

**Contribución de las comunidades microbianas en los procesos de metilación y desmetilación
de Mercurio: un acercamiento metagenómico a la problemática de
contaminación por mercurio en Colombia**

Lina Fernanda Sánchez Aya

Departamento de biología, facultad de ciencias básicas

Universidad de Pamplona

Pamplona, Colombia

2024

**Contribución de las comunidades microbianas en los procesos de metilación y
desmetilación de Mercurio: un acercamiento metagenómico a la problemática de
contaminación por mercurio en Colombia**

Lina Fernanda Sánchez Aya

Trabajo de grado presentado como requisito para optar al título de Bióloga

Director

Dr. Daniel Cerqueda García

Codirector

Dr. Luis Parmenio Suescún Bolívar

Departamento de biología, facultad de ciencias básicas

Universidad de Pamplona

Pamplona, Colombia

2024

Agradecimientos.

Al programa de Biología, en especial a aquellos docentes que de algún modo influyeron y enaltecieron mi formación académica en las ciencias básicas.

A mi codirector, Dr. Luis Parmenio Suescun, y especialmente a mi director, Dr. Daniel Cerqueda, por su apoyo incondicional, paciencia y orientación. Su dedicación ha sido invaluable para asegurar el éxito de este proyecto, convirtiéndose en una fuente de inspiración y motivación tanto personal como profesional.

A mi familia, amigos y pareja, por su apoyo y aliento constante en las distintas etapas de este proceso.

Lista de abreviaturas

%GC	Porcentaje guanina y citosina.
(CH ₃) ₂ Hg	Dimetilmercurio
ADN	Ácido desoxirribonucleico
ARNr 16S	ARN Ribosomal 16S
ATSDR	Agencia para Sustancias Tóxicas y Registro de Enfermedades
aUN	assembly units Number
B.S	Barrancabermeja, Santander
C.M	Cumaral, Meta
C ₆ H ₅ Hg	Fenilmercurio
C ₈ H ₈ HgO	Acetato de fenilmercurio
Cd	Cadmio
CH ₃ ⁻	Radical metilo
CH ₃ Hg	Metilmercurio
CH ₃ HgCl	compuesto de metilmercurio
CH ₃ HgOH	compuesto de metilmercurio
CH ₄	Metano
C-Hg	Organomercurio
Cl(NH ₂)Hg	Cloroamido de mercurio

Cr	Cromo
DDBJ	Banco de Datos de ADN de Japón
DUPS	Duplicate Reads
EBI	European Bioinformatics Institute
GTDB	Genome Taxonomy Database
GTDB	The Genome Taxonomy Database
Hg I	Mercurio monovalente
Hg II	Mercurio divalente
Hg	Mercurio
Hg (CON) ₂	Fulminato de mercurio
Hg (NO ₃) ₂	Nitrato de mercurio
Hg (OH) ₂	Hidróxido de mercurio (II)
Hg (SCN) ₂	Tiocinato de mercurio
Hg ⁰	Mercurio elemental
Hg ²⁺	Mercurio (II)
Hg ₂ ²⁺	Mercurio mercurioso
<i>hgcA</i>	<i>mercury methylation corrinoid protein</i>
<i>hgcB</i>	<i>mercury methylation ferredoxin</i>
HgO	Óxido de mercurio
HgS	Sulfuro de mercurio

IRB	Iron Reducing Bacteria
KEGG	Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes
M.A	Medellín, Antioquia
MAGs	Metagenome-Assembled Genomes
MeHg	metilmercurio
<i>merA</i>	<i>Mercuric reductase</i>
<i>merB</i>	<i>organomercurial lyase</i>
<i>merC</i>	<i>organomercurial transporter</i>
<i>merD</i>	<i>mercury resistance co-regulator</i>
<i>merF</i>	<i>mercury resistance system transport protein</i>
<i>merI</i>	<i>sulfolobus mercury resistance protein,</i>
<i>merP</i>	<i>mercury resistance system periplasmic binding protein</i>
<i>merR</i>	Hg (II)-responsive transcriptional regulator
<i>merT</i>	<i>mercuric ion transporter</i>
NCBI	Centro Nacional de Información Biotecnológica
nm	nanómetro
O ₂	Oxígeno
pb	pares de bases
Pb	Plomo
PNUMA	Programa de las Naciones Unidas para el Medio Ambiente

ppm	partes por millón
R	Regulación
R_2Hg , RHg^+	Mercurio orgánico
SRB	Sulfate-Reducing Bacteria
S.C	Solano, Caquetá
SCG.M	San Carlos de Guaroa, Meta
$-SH$	Grupo tiol
SM.M	San Martín, Meta
SQ.C	Santander de Quilichao, Cauca
SRA	Sequence Read Archive
T.C	Tauramena, Casanare
THg	Mercurio total
V.M	Villavicencio, Meta
WGS	Whole Genome Sequencing

Tabla de contenido

Lista de abreviaturas	4
Resumen.	10
Abstract.	11
Introducción.....	12
Marco teórico y antecedentes.	16
Justificación.....	25
Hipótesis.....	26
Objetivos	27
Objetivo General.	¡Error! Marcador no definido.
Objetivos específicos	¡Error! Marcador no definido.
Métodos.....	28
Minería de datos metagenómicos.....	28
Procesamiento de las lecturas crudas	29
Ensamble de las lecturas metagenómicas.	30
Construcción y cuantificación de MAGs	30
Anotación funcional de bins.....	31
Anotación taxonómica de bins con GTDB-Tk.	31
Determinación de ortólogos con OrthoFinder.....	32
Análisis de resultados en R.	32
Resultados	34
Distribución de los datos metagenómicos seleccionados realizados en Colombia	34
Ortólogos seleccionados con base en las proteínas molde con su asignación taxonómica.	41
Discusión.	45

Calidad y generalidades de los metagenomas seleccionados.	45
Diversidad microbiana de los datos metagenómicos seleccionados realizados en Colombia ...	46
Diversidad taxonómica de los operones mer y hgc	51
Conclusiones.....	55
Perspectivas.	56
Apéndices.	57
Referencias.	64

Resumen.

El mercurio, especialmente en su forma más tóxica, el metilmercurio, es un contaminante ambiental persistente motivado preocupación a nivel global debido a su alta toxicidad y capacidad de bioacumulación en ecosistemas acuáticos y terrestres; en donde procesos antropogénicos como la minería ilegal ha intensificado este problema, siendo una fuente importante de liberación de mercurio al ambiente mundialmente y en particular en Colombia, donde en los últimos años se ha datado un aumento en las emisiones de dicho contaminante. Los microorganismos juegan un papel crucial en la biogeoquímica del mercurio, principalmente a través de operones como *hgc* y *mer*, los cuales son fundamentales en los procesos de metilación y desmetilación del mercurio. En este estudio, se procesaron lecturas crudas de metagenomas ambientales de 74 bioproyectos de 9 localidades de Colombia mediante análisis metagenómico, obteniendo como resultado 175 MAGs, dentro de los cuales, se identificaron 16 MAGs como candidatos potenciales para la biotransformación del mercurio, entre ellos, uno corresponde al operón *mer*, mientras que los restantes 15 están asociados al operón *hgc*.

Abstract.

Mercury, especially in its most toxic form, methylmercury, is a persistent environmental pollutant that has raised global concern due to its high toxicity and ability to bioaccumulate in aquatic and terrestrial ecosystems. Illegal mining has exacerbated this problem, being a significant source of mercury release into the environment worldwide, particularly in Colombia, where an increase in emissions of this pollutant has been observed in recent years. Microorganisms play a crucial role in the biogeochemistry of mercury, primarily through operons such as *hgc* and *mer*, which are essential in the processes of methylation and demethylation of mercury. In this study, raw metagenomic reads from 74 bioprojects in 9 locations across Colombia were processed through metagenomic analysis, resulting in 175 MAGs. Among these, 16 MAGs were identified as potential candidates for mercury biotransformation, with one corresponding to the *mer* operon and the remaining 15 associated with the *hgc* operon.

Introducción.

De acuerdo con cifras presentadas por el PNUMA (2018), el 38 % de las emisiones de mercurio en el mundo se generan en el sector de la minería de oro artesanal y de pequeña escala. En este contexto, Colombia es uno de los países con mayor cantidad de emisiones de este metal pesado a nivel mundial (Procuraduría General de la Nación, 2023), un alto porcentaje de dichas emisiones proviene de actividades antropogénicas (Zhang et al., 2021), específicamente la extracción ilícita de minerales y las malas prácticas mineras que recurren al Hg para concentrar el oro (Tarazona., 2023) este proceso conlleva la liberación de residuos de mercurio al ambiente convirtiéndolo en una amenaza para la salud humana y los ecosistemas en el territorio colombiano (Martínez & Uribe, 2015).

Según el informe “Explotación de oro de aluvión”, en Colombia, la minería legal e ilegal se realiza en 101 municipios ubicados en 13 departamentos del país, principalmente en Chocó, Antioquia y Córdoba. La minería ilegal representó el 73% de las áreas dedicadas a la explotación del oro durante el 2022 (Tarazona, 2023). Estudios previos, realizados en el departamento del Chocó, concretamente en el río Condoto, evidenciaron vertimientos de mercurio provenientes de exploraciones mineras de entre 200 y 1000 kg*año⁻¹, que genera niveles detectables en el agua y en los peces (Sánchez y Cañón, 2010). Asimismo, se han detectado concentraciones de este metal pesado en muestras de cabello y sangre en personas expuestas a labores de minería, con valores de 2.8 y 89.2 ppm respectivamente, (Idrovo et al., 2001). En diversos municipios de Antioquia asociados a zonas de explotación minera, se han encontrado concentraciones de mercurio en muestras de leche materna que superan los niveles permisibles establecidos (Molina et al., 2018). El norte del Cauca es otra zona altamente afectada por esta problemática, estudios realizados en el río Ovejas han demostrado concentraciones de mercurio que superan 1000 veces los límites

permitidos por las normas colombianas (Semana Sostenible y Mongabay Latinoamérica, 2016). De igual forma, en trayectos del río Cauca asociados a la minería, se han encontrado concentraciones de mercurio con valores promedio de 0.083 ppm, superando ampliamente el límite máximo permisible (0.006 ppm) establecido por la organización mundial de la salud (Enamorado et al., 2022).

