. luteola*, presentó además capacidad de solubilizar fosfato y fijación biológica del nitrógeno. Esta bacteria fue aislada de un suelo identificado como de reacción extremadamente ácido y fuertemente salino; contenido de materia orgánica y fósforo pobre y abundante, respectivamente y contenidos nulos de

calcio y magnesio. En los actuales momentos en las bases de datos de bibliografías especializadas no se reporta la presencia *P. luteola*, como rizobacteria con capacidad de absorber mercurio, convirtiéndose en el primer reporte en Colombia sobre la presencia de esta bacteria adaptada a los suelos de la Mina de Santa Cruz, Bolívar con altas concentraciones de mercurio.

Agradecimientos

Los autores expresan sus agradecimientos al laboratorio de investigaciones microbiológicas de la Universidad de Sucre.

Referencias

- ADRIANO, D.C. 2001. *Trace elements in the terrestrial environment*. Springer, New York.
- BASHAN, Y.; DE-BASHAN, L. E. 2005. *Bacteria/plant growth promotion*. In: D. Hillel (ed.). *Encyclopedia of soils in the environment*. Elsevier. Oxford. UK.
- BLOOM, NS.; PORCELLA, DB. 1994. Less mercury?. *Nature* 367, 694
- BRAUD, A.; HANNAUER, M.; MILSIN, G.L.A.; SCHALK, I.J. 2009a. The *Pseudomonas aeruginosa* pyochelin-iron uptake pathway and its metal specificity. *Journal of Bacteriology*. 191:5317–5325.
- BRAUD, A.; HOEGY, F.; JEZEQUEL, K.; LEBEAU, T.; SCHALK, I.J. 2009b. New insights into the metal specificity of the *Pseudomonas aeruginosa* pyoverdine-iron uptake pathway. *Environmental Microbiology*. 11:1079–1091.
- CASIERRA-POSADA, F.; AGUILAR-AVENDAÑO, O. 2007. Estrés por aluminio en plantas: reacciones en el suelo, síntomas en vegetales y posibilidades de corrección. *Rev. Col. Ciencias Hort.* 1(2):246-257.
- CASALTA, J.P.; FOURNIER, P.E.; HABIB, G.; RIBERI, A.; RAOULT, D. 2005. Válvula protésica endocarditis causada por *Pseudomonas luteola*. *BMC Infectious Diseases*. 2005; 5: 82-82. Disponible en: URL: http://viaclinica.com/article.php?pmc_id=1274313
- CHUNG, S.; CHON, HT. 2014. Assessment of the level of mercury contamination from some anthropogenic sources in Ulaanbaatar, Mongolia. *J. Geochem. Explor.* 147: 237–244.
- DE SOUZA, MJ.; NAIR, S.; LOKA BHARATHI, PA.; CHANDRAMOHAN, D., 2006. Metal and antibiotic-resistance in psychrotrophic bacteria from Antarctic Marine waters. *Ecotoxicology* 15: 379–384.
- DOBBELAERE, S.; VANDERLEYDEN, J.; OKON, Y. 2003. Plant Growth-Promoting Effects of Diazotrophs in the Rhizosphere. *Critical Reviews in Plant Sciences*. 22(2):107-149.