En este contexto, los microorganismos juegan un papel crucial, ya que influyen fuertemente en la especiación geoquímica del Hg (Jonsson, S et al 2012), llevando a cabo procesos esenciales para su movilización y transformación, los cuales son mediados por genes que conforman a los operones *hgc* y *mer*. (Barkay and Gu 2022). Los genes del operón *hgc*, ampliamente distribuidos en bacterias y arqueas, participan en la metilación biótica del mercurio inorgánico, convirtiéndolo en metilmercurio (Gionfriddo et al. 2020; Lin et al. 2021). Por otro lado, Boyd y Barkay (2012) describen cómo los genes del operón *mer* están relacionados con la resistencia de los microorganismos al estrés causado por el mercurio y sus compuestos, este operón consta de un grupo de genes que codifican polipéptidos con funciones reguladoras, de transporte y enzimáticas que realizan conversiones de este metal en formas menos tóxicas (Osborn et al., 1997). Dada la relevancia de los microorganismos en el ciclo del mercurio, resulta imperativo estudiar la diversidad taxonómica de los microorganismos metiladores y desmetiladores de mercurio.

La metagenómica es un campo de investigación que implica la secuenciación del genoma en comunidades de organismos para estudiar aspectos como diversidad, funcionalidad y evolución (Huson et al., 2009). Esta herramienta brinda un panorama detallado de los genes presentes en el entorno ambiental y de los procesos de transformación de mercurio (Gionfriddo et al., 2020). En esa línea, el objetivo del proyecto era comprender la contribución potencial de las comunidades microbianas en los procesos de metilación y desmetilación del mercurio, mediante el análisis de la diversidad, taxonomía y distribución de los operones involucrado en procesos de transformación

de mercurio, en algunas regiones de Colombia. Para tal fin, se emplearon herramientas fundamentales, tales como la base de datos *Sequence Read Archive* (SRA), repositorio público internacional para datos de secuenciación de alto rendimiento, que facilita el acceso a los datos de secuenciación generados en investigaciones científicas (Kodama et al., 2012); las instancias de la SRA son gestionadas por el Centro Nacional de Información Biotecnológica (NCBI, *National Center for Biotechnology Information*), el Banco de Datos de ADN de Japón (DDBJ, *DNA Data Bank of Japan*) y el Instituto Europeo de Bioinformática (EBI, *European Bioinformatics Institute*) (Leinonen et al., 2011). Estos datos, en su forma cruda, son la materia prima fundamental para el análisis de metagenomas, dicho análisis dependerán de procesos importantes bioinformaticamente, como un correcto ensamble llevado a cabo con herramientas como MEGAHIT ,que utiliza un algoritmo de ensamble de grafos de Bruijn que permite reconstruir las secuencias originales de ADN a partir de las lecturas secuenciadas, uniendo las secuencias cortas provenientes de la secuenciación para reconstruir secuencias más largas, llamadas contigs, los cuales representan fragmentos de las secuencias originales (Li et al., 2015). Este paso es esencial para el análisis posterior, ya que permite la identificación de genes, la asignación taxonómica y la obtención de información funcional. En este contexto, la herramienta MetaWRAP, es un software para el análisis de metagenomas. Este software contiene múltiples módulos para el ensamble, análisis y evaluación de genomas completos o provisionales a partir de lecturas crudas de secuenciación metagenómica. Entre los módulos se incluyen: asignación de taxonomía, anotación funcional, reensamble y refinamiento de genomas (Uritskiy et al., 2018). A continuación, la Base de Datos GTDB (*The Genome Taxonomy Database*), es una herramienta que permite asignar clasificaciones taxonómicas a bacterias y arqueas a partir de genomas aislados y genomas ensamblados de metagenomas (MAGs, *Metagenome-Assembled Genomes*) (Chaumeil et al., 2022). La asignación de categorías taxonómicas se fundamenta en la divergencia evolutiva relativa para definir taxones de rango

superior, y en la identidad promedio de nucleótidos para delinear grupos de especies (Parks et al., 2022). Las secuencias peptídicas de genes clave de los operones *mer* y *hgc* se buscarán en la base de datos KEGG (Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes), la cual proporciona una amplia colección de información funcional sobre genes y sus productos, para utilizarlas como moldes en la identificación posterior dentro de los datos metagenómicos seleccionados. Además, se buscarán ortólogos entre los bins y las proteínas modelo seleccionadas mediante OrthoFinder, que identifica grupos de genes ortólogos y proporcionará una visión de las relaciones evolutivas entre ellos (Emms y Kelly, 2019). Esta línea de trabajo permitió que, en total, se identificaron 175 MAGs en muestras obtenidas de diferentes bioproyectos realizados en Colombia y 16 de estos MAGs presentaron secuencias ortólogas de los operones *hgc* y *mer*.

Marco teórico y antecedentes.

Los metales de alta densidad, tales como el cadmio (Cd), el plomo (Pb), el cromo (Cr) y el mercurio (Hg), son liberados en grandes proporciones debido a diversas actividades antropogénicas (Navarro et al., 2019). Según la Agencia para Sustancias Tóxicas y Registro de Enfermedades-ATSDR- (2015), el Hg ocupa la tercera posición en la lista de prioridades de sustancias peligrosas. En particular, el Hg constituye un contaminante sumamente tóxico, y su dispersión en el suelo y el agua plantea una amenaza importante para la salud humana y para el equilibrio ambiental (Baldi et al., 2012).

La liberación antropogénica primaria de Hg es más alta que la de las fuentes naturales, según datos de Zhang et al. (2021) se vierten hasta 9.000 toneladas de mercurio en la atmósfera, el agua y los suelos anualmente, lo que lleva a un aumento en la carga total de Hg en los ecosistemas (Driscoll et al., 2013).

En el medioambiente, en su mayoría, a excepción del mercurio atmosférico adopta la forma de sales mercúricas inorgánicas y compuestos organomercuriales (Kumari et al. 2020), sus tres formas principales son: mercurio elemental (Hg^0), mercurio inorgánico (Hg I , Hg II) y mercurio orgánico (Tabla 1. Beckers y Rinklebe, 2017). El metilmercurio, una forma del mercurio orgánico, debido a su afinidad con grupos tiol ($-\text{SH}$), tiene la capacidad de unirse a las proteínas y transferirse a través de las redes tróficas (Gaioli et al., 2012). Por su parte, el mercurio elemental e inorgánico, puede ingresar por inhalación y alcanzar la sangre con una eficiencia del 80% (Ramírez, 2008). Se ha demostrado, que exposiciones elevadas a compuestos como cloruro de mercurio o el nitrato de mercurio, causan daños al tracto gastrointestinal, los riñones y el sistema nervioso central (Martínez & Uribe, 2015).

Los compuestos de mercurio más comunes en el entorno son las formas inorgánicas de Hg (II), tales como $\text{Hg}(\text{OH})_2$ y HgS . También se encuentran presentes compuestos de metilmercurio

como CH_3HgCl y CH_3HgOH , en proporciones más reducidas, aparecen otros compuestos orgánicos como el dimetilmercurio o el fenilmercurio caracterizándose por presentar enlaces covalentes C-Hg (Tabla 1. Beckers y Rinklebe, 2017).

Tabla 1

Formas químicas de mercurio en el medio ambiente

Mercurio metálico o elemental.	
Mercurio elemental	Hg^0
Mercurio inorgánico o sales de mercurio	
Formas iónicas	(Hg I y II)
Sulfuro de mercurio	HgS
Óxido de mercurio	HgO
Mercurio mercurioso	(Hg^{2+})
Cloroamido de mercurio	$\text{Cl}(\text{NH}_2)\text{Hg}$
Fulminato de mercurio	$\text{Hg}(\text{CON})_2$
Acetato de fenilmercurio	$\text{C}_6\text{H}_5\text{HgO}$
Nitrato de mercurio	$\text{Hg}(\text{NO}_3)_2$
Tiocinato de mercurio	$\text{Hg}(\text{SCN})_2$
Mercurio orgánico (RHg^+) (R_2Hg)	

Metilmercurio	(CH ₃ Hg)
Dimetilmercurio	[(CH ₃) ₂ Hg]
Fenilmercurio	(C ₆ H ₅ Hg)

Fuente: Barkay et al. (2003).

Actualmente, se tiene certeza de que el cambio climático modifica sustancialmente el ciclo del Hg, con implicaciones a escala local y regional (Driscoll et al., 2013; Krabbenhoft y Sunderland, 2013). Estos impactos pueden ser directos, como aumentar la cantidad de Hg disponible para la metilación, amplificar el propio proceso de metilación, y la conducción de ciclos de humectación y secado inducidos por la sequía en condiciones redox (Helbig et al., 2020).

Por consiguiente, se ha suscitado un creciente interés a nivel científico, técnico y social en disminuir la contaminación derivada del mercurio y mitigar sus consecuencias. La instauración del Convenio de Minamata sobre el Mercurio (*Minamata Disease Research Group*, 1966), se anticipa que proporcionará una comprensión más profunda de las posibles fuentes de CH₃Hg dentro del marco de los ciclos biogeoquímicos mundiales y los factores que inciden en la generación de las diferentes formas químicas del Hg (Kumari et al. 2020).

Una de las formas más tóxicas del mercurio es el metilmercurio, aunque claramente existen otras formas más tóxicas (organometálicas) estas suelen tener una menor incidencia. Una vez liberado en el entorno, el mercurio elemental (Hg⁰) experimenta un proceso de oxidación en ambientes naturales, transformándose en mercurio iónico, que se deposita de manera eficiente en suelos y/o cuerpos de agua. Posteriormente, bacterias anaeróbicas reductoras de sulfato desempeñan un papel fundamental en la conversión de este mercurio iónico en metilmercurio (CH₃Hg) (Le Jeune et al., 2012; Parkash et al., 2012). Tabla 2

Tabla 2

Transformaciones en el ciclo biogeoquímico del Hg.

Transformación	Proceso	Mecanismo
Metilación de Hg (II)	Biótico	Transferencia de CH_3^- mediada por metiltransferasa desde la metilcobalamina a través de la vía de la acetil-CoA en bacterias reductoras de sulfato
	Abiótico	Metilación por ácidos fúlvicos y húmicos, ácidos carboxílicos y compuestos de estaño metilados
Desmetilación	Biótico	Reducción por <i>merAB</i> produciendo CH_4 y Hg (0).
$\text{CH}_3\text{Hg(I)}$		Oxidación por (un) proceso(s) microbiano(s) no caracterizado(s) que producen CO_2 y un resto de Hg no identificado

	Abiótico	Fotodegradación a 200–400 nm
Reducción de Hg (II)	Biótico	Reductasa mercúrica bacteriana y vías indefinidas por algas durante el crecimiento claro y oscuro
	Abiótico	Reacciones fotoquímicas y oscuras por radicales orgánicos e inorgánicos libres. Desproporción: $2\text{Hg(I)} \rightarrow \text{Hg (II)} + \text{Hg (0)}$
Oxidación de Hg (0)	Biótico	Oxidación por hidroperoxidasas en microbios, plantas y animales.
	Abiótico	Fotooxidación por varios oxidantes y radicales libres y oxidación oscura posiblemente por O_2 en condiciones salinas

Fuente: Barkay et al. (2003).

La problemática del CH_3Hg como contaminante ambiental se remonta a la década de 1960, cuando se postuló que la enfermedad de Minamata era causada por el envenenamiento por CH_3Hg (Grupo de Investigación de la Enfermedad de Minamata, 1966). De manera similar, Westoo (1967) informó concentraciones anormalmente altas de mercurio en el pescado y otros alimentos en Suecia, donde del 80% al 100% del mercurio estaba presente como CH_3Hg .

Teniendo en cuenta estos y otros brotes de salud pública importantes similares en todo el mundo, Jernelov (1969) postuló por primera vez la participación microbiana en la formación de CH_3Hg en los ecosistemas acuáticos naturales. En su investigación añadió cloruro de mercurio a los sedimentos del fondo del lago y observó que se formaba CH_3Hg después de 5 a 10 días. No se detectó CH_3Hg cuando los sedimentos se esterilizaron previamente, concluyendo que este proceso debería involucrar actividad microbiana, aunque en ese momento no se postularon especies o genes microbianos.

Considerando que los microorganismos son el principal impulsor de la metilación del Hg, en una serie de experimentos, Parks y colaboradores (2013) demostraron que la formación biótica de CH_3Hg requiere la presencia de los genes *hgc A* y *hgc B* ya que la tasa de metilación de Hg está limitada por la expresión de estos (Capo et al. 2023). Es importante destacar que, ahora, se sabe que ambos genes solo se presentan en microorganismos capaces de metilar el mercurio y ambos son necesarios para la actividad de metilación (Gilmour et al. 2013 ; Podar et al. 2015). Este descubrimiento ha permitido la identificación de alto rendimiento, un método que permite analizar de manera rápida y eficiente grandes cantidades de datos genómicos, lo cual facilita la comprensión de la diversidad de microorganismos con potencial de metilación en cultivos o diversos conjuntos de datos ambientales basados en la presencia de la secuencia *hgcAB* (Parks et al., 2013; Schaefer et al., 2014).

Los genes *hgcAB* requeridos por los microorganismos para metilar el Hg han sido reportados en muchos ambientes, incluyendo sedimentos de humedales, suelos de arrozales, permafrost descongelado, aguas hipersalinas e hipersulfídicas, lagos de soda y sistemas geotérmicos (Schaefer et al., 2014). Aunque la metilación de Hg se asocia, con mayor frecuencia, con la reducción de sulfato, (Compeau, G. C., et al 1985) (Bridou, R., et al 2011) la existencia de

desencadenantes ambientales o controles sobre la metilación de Hg sigue siendo poco conocida, al igual que la evolución y la distribución filogenética de los genes *hgcAB*.

Tanto *hgcA* como *hgcB* se encuentran en taxones procariotas, sin embargo, el par de genes *hgcAB* es relativamente raro y se presenta solo en aproximadamente el 1,4 % de los genomas microbianos secuenciados (Podar et al., 2015). Por otra parte, cabe resaltar que el potencial de metilación del mercurio no se puede predecir en función de la señal filogenética del ARNr 16S y es, más bien, un rasgo específico de especie o cepa (Yu et al., 2013; Parks et al., 2013; Gilmour et al., 2013).

Aparte de la metilación del Hg, la desmetilación del CH₃Hg también juega un papel clave en el ciclo global del Hg (Bridou et al., 2011). A través de estudios evolutivos y de quimiotaxis se han identificado microorganismos capaces de adaptarse al estrés mercúrico (Gadd, 2010). Aunque cabe resaltar que la quimiotaxis de un microorganismo hacia este metal depende de su capacidad fisiológica para utilizar o resistir el entorno metálico (Kearns, 2010). Es así como, el proceso de desmetilación se puede lograr de forma abiótica o biótica. La biótica, se puede realizar por dos mecanismos: la desmetilación reductora, mediada por bacterias aeróbicas que albergan el operón *mer* (Barkay et al., 2003), y la desmetilación oxidativa de CH₃Hg por bacterias anaeróbicas, incluidas la sulfato-reductoras, metanógenas y metanotrofas (Oremland et al., 1991; Lu et al., 2017). Los microorganismos utilizan el operón *mer* para desintoxicar el Hg (II), convirtiéndolo en Hg(0) volátil (Gionfriddo et al., 2020) este se compone de genes que codifican proteínas con funciones específicas para su regulación (R), así como el transporte (*merT*, *merP*, *merC* y *merF*) y reducción (*merA*) del mercurio, la proteína *MerR*, clasificada como una proteína metaloreguladora, se une a la región promotora del operón, y ambos regulan la transcripción de los genes estructurales

y la proteína R activa la transcripción del operón en presencia de concentraciones de Hg^{2+} y la reprime en ausencia de este metal. (Nascimento A., y Chartone-Souza E., 2003).

Los genes estructurales, ubicados aguas abajo del sitio promotor/operador, desempeñan un papel crucial en el transporte del ion mercurio; entre estos, *merT* y *merP* son genes esenciales para la expresión de la resistencia al mercurio en todos los operones *mer*. Además, los microorganismos que portan el gen *merB* que codifica la liasa organomercurial como parte del operón *mer* pueden desmetilar compuestos orgánicos de Hg, junto con la reductasa mercúrica (*merA*), para producir metano (CH_4) y $\text{Hg} (0)$, todos estos genes codifican diferentes proteínas que participan en la detección, eliminación, transporte y reducción de Hg (Barkay et al., 2003; Lin et al., 2011). La coordinación precisa entre los elementos reguladores y los genes estructurales garantiza una respuesta eficiente y adaptativa ante la presencia de mercurio en el ambiente. Sin embargo, para expandir nuestro entendimiento sobre la diversidad de microorganismos en diversos ambientes, la metagenómica emerge como un enfoque robusto para establecer conexiones entre la identidad filogenética de los microorganismos y su potencial metabólico (Perez et al., 2021). A través de la reconstrucción de genomas a partir de ADN ambiental (MAGs), este método ofrece una ventana para explorar cómo la presencia de genes relacionados con el ciclo del mercurio y la capacidad de metilación se distribuyen y manifiestan en comunidades microbianas complejas. Así, la metagenómica no solo complementa nuestra comprensión de los mecanismos moleculares subyacentes a la resistencia al mercurio, sino que también amplía el panorama de posibilidades para detectar y caracterizar otros genes funcionales involucrados en la metilación del mercurio, abriendo nuevas vías para estudiar la interacción entre microorganismos y contaminantes en el ambiente (Rodríguez et al., 2022). Una ventaja adicional de esta técnica es la obtención de los MAGs, que brindan información funcional a nivel de genoma, lo que es especialmente útil para

entender la diversidad en el contexto de la metilación del mercurio. Trabajos previos han subrayado la importancia de esta metodología, incluyendo investigaciones de Bowers et al. (2017) y McDaniel et al. (2020).

Considerando la problemática de la contaminación por mercurio en Colombia, resulta imprescindible desarrollar métodos que permitan la biorremediación de ecosistemas contaminados con este metal. En este sentido, la metagenómica brinda un amplio marco analítico de las diversas comunidades de microorganismos presentes en el entorno involucrados en los procesos de metilación y desmetilación del mercurio, posibilitando la identificación de microorganismos candidatos para biorremediación o marcadores microbianos indicadores de zonas de alto riesgo para la salud.

Justificación

De acuerdo con la Procuraduría General de la Nación, Colombia es el mayor emisor de mercurio per cápita en el mundo y el tercer país que más contamina globalmente con este metal (Procuraduría General de la Nación, 2023). Estos datos subrayan la importancia de estudiar las comunidades microbianas y los genes involucrados en los procesos de transformación del mercurio, particularmente hacia formas metiladas como el metilmercurio (MeHg), un compuesto perjudicial para la salud humana y el medio ambiente (Bradley, Barst y Basu, 2017; Zhang et al., 2010), el cual a menudo se bioacumula y biomagnifica en medios acuáticos (Watras et al., 1998; Boyd et al., 2009) y terrestres (Rimmer et al., 2010). Sin embargo, persisten limitaciones en nuestro entendimiento de la diversidad y funcionalidad de los operones *mer* y *hgc*, esenciales para comprender la dinámica biogeoquímica de este metal pesado en el ambiente (Barkay et al., 2003).

Por lo tanto, con el presente estudio se busca contribuir al conocimiento sobre la diversidad taxonómica de los operones *mer* y *hgc* en microorganismos que habitan en diferentes ecosistemas de Colombia y su potencial para influir en la distribución y toxicidad de este metal en los ecosistemas locales. Esta capacidad genética permite que estos microorganismos puedan ser considerados modelos para estudios de evolución y biotecnología ambiental.