- GERHARDT, KE.; HUANG, XD.; GLICK, BR.; GREENBERG, BM. 2009. Phytoremediation and rhizoremediation of organic soil contaminants: potential and challenges. *Plant Sci* 176: 20-30.
- GONZÁLEZ, A .M.; ESPINOSA, V. D.; GÓMEZ, M. F. 2015. EFFICIENCY OF PLANT GROWTH PROMOTING RHIZOBACTERIA (PGPR) IN SUGARCANE. *Revista Terra Latinoamericana*. 33: 321-330.
- HIDER, R.C.; KONG, X. 2010. Chemistry and biology of siderophores. *Natural Product Reports*. 27:637–657.
- INSTITUTO GEOGRÁFICO AGUSTÍN CODAZZI –IGAC-. 2015. ¿Cómo realizar la toma de muestras para suelos? Disponible desde internet en: http://www.igac.gov.co/wps/portal/igac/raiz/iniciohome/tramites!/ut/p/c4/04_SB8K8xLLM9MSSzPy8xBz9CP0os3hHT3d_JydDRwN3t0BXA0_vUKMwf28PI4NQL_2CbEdFAJ67NCc!/?WCM_PORTLET=PC_7_AIGOB1A08AGF0ISG6J8NS30 (con acceso 26/10/2016).
- KABATA-PENDIAS, A. 2011. *Trace elements in soils and plants*. 4th ed. CRC Press, Boca Ratón (Estados Unidos).
- KREWULAK, K.D.; VOGEL, H.J. 2007. Structural biology of bacterial iron uptake. *Biochimica et Biophysica Acta*. 1778:1781–1804.
- NASCIMENTO, A.M.A.; CHARTONE-SOUZA, E. 2003. Operon mer: bacterial resistance to mercury and potential for bioremediation of contaminated environments. *Gen. Mol. Res.* 2: 92–101.
- MATHEMA, VB.; THAKURI, BC.; SILLANPÄÄ, M. 2011. Bacterialmer operon-mediated detoxification of mercurial compounds: a short review. *Arch Microbiol* 193: 837–844.
- MURATOVA, A.; HÝBNER, TH.; TISCHER, S.; TURKOVSKAYA, O.; MÖDER, M.; KUSCHK, P. 2003. Plant-Rhizosphere - Microflora association during phytoremediation of PAH -contaminated soil. *Int. J. Phytoremediat.* 5:137-151.
- OZDEMIR, G.; BAYSAL, S. H. 2004. "Chromium and aluminum biosorption on *Chryseomonas luteola* TEM05". *Applied Microbiology and Biotechnology*. 64 (4): 599–603.
- OZDEMIR, G.; CEYHAN, N.; MANAV, E. 2005. "Utilization of an exopolysaccharide produced by *Chryseomonas luteola* TEM05 in alginate beads for adsorption of cadmium and cobalt ions". *Bioresource Technology*. 96 (15): 1677–82
- PAISIO, C.E.; GONZÁLEZ, P.S.; TALANO, M.A.; AGOSTINI, E. 2012. Remediación biológica de Mercurio: Recientes avances. *Rev Latinoam Biotecnol Amb Algal* 3(2):119-146.
- PÉREZ, AC.; TUBERQUÍA, SA.; AMELL, JD. 2014. Actividad *in vitro* de bacterias endófitas fijadoras de nitrógeno y solubilizadoras de fosfatos. *Agron. Mesoam.* 25:01-11.
- PÉREZ, A.; MARTINEZ, D.; ZAFIRO, B.; MARRUGO, J. 2016. Bacterias endófitas asociadas a los géneros *Cyperus* y *Paspalum* en suelos contaminados con mercurio. *Rev. U.D.C.AAct. & Div. Cient.* 19(1): 67-76.
- PÉREZ C. A.; ARROYO C. E.; CHAMORRO A. L. 2017. *Bacterias endófitas aisladas de cultivo de arroz*. Editorial Académica Española, España.
- POSCHENRIEDER, C.; BARCELÓ, J. 2003. *Estrés por metales pesados*. In: REIGOSA, MJ., PEDROL, N., SÁNCHEZ, A. (eds.). *Ecofisiología Vegetal*. Madrid.

- UNEP, 2013. Global Mercury Assessment 2013: Source, Emissions, Releases and Environmental Transport.
- RATHNAYAKE, IVN.; MALLAVARAPU, M.; KRISHNAMURTI, GSR.; BOLAN, NS.; NAIDUR R. 2013. Heavy metal toxicity to bacteria – Are the existing growth media accurate enough to determine heavy metal toxicity. *Chemosphere*. 90:1195-1200.
- RASMUSSEN, LD.; ZAWADSKY, C.; BINNERUP, SJ.; OREGAARD, G.; SORENSEN, SJ.; KROER, N., 2008. Cultivation of hard to culture subsurface mercury resistant bacteria and discovery of new *merA* gene sequences. *Appl. Environ. Microbiol.* 74 (12): 3795–3803.
- SANTANA, M.; VÁSQUEZ, C.; MARTÍNEZ, M.; FRANCO, M. 2002. Evaluación de cepas de *Azotobacter* spp y de bacterias solubilizadoras de fosfato (BFS), como bifertilizante mixto en cultivos de crisantemo (*Chrysoanthemum morifolium* var. Regal Suerte). Tesis de Microbiología Industrial. Pontificia Universidad Javeriana. 24 p.
- SABRY, SA.; GHOZLAN, HA.; ABOU-ZEID, DM. 1997. Metal tolerance and antibiotic resistance patterns of a bacterial population isolated from sea water. *Journal Applied and Microbiology*. 82, 245–252.
- SCHWYN, B.; NEILANDS, J. (1987). Universal chemical assay for the detection and determination of siderophores. *Anal Biochem* 160: 47-56.
- WANG, J.; FENG, X.; ANDERSON, C.W.; XING, Y.; SHANG, L. 2012. Remediation of mercury contaminated sites - A review. *J Hazard Mater* 221-222:1-18.
- WINKELMANN, G.; VAN DER HELM, D.; Neilands, J. B. 1987. *Iron Transport in Microbes, Plants and Animals*, VCH Press, Weinheim.
- WINKELMANN, G. 1991. *Handbook of Microbial Iron Chelates*, CRC Press, Boca Raton, FL, 1991.
- YANG, J.; KLOEPPER J. W.; RYU, C. M. 2009. Rhizosphere bacteria help plants tolerate abiotic stress. *Trends Plant Sci.* 14: 1-4.
- YASUTAKE, A.; CHENG, JP.; KIYONO, M.; URAGICHI, S.; LIU, X.; MUIRA, K.; Yasuda, Y.; MASHYANOV, N. 2011. Rapid monitoring of mercury in air from an organic chemical factory in China using a portable mercury analyzer. *The Scientific World JOURNAL* 11:1630–1640.
- ZHANG, HH.; CHEN, JJ.; ZHU, L.; YANG, GY., LI, D.Q., 2014. Anthropogenic mercury enrichment factors and contributions in soils of Guangdong Province, South China. *J. Geochem. Explor.* 144:312–319.
- ZHOU, J.; WANG, Z.; ZHANG, X.; CHEN, J., 2015. Distribution and elevated soil pools of mercury in an acidic subtropical forest of southwestern China. *Environ. Pollut.* 202, 187–195.