Hipótesis

Existe una variabilidad en la diversidad taxonómica de los operones *mer* y *hgc* entre los microorganismos presentes en diferentes ecosistemas en Colombia.

Objetivos

Objetivo general

Evaluar la diversidad taxonómica del operón *mer* y *hgc* en microorganismos presentes en diferentes ecosistemas y su relación con los procesos de metilación y desmetilación del mercurio como contaminante en Colombia.

Objetivos específicos

- Caracterizar la diversidad taxonómica del operón *mer* en microorganismos presentes en diferentes ecosistemas y su relación en procesos de desintoxicación de mercurio.
- Caracterizar la diversidad taxonómica del operón *hgc* en microorganismos presentes en diferentes ecosistemas y su relación con la metilación del mercurio elemental.
- Identificar enzimas y genes clave de operones *mer* y *hgc*, involucrados en los procesos de desintoxicación y metilación del mercurio.
- Evaluar el potencial de las comunidades microbianas presentes en ambientes contaminados con mercurio.

Métodos.

Minería de datos metagenómicos

Se realizó una búsqueda de lecturas crudas de metagenomas en la base de datos del NCBI (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/>), para identificar los datos de microbiota ambiental generados en Colombia. Se revisaron los metadatos de las librerías encontradas en el campo *library*, seleccionando los datos etiquetados como *Whole Genome Sequencing*(WGS), secuenciadas en la plataforma de Illumina disponibles en el Sequence Read Archive (SRA). Posteriormente, se diseñó un script en lenguaje de programación Python v2.7.15 [<http://www.python.org/>] que facilitó la descarga de los archivos SRA y su conversión al formato FASTQ mediante el uso de *fasterq-dump* (Apéndice A).

Adicionalmente, en la base de datos KEGG (Kanehisa et al., 2023) (<https://www.genome.jp/kegg/>), se realizó una búsqueda específica de las secuencias peptídicas que son codificadas por los genes de cada operón, incluyendo *merA*, *merB*, *merC*, *merR*, *merT*, *merI*, *merP* y *merD* para el operón *mer*, y *hgcA* y *hgcB* para el operón *hgc*. Estas secuencias se utilizaron como moldes para la identificación posterior dentro de los datos metagenómicos seleccionados (Tabla 3)

Tabla 3

Secuencias peptídicas usadas como moldes

Identificador	Anotación
WP_006224622.	
1	<i>mercuric ion transporter MerT</i>
WP_016708222.	
1	<i>organomercurial transporter MerC</i>

	WP_012035144.	
1		<i>mercury methylation corrinoid protein HgcA</i>
	WP_012617702.	
1		<i>mercury methylation ferredoxin HgcB</i>
	WP_000995360.	
1		<i>mercury resistance co-regulator MerD</i>
	WP_069283521.	
1		<i>sulfolobus mercury resistance protein, MerI</i>
	WP_004574526.	<i>mercury resistance system periplasmic binding protein</i>
1		<i>MerP</i>
	WP_007803570.	
1		<i>mercury resistance system transport protein MerF</i>
	WP_005195267.	
1		<i>organomercurial lyase MerB</i>
	WP_000425271.	
1		<i>Hg (II)-responsive transcriptional regulator MerR</i>
	D9J041.2	<i>Mercuric reductase MerA</i>

Procesamiento de las lecturas crudas

Se empleó el módulo de read_qc de MetaWRAP (Uritskiy et al., 2018) para llevar a cabo la evaluación de calidad de las lecturas crudas descargadas en formato FASTQ pareado (forward y reverse), usando Trim Galore (Krueger, 2015) para el recorte de adaptadores de Illumina, además

se estableció un valor estándar de 150 pb, excluyendo lecturas que diferían de este tamaño. La distribución por calidad de las lecturas se calculó con FASTQC (Andrews y col., 2012) y visualizó en un informe generado con MultiQC (Ewels et al., 2016), proporcionando métricas como %GC, DUPS (duplicados) y longitud mediana de las lecturas.

Ensamble de las lecturas metagenómicas.

Para el ensamble metagenómico, se empleó la herramienta MEGAHIT v1.2.9 (Li et al., 2015) con el propósito de reconstruir secuencias genómicas continuas a partir de los archivos de lecturas en formato FASTQ, utilizando los siguientes parámetros: -t 80(número de núcleos de procesamiento); k-mers 39, 59, 79, 99, 119 y 141, multiplicidad mínima por defecto de 2, se aplicó para filtrar los k-meros y un tamaño mínimo de contig de 500 (min_contig_len). Estos k-mers se emplearon para construir un grafo de Bruijn.

Para garantizar la calidad de los resultados, se desactivó la adición de k-meros con el parámetro --no-mercy, y se estableció un nivel de fusión de burbujas con --bubble-level 2 para resolver estructuras complejas en el grafo de Bruijn, además, de parámetros para fusionar burbujas con una longitud máxima de 20 y una similitud mínima del 95% (--merge-len 20, --merge-similar 0.95). Se aplicó un filtrado de baja profundidad con --prune-level 2 y --prune-depth 2 para eliminar secuencias con una profundidad promedio menor a 2. Para asegurar una limpieza óptima del grafo, se realizaron 5 rondas de limpieza con el parámetro --cleaning-rounds y de igual manera se trabajó un índice de desconexión (--disconnect_ratio) en 0.1 y el --low_local_ratio en 0.2, lo que contribuyó a optimizar aún más la calidad de los contigs resultantes en el ensamble.

Construcción y cuantificación de MAGs

Se realizó el agrupamiento de contigs generados durante el ensamble previo para la obtención de MAGs utilizando el módulo de binning de MetaWRAP junto con los archivos de

lecturas de todas las muestras en formato FASTQ. Se eligió el algoritmo MetaBAT2 (Kang et al., 2019) dentro del módulo, especificando los parámetros de entrada de la siguiente manera: -o -t 40 -l 1000. Finalmente, se ejecutó inmediatamente CheckM en los resultados del binning mediante la opción --run-checkm, para evaluar la calidad de los bins.

Para la cuantificación de los bins, se utilizó el módulo quant_bins de MetaWRAP, el cual emplea Salmon (Patro et al., 2015) como la herramienta subyacente, en primer lugar, se especificó la carpeta que contenía los genomas provisionales en formato fasta, a través del parámetro -b (/st2/scratch_d/lsanchez/refined_bins/metabat2_bins), luego, se definió el directorio de salida -o (quantification_output) y con -a se adjuntó el archivo fasta que contenía el ensamble completo.

Anotación funcional de bins.

Los bins obtenidos con MetaBAT2 fueron anotados utilizando el módulo annotate_bins de MetaWRAP. Este módulo utiliza Prokka (Seemann, 2014). Los parámetros para este proceso incluyeron la especificación de un directorio de salida -o annotation_output, también se indicó la ubicación de los bins a anotar mediante el flag -b, y -t 5 para asignar 5 hilos de procesamiento.

Anotación taxonómica de bins con GTDB-Tk.

La anotación taxonómica de los bins se llevó a cabo mediante el uso de GTDB-Tk v2.3.0 (Chaumeil et al., 2022), un pipeline que incluye herramientas como Prodigal V2.6.3 (Hyatt et al., 2010), TIGRFAM, Pfam (Finn et al., 2014; Haft et al., 2001) y HMMER 3.3.2 (Eddy, 2020). Para iniciar este proceso, se ejecutó el comando gtdbtk classify_wf, el cual dirigió todo el flujo de trabajo de clasificación. Se especificó el directorio que contiene los genomas a clasificar con el parámetro --genome_dir metabat2_bins/, y también se indicó la ubicación de la base de datos Mash que se utilizará para la comparación y clasificación de los genomas mediante el parámetro --mash_db /st1/GTDB/data. Los resultados de la clasificación se guardarán en el directorio especificado por

el parámetro `--out_dir classify_wf_out`, facilitando su acceso y gestión posterior, además se especificó el uso de 40 CPU (`--cpus 40`) para el proceso general de clasificación y se 20 CPU adicionales (`--pplacer_cpus 20`) específicamente para el análisis de colocación filogenética (`pplacer`). Finalmente, se indicó la extensión de los archivos de genoma en el directorio `metabat2_bins/` utilizando el parámetro `--extension. fa`, lo que asegura que GTDB-Tk reconozca los archivos de genoma en el formato correcto para su procesamiento.

Determinación de ortólogos con OrthoFinder.

Se realizó una búsqueda de ortología entre los bins y las proteínas modelo seleccionadas (Tabla 3). Esta búsqueda se llevó a cabo utilizando el flujo de trabajo completo de OrthoFinder (Emms y Kelly, 2019). Se emplearon los parámetros `-S diamond` para seleccionar Diamond como el programa de alineación de secuencias de proteínas y para optimizar la paralelización, se especificó `-t 80` para las búsquedas BLAST/DIAMOND y los pasos de inferencia de árboles, y `-a 30` para los pasos internos del algoritmo OrthoFinder.

Análisis de resultados en R.

Los datos anteriormente resultantes se analizaron dentro del entorno R, empleando la herramienta Phyloseq (McMurdie y Holmes, 2013) que se integró a Tidyverse que incluye paquetes como `dplyr` y `ggplot2` (Wickham et al., 2019). Se creó un objeto Phyloseq, el cual constituye una estructura de datos completa que combina información de abundancia, taxonomía y metadatos de las muestras. Este objeto se construyó utilizando tablas de abundancia (`otu_table`), metadatos de las muestras (`sample_data`) y asignaciones taxonómicas (`tax_table`). Posteriormente, se llevaron a cabo visualizaciones mediante la generación de gráficos de abundancia de los bins, clasificados según la taxonomía. Se enfatizó las categorías taxonómicas a nivel de filo, clase y género, incluyendo parámetros adicionales, como la localidad y el tipo de muestra (suelo o agua), para

explorar las variaciones en la composición taxonómica según estas variables. Asimismo, la elección de microorganismos candidatos en los MAGs, ya sea metilantes o desmetilantes, se basó en la presencia completa de los operones *mer* y *hgc*.

Resultados.

Distribución de los datos metagenómicos seleccionados realizados en Colombia

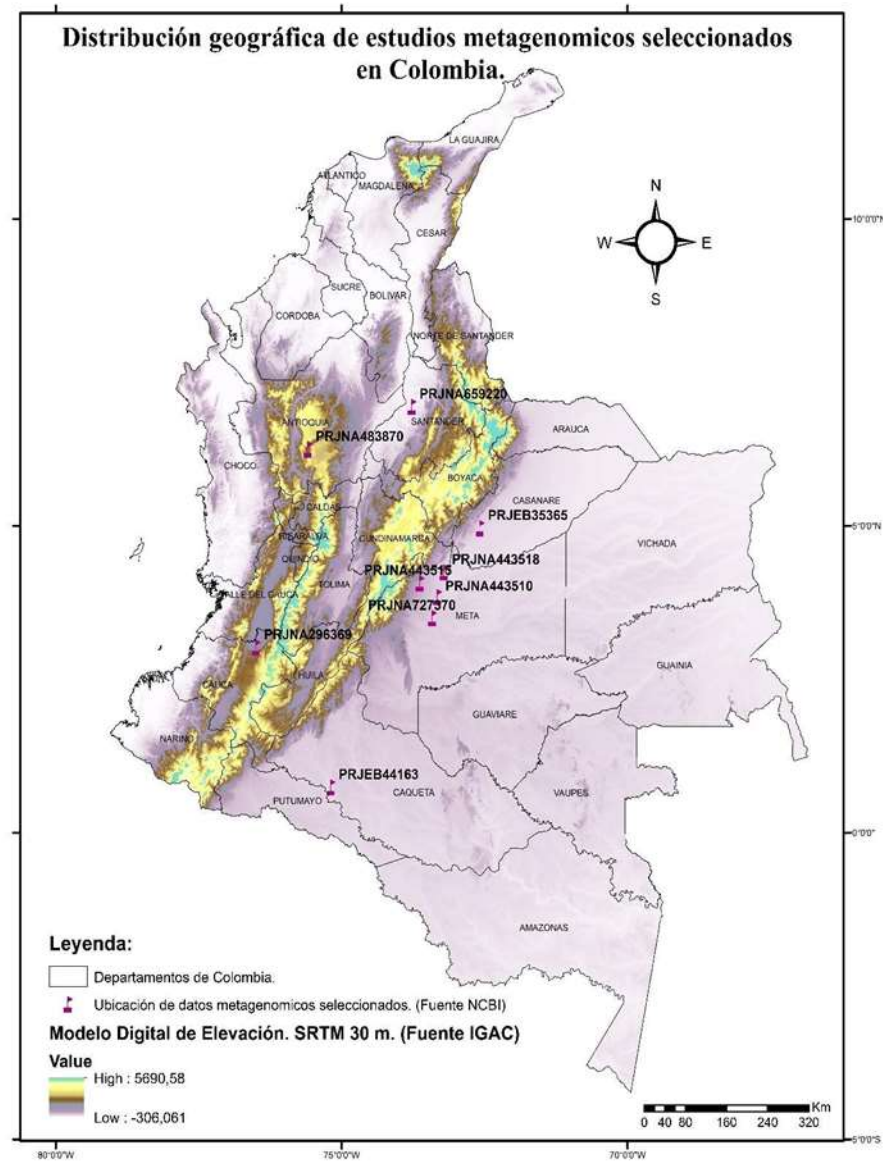


Figura 1: Distribución geográfica de estudios metagenómicos seleccionados en Colombia. Se ilustran las localidades de origen de las muestras de los bioproyectos incluyen Tauramena, Casanare (PRJEB35365), Medellín, Antioquia (PRJNA483870), Solano, Caquetá (PRJEB44163),

Barrancabermeja, Santander (PRJNA659220), Santander de Quilichao, Cauca (PRJNA296369), Villavicencio, Meta (PRJNA443515), Cumaral, Meta (PRJNA443518), y San Martín, Meta (PRJNA727370).

En este estudio, se seleccionaron un total de 9 bioproyectos, (Apéndice B). En total, se seleccionaron 74 metagenomas provenientes de las siguientes localidades:

Tauramena, Casanare (PRJEB35365):

- 13 librerías metagenómicas que contienen un total de 348,399,714 secuencias.
- Origen de las muestras: Suelos de tipo inceptisol rizosférico de cultivos de casava.

Medellín, Antioquia (PRJNA483870):

- 2 librerías metagenómicas que contienen un total de 58,754,463 secuencias.
- Origen de las muestras: Aguas subterráneas urbanas.

Solano, Caquetá (PRJEB44163):

- 33 librerías metagenómicas que contienen un total de 710,378,926 secuencias.
- Origen de las muestras: Suelo de bosque amazónico.

Barrancabermeja, Santander (PRJNA659220):

- 2 librerías metagenómicas que contienen un total de 51,712,417 secuencias.
- Origen de las muestras: Muestra ambiental de agua en depósitos de petróleo.

Santander de Quilichao, Cauca (PRJNA296369):

- 3 librerías metagenómicas que contienen un total de 60,720,746 secuencias.
- Origen de las muestras: Efluente de fermentación de yuca.

San Martín, Meta (PRJNA727370):

- 3 librerías metagenómicas que contienen un total de 18,316,095 secuencias.
- Origen de las muestras: Muestra ambiental de agua en depósitos de petróleo.

Villavicencio, Meta (PRJNA443515):

- 8 librerías metagenómicas que contienen un total de 657,196,147 secuencias.
- Origen de las muestras: suelo de turba tropical de turberas.

Cumaral, Meta (PRJNA443518):

- 9 librerías metagenómicas que contienen un total de 640,654,212 secuencias.
- Origen de las muestras: suelo de turba tropical de turberas.

San Carlos de Guaroa, Meta:

- 7 librerías metagenómicas que contienen un total de 478,055,617 secuencias.
- Origen de las muestras: suelo de turba tropical de turberas.

Por medio del binning con Metabat2, se reconstruyeron un total de 421 MAGs a partir de 14,745,349 contigs, con un valor N50 de 1003. El valor L50 de 3,802,269 sugiere la representatividad del 50% del tamaño total del ensamble y el auN (assembly units Number) de 3493.4 bases representa la longitud promedio del ensamble ponderada por la abundancia de cada contig. 175 MAGs presentaron un mínimo de 40% de completamiento y 10% de contaminación, los cuales se clasificaron en 36 filos, 56 clases y 124 géneros. Los filos dominantes fueron Campylobacteriota (14.85%), Acidobacteriota (8.70%), Actinomycetota (8.33%) y Pseudomonadota (7.17%), en lo que respecta a las clases dominantes en nuestros datos fueron

Campylobacteria (12.17%), Alphaproteobacteria (10,26%) Terriglobia (8.44%), Actinomycetia (10.65%), Bacilli (7.70%) y Thermoleophilia (6.39%) y en lo que respecta a los géneros dominantes tenemos a *Arcobacter* (7.50%), *Halarcobacter* (5.49%), *Acidoferrum* (4.84%), 13-2-20CM-66-19 (4.28%), *Prevotella* (4.21%) y *Lactobacillus* (2.83%).

Abundancia de los MAGs por sitio y tipo de muestra

Para facilitar la asignación dentro de los gráficos, se asignaron siglas a las localidades.
(Tabla4.)

Tabla 4

Localidad y tipos de muestras utilizadas en el estudio

Localidad	Sigla	Tipo de muestra
Tauramena, Casanare	T.C	Suelo
Solano, Caquetá	S.C	
Villavicencio, Meta	V.M	Suelo
Cumaral, Meta	C.M	Suelo
San Carlos de Guaroa, Meta	SCG.M	Suelo
Medellín,	M.A	Agua

Antioquia

Barrancabermeja,

Santander

B.S

Agua

San Martín, Meta

SM.M

Agua

S. de Quilichao,

SQ.C

Agua

En la figura 2, se observa que el filo Pseudomonadota está presente y resalta en todas las muestras independientemente de la localidad o el ambiente de procedencia. En las muestras de agua, el filo Campylobacteriota se identifica únicamente en la localidad de Barrancabermeja, Santander, mientras que el filo Aquificota se encuentra específicamente en la localidad de San Martín, Meta, ambos filos son exclusivos de las muestras de agua. En cuanto a las muestras de suelo, el filo Acidobacteriota es predominante en todas las localidades. Le sigue en mayor proporción el filo Actinomycetota, presente en todas las localidades de suelo y también en muestras de agua de Santander de Quilichao.

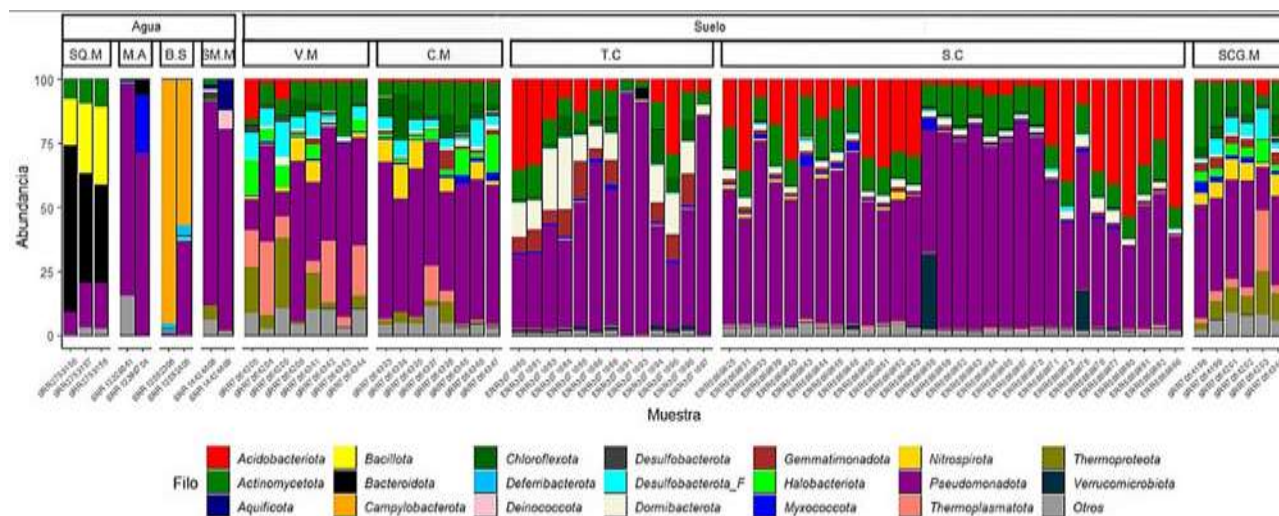


Figura 2. Distribución de la abundancia de MAGs por filo en cada muestra, contemplando localización y ambiente.

En la figura3, se observa la presencia predominante de las clases Alphaproteobacteria y Gammaproteobacteria en todas las localidades. En las muestras de suelo, destacan las clases Acidimicrobiia y Actinomycetia en todas las localidades, además, en Tauramena, Casanare, y Solano, Caquetá, resalta la clase Terriglobia. En las muestras de agua, destaca la exclusividad de la clase Bacilli en Santander de Quilichao, Cauca, y de la clase Campylobacteria en Barrancabermeja, Santander.

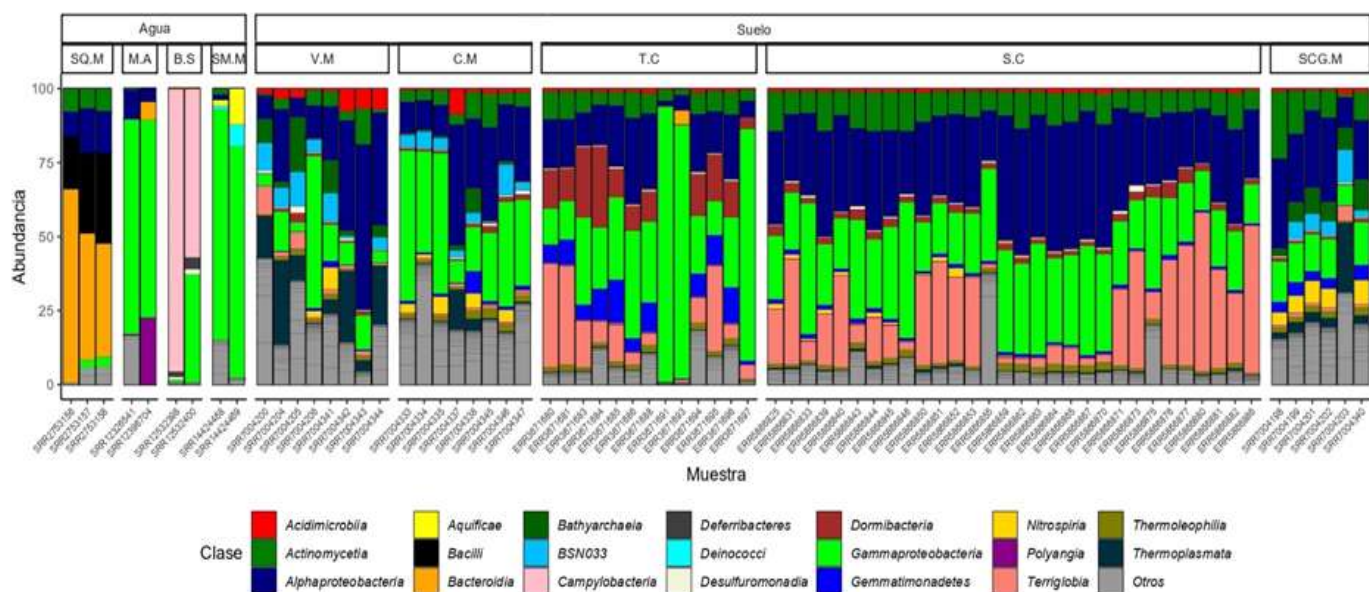


Figura 3. Distribución de la abundancia de MAGs por clase en cada muestra, contemplando localización y ambiente.

En las muestras de suelo, se destaca un grupo “no asignado” taxonómicamente como el de mayor porcentaje de abundancia para la mayoría de las muestras, seguido por un género aún no clasificado, denominado 13-2-20CM-66-19, perteneciente a la clase Gammaproteobacteria y continuando con el género Halarcobacter (Fig.4) además, en Tauramena, Casanare, y Solano, Caquetá, resalta el género *Acidoferrum*.

En las muestras provenientes de agua, en la localidad de Santander de Quilichao, el género *Acetobacter* es el más abundante, en el caso de Medellín, Antioquia, el género *Marinobacterium* ocupa el primer lugar en términos de abundancia, en Barrancabermeja, Santander, *Arcobacter* se destaca y en la localidad de San Martín la cual cuenta con dos muestras identificadas por el Id SRR14424468, *Achromobacter* es el género más abundante, mientras que Id SRR14424469 y *Tepidiphilus* muestra una mayor representación y abundancia para esta localidad en específica.

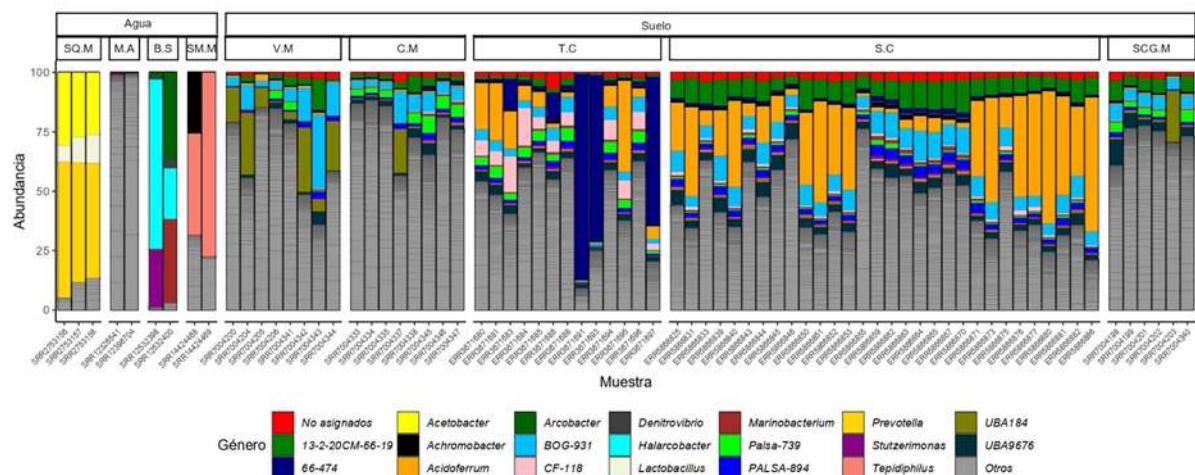


Figura 4. Distribución de la abundancia de MAGs por género en cada muestra, contemplando localización y ambiente.

Ortólogos seleccionados con base en las proteínas molde con su asignación taxonómica.

Se identificaron 9 grupos de ortólogos, distribuidos de la siguiente manera: Mercuric Reductase (*MerA*) con aproximadamente el 23.08% , Hg(II)-Responsive Transcriptional Regulator (*MerR*) con alrededor del 23.45%, Mercury Resistance Co-regulator (*MerD*) contribuyendo con aproximadamente el 13.88%, Mercury Resistance System Periplasmic Binding Protein (*MerP*) representando cerca del 23.45%, Organomercurial Lyase (*MerB*) con aproximadamente el 0.29%, Mercuric Ion Transporter (*MerT*) con cerca del 0.58%, Mercury Resistance System Transport Protein (*MerF*) con aproximadamente el 0.07%, Mercury Methylation Corrinoid Protein (*hgcA*) abarcando alrededor del 3.45%, Mercury Methylation Ferredoxin (*hgcB*) con cerca del 10.14%, Organomercurial Transporter (*MerC*) contribuyendo con alrededor del 1.01%, y Sulfolobus Mercury Resistance Protein (*MerI*) con aproximadamente el 0.22%.

Se identificaron 16 MAGs como candidatos potenciales para la biotransformación del mercurio. Entre ellos, uno corresponde al operón *mer*, mientras que los restantes 15 al operón *hgc*, además, difieren en cuanto a las localidades y el tipo de muestra de la que provienen.

En las muestras de suelo provenientes de las localidades de Villavicencio, Cumaral y San Carlos de Guaroa, todas vinculadas en un bioproyecto común y ubicadas en el departamento del Meta, se identificó la presencia del operón *mer* específicamente en la clase Desulfomonilla.

En cuanto a la presencia del operón *hgc* en las muestras de suelo, se observaron patrones distintivos en diversas localidades, (Fig. 5). En particular, la clase Gammaproteobacteria se presenta de manera exclusiva en la localidad de Solano, Caquetá, cuya muestra proviene de un bosque tropical. Por otro lado, en la localidad de Tauramena, Casanare, donde las muestras provienen de suelos de cultivos de casava, la clase Gammaproteobacteria exhibe el mayor porcentaje de abundancia (Fig. 5). En las localidades de Villavicencio, Cumaral y San Martín, municipios pertenecientes al departamento del Meta, se observa una similitud en las clases asociadas al operón *hgc*. La clase Syntrophobacteria destaca como la más abundante en las tres localidades, seguida por Deltaproteobacteria (BSN033). Además, la clase Dehalococcoidia presenta presencia más notable en Cumaral en comparación con Villavicencio y San Carlos de Guaroa, Meta donde también está presente, pero en baja abundancia. Finalmente, las tres localidades comparten la presencia de las clases Thermodesulfovibrionia y Thermoplasmata.

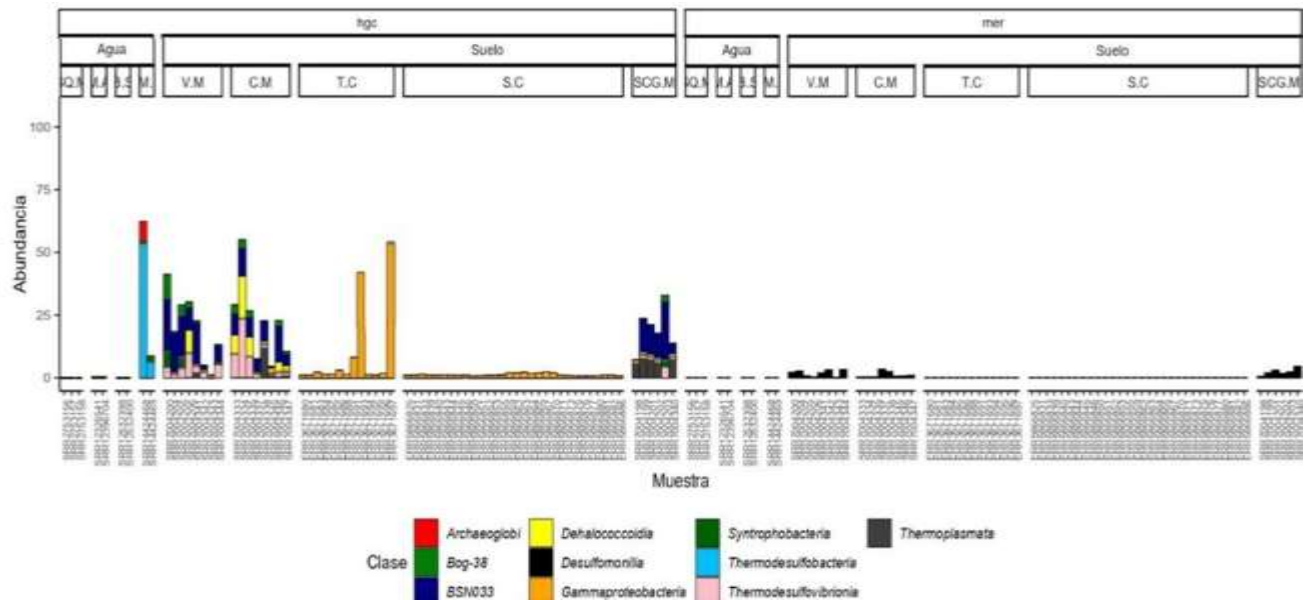


Figura 5. Distribución de la abundancia de MAGs tipo de operón por clase en cada muestra, contemplando localización y ambiente.

Las muestras de agua analizadas para la presencia del operón *hgc* muestran que los datos disponibles se limitan a la localidad de San Martín, Meta. En esta localidad, la clase Archaeoglobi presenta el mayor porcentaje de abundancia, seguida de la clase Thermodesulfobacteria.

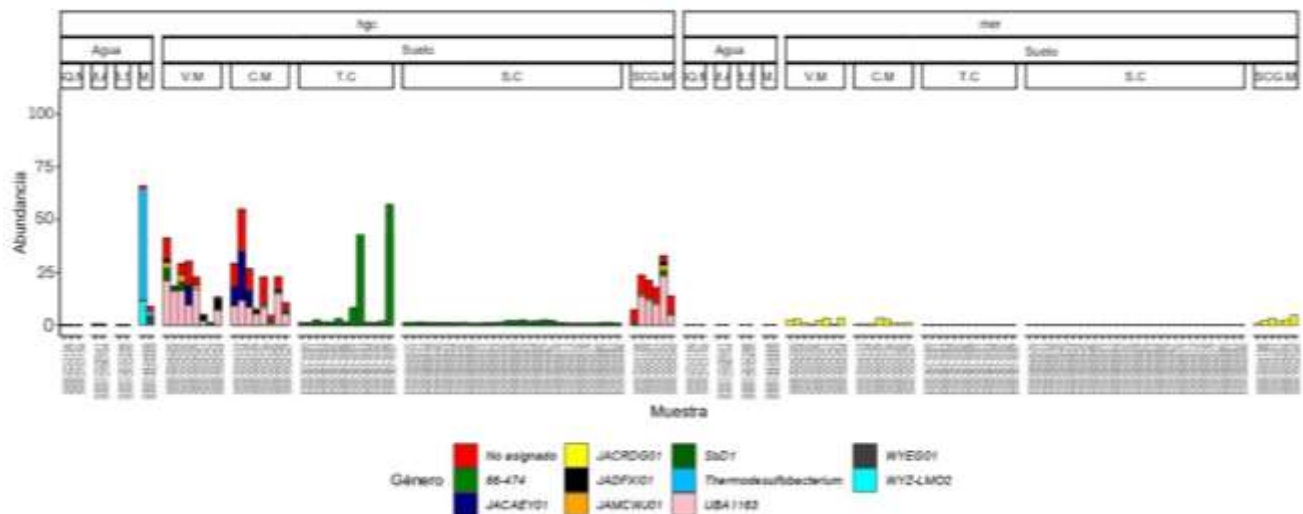


Figura 6. Distribución de la abundancia de MAGs tipo operón por género en cada muestra, contemplando localización y ambiente.

El género (JACRDG01) fue el único que presentó el operón *mer* en las muestras de suelo (Fig. 6), su presencia se registró en las localidades de Villavicencio, Cumaral y San Carlos de Guaroa.

Por otro lado, en los datos relacionados con el operón *hgc*, sobresalió la presencia exclusiva del género *Rhodanobacter* (66-474) en las localidades Solano, Caquetá y Tauramena, Casanare. En el caso de las localidades Villavicencio, Cumaral y San Carlos de Guaroa, todas pertenecientes al departamento del Meta, comparten los mismos géneros con la presencia del operón *hgc*, siendo el más abundante en las tres localidades un género no asignado, seguido de *Magnetocorallium* (JACAEY01), y continuando con *Syntrophorhabdus* (UBA1163). Finalmente, en el apartado de las muestras de agua con respecto a la presencia del operón *hgc*, sólo se tienen datos de la localidad San Martín, Meta, siendo el de la presencia más notable *Thermodesulfobacterium*, seguido de *Archaeoglobus* (WYZ-LMO2) y finalizando con la presencia de "no asignado."

Discusión.

Calidad y generalidades de los metagenomas seleccionados.

La reconstrucción de 421 MAGs a partir de 14,745,349 contigs provenientes de 74 metagenomas seleccionados, con un N50 de 1003 bases y un L50 de 3,802,269, evidencia una fragmentación considerable del ensamble, típico en estudios metagenómicos con una alta diversidad y complejidad genética (Albertsen et al., 2013); mientras que la proporción balanceada de guanina (G) y citosina (C) en el ensamble metagenómico, constituyen aproximadamente el 60.44% del total de pares bases, sugiere una distribución equitativa que apunta a una mayor estabilidad en la estructura del ADN, indicando integridad mejorada y menor presencia de errores en las secuencias (Sueoka, 1962). además, la ausencia de bases ambiguas ('N') en una cantidad de 100,000 bases indica la alta calidad del ensamble, ya que no hay regiones indefinidas o no resueltas en ese rango específico. De los MAGs reconstruidos, 175 presentan un mínimo de 40% completitud, es decir que contienen una porción significativa del genoma, y 10% de contaminación dato crucial para asegurar la integridad de los resultados finales (Parks et al., 2015).

Los 74 estudios metagenómicos seleccionados abarcan una variedad de ecosistemas y regiones geográficas, proporcionando una visión integral de los microbiomas en diferentes contextos ambientales. Las muestras de los llanos orientales en las localidades de Tauramena, Casanare, provenían de suelos de tipo inceptisol rizosférico asociados a cultivos de casava; los inceptisoles, caracterizados por estar en una etapa temprana de desarrollo y sujetos a procesos activos de formación, con rizosferas intensamente activas debido a los exudados de las raíces de las plantas, tienen la capacidad para retener agua durante la estación seca y facilitar un drenaje rápido durante la estación lluviosa (Soil Survey Staff, 1999). Villavicencio, Cumaral y San Carlos de Guaroa, Meta, contribuyeron con muestras de suelos de turba tropical, característicos de

humedales estacionales y de galería; este tipo de suelo se forma a partir de la acumulación de material orgánico parcialmente descompuesto en condiciones de saturación de agua (Rydin y Jeglum, 2013), proporcionando hábitats esenciales para una diversidad de especies adaptadas a entornos húmedos y cambiantes. Solano, Caquetá, contribuyó con muestras de suelo del bosque amazónico. Esta información es pertinente para entender el contexto ecológico de las muestras de la categoría “suelo”.

En contraste, las muestras de agua provenientes de otras regiones de Colombia como en Medellín, Antioquia; las muestras se tomaron de aguas subterráneas urbanas, reflejando los microbiomas de un entorno urbano en el Valle de Aburrá, rodeado de bosques andinos y subandinos (Arango y Duque, 2006). En Barrancabermeja, Santander, las muestras se obtuvieron de agua en depósitos de petróleo, representando ecosistemas fluviales y de bosque húmedo tropical. En Santander de Quilichao, Cauca, las muestras procedían de efluentes de fermentación de yuca artesanal, ubicándose en una zona de transición entre los Andes y el valle del río Cauca, con ecosistemas de bosque andino y bosques húmedos tropicales (Mejía y Correa, 2001). En San Martín, Meta, se tomaron muestras del agua alrededor de depósitos de petróleo, esta región se caracteriza por sus diversas subregiones, definidas por su fisiografía tales como llanura aluvial, altillanura y piedemonte (Pardo y Rangel-Ch, 2014).

Diversidad microbiana de los datos metagenómicos seleccionados realizados en Colombia

En todas las muestras de agua y suelo hubo presencia consistente de los filos Actinomycetota y Pseudomonadota, independientemente de la región geográfica de origen ambos han mostrado en investigaciones previas una gran capacidad para adaptarse a diversas condiciones ambientales (Garrity et al., 2021; Oren y Garrity, 2021)., siendo el filo Pseudomonadota el

dominante en las todas las localidades de muestras de suelo; Weber y King (2010) sugirieron que este filo participa activamente en el ciclo ambiental del CO, ya que un aumento en las secuencias del gen *coxL*, que codifica una subunidad de la enzima monóxido de carbono deshidrogenasa, se correlacionó con una mayor actividad de absorción de CO, también se ha descrito el papel de este en procesos de ciclado de nutrientes, fertilidad del suelo y la salud de las plantas (Wei et al., 2018 ; Mhete et al., 2020; Zhou et al., 2023), mientras que en las muestras de agua, fue dominante únicamente en la localidad de Medellín, Antioquia procedente de aguas subterráneas urbanas; Nilsson et al. (2018) encontraron que este filo era de los más abundantes en los contenedores de almacenamiento de agua domésticos en la India relacionándolo con presencia de vectores.

Además de estos, las muestras de agua incluyeron los siguientes filos: Campylobacterota, que juega un papel importante en el ciclo del nitrógeno y el azufre (Ruby, Wirsén, & Jannasch, 1981; Sun et al., 2016; Xie et al., 2021), siendo dominante y exclusivo de la localidad de Barrancabermeja, Santander; Bacillota destaca por su habilidad de habitar diferentes ambientes y de sobrevivir a las condiciones más adversas (Schleifer, 2009), las bacterias de este filo son capaces de producir enzimas que descomponen polímeros complejos como los lípidos, polisacáridos y ácidos nucleicos, lo que permite a los organismos utilizar estos compuestos para su supervivencia (Madigan et al., 2016). (Gibbons & Murray, 2021), Bacteroidota, asociados con el procesamiento de nutrientes (Bowman et al., 2023) y la degradación de materia orgánica compleja, incluyendo polisacáridos y proteínas (Muñoz et al., 2020); estos dos filos dominaron las muestras de Santander de Quilichao, limitándose su presencia a dicha localidad. Aquificocota, reconocido por su capacidad de producir agua al oxidar hidrógeno y por habitar entornos hostiles (Oren & Garrity, 2021), se identificó exclusivamente en muestras cercanas a depósitos petroleros en San Martín, Meta; estudios previos también han identificado este filo en una comunidad bacteriana del lodo activado

de una industria petrolera en Brasil (Antunes et al., 2021); y Myxococcota, bacterias quimiorganotrofas que producen y excretan enzimas hidrolíticas, además de ser formadoras de cuerpos fructíferos (Li et al., 2023), fueron detectadas exclusivamente en las muestras de aguas residuales urbanas de la localidad de Medellín, Antioquia.

Respecto a las muestras de suelo, se encontraron los filos: Acidobacteriota, los cuales han sido identificados en una variedad de hábitats y ha visto implicada en procesos de degradación de materia orgánica compleja (Oren y Garrity, 2021). Thermoplasmata, caracterizado por su adaptación a ambientes extremadamente ácidos, probablemente juega un papel en la transformación de materiales orgánicos en condiciones de pH bajo (Chuvpochina et al., 2023). Halobacteriota, conocido por prosperar en ambientes anóxicos u hostiles, contribuyendo a ciclos biogeoquímicos de dichos ambientes (Bräuer et al., 2020). Dormibacteriota, abundante en horizontes profundos de suelo con baja concentración de carbono orgánico, implicado en la mineralización de compuestos orgánicos complejos (Montgomery et al., 2021).

Continuando con la categoría taxonómica clase, Gammaproteobacteria y Alphaproteobacteria se encontraron en muestras tanto de agua como de suelo, con excepción de las provenientes de Barrancabermeja, Santander. Gammaproteobacteria ha sido investigada ampliamente debido a su papel en los ciclos biogeoquímicos del carbono y del azufre en diversos a (Lavik et al., 2009; Canfield et al., 2010; Reinthaler et al., 2010), en las muestras de agua esta fue dominante en Medellín, Antioquia y San Martín, Meta, mientras que, en la localidad de Barrancabermeja, Santander dominó la clase Campylobactería conocidas por ser fijadoras de nitrógeno y reductoras de sulfato (Drexler et al., 2020), en SQ fue Bacteroidia, son bacterias Gram-negativas mayoritariamente anaerobias, especializadas en la descomposición de materia orgánica,

incluidos biopolímeros, y se encuentran en diversos entornos lo cual se atribuye a su capacidad adaptativa (García-López et al., 2019).

En las muestras de suelo estuvieron presentes las clases Acidimicrobiia, Actinomycetia, estas agrupan bacterias gram positivas con un alto contenido (G+C) en su genoma, son bien conocidas por su capacidad para producir metabolitos secundarios bioactivos (Hazarika y Thakur, 2020) además de estar vinculadas a la descomposición de materia orgánica, contribuyendo al ciclo biogeoquímico del suelo (Salam et al., 2019), Terriglobia se encuentran en gran cantidad en suelos fríos, pobres en nutrientes y ácidos, como los de la tundra ártica y los bosques boreales (Belova, Ravin, et al., 2018; 2020; Kim et al., 2011). Y Nitrospira grupo de bacterias nitrificantes (Lücker et al., 2010) que poseen diversos y ubicuos en los ecosistemas naturales (Vijayan et al., 2021) teniendo en cuenta que la muestra de procedencia en nuestro estudio es el suelo de una turbera. En un estudio de Yang et al. 2020 descubrieron una reductasa de nitrato, que podría proporcionar una ventaja en condiciones anóxicas permitiéndoles sobrevivir al estrés oxidativo en ecosistemas con diferentes gradientes de oxígeno.

Por último, en cuanto al género, las muestras de agua incluyeron principalmente a: *Halarcobacter* predominó en abundancia en Barrancabermeja, Santander y teniendo en cuenta que la muestra de procedencia en nuestro estudio es una agua circundante de depósitos petroleros., Davila Aleman et al. (2024), en un estudio reciente sobre bacterias asociadas al petróleo en el agua de mar del Ártico, encontraron que su análisis de abundancia diferencial, destacó un enriquecimiento significativo de géneros inesperados, entre los cuales se identificó a *Halarcobacter*, el cual, no había sido previamente asociados con ambientes que contienen hidrocarburos, por lo cual sugieren un potencial para el metabolismo y biodegradación de estos. En San Martín, Meta, dominó el género *Tepidiphilus* que según estudios previos fueron datados en

el municipio de Castilla la Nueva, Meta en donde se detectaron enzimas involucradas en la reducción asimilatoria de sulfato y en la vía de desnitrificación (Bedoya et al., 2021), También se han registrado miembros de este género en baja proporción en depósitos de petróleo, y se ha caracterizado como una bacteria que reduce nitrato (NRB) de la familia Hydrogenophylaceae. (Zhang X. et al., 2020). y, por último, en la localidad de Medellín, Antioquia, predominó *Stutzerimonas* que, según resultados de un estudio realizado en un campo petrolífero en Lizama, Santander se evidenció que un individuo de este género es capaz de utilizar compuestos alifáticos de azufre (tioles alifáticos y mercaptanos) y otros compuestos que contienen azufre reducido como fuente de energía (Navas et al. 2023).

En las muestras de suelo se encontraron principalmente los géneros BOG-931 y PALSA-894, pertenecientes a la familia Xanthobacteraceae, en los suelos de turbera de Villavicencio, Cumaral y San Carlos de Guaroa, Meta, en el estudio de Nouwens (2013), se identifican características de crecimiento mixotrófico en un miembro de esta familia en ambientes de suelo y agua dulce, lo cual resulta ser importante para el ciclo del carbono. *Acidoferrum* dominó en las muestras de Solano, Caquetá este género ha sido descrito por su potencial microbiano para la reducción anaeróbica del hierro, un proceso que regula la reserva de fósforo unido a los minerales del suelo que contienen hierro (Epihov et al., 2021), mientras que, en la localidad de Tauramena, Casanare, predominó *Rhodanobacter* (66-474) Green et al. (2012) encontraron que las bacterias desnitrificantes de dicho género, dominan las comunidades bacterianas de algunos ambientes ácidos y ricos en nitratos, además, Prakash et al. (2011) han documentado la capacidad de desnitrificación en miembros de este género.

Diversidad taxonómica de los operones *mer* y *hgc*.

En el análisis de ortólogos seleccionados basados en las proteínas molde, se observa que los genes que codifican proteínas con amplio espectro de resistencia al mercurio, como *merB*, se detectaron con menor frecuencia (0.29%) en comparación con los genes que codifican para la resistencia de espectro estrecho al mercurio, que identificó con una frecuencia considerable del 23.08% como es el caso de *merA*, esto podría sugerir que indican que *merA* en las muestras seleccionadas en nuestro estudio podría estar más ampliamente distribuido y conservado evolutivamente en comparación con *merB*. En lo que respecta al operón *hgc*, *hgcA* se encontró en un 3.45%, mientras que *hgcB* tuvo una mayor presencia con 10.14%. La diferencia en la detección de ortólogos puede ser por razones biológicas y metodológicas, desde una perspectiva biológica, pueden someterse a presiones selectivas según sus roles específicos en la metilación o desmetilación de mercurio o factores metodológicos como la eficiencia de la secuenciación, recuperación y amplificación pueden influir en la detección diferencial de estos.

En lo que respecta a la presencia del operón *hgc*, la diversidad en muestras procedentes de suelo, específicamente de las localidades de Villavicencio, Cumaral y San Carlos de Guaroa, se presentó en MAGs pertenecientes a las clases *Thermodesulfobacteria* (filo *Nitrospirae*), *Dehalococcoidia* (filo *Chloroflexi*) y *Syntrophobacter* (filo *Pseudomonadota*). Informes anteriores de comunidades bacterianas de suelos con una larga historia de contaminación por mercurio describieron la presencia recurrente de *Pseudomonadota* y *Chloroflexi* (Ji et al., 2020; Liu et al., 2021; Li et al., 2022). Estos microorganismos se distinguen por ser reductoras de sulfato, lo cual les permite llevar a cabo la metilación de mercurio (Achá et al., 2011; Gilmour et al., 2011). El mecanismo de metilación microbiana del Hg facilitado por el sulfato se debe a que proporciona suficientes aceptores de electrones para los SRB, promoviendo así su actividad y aumentando la

producción de MeHg (Pierce et al., 2022; Wang et al., 2018). Estudios previos han demostrado que concentraciones moderadas de sulfato ($0.1 \text{ mg}\cdot\text{g}^{-1}$) promueven significativamente más la metilación que concentraciones bajas ($0 \text{ mg}\cdot\text{g}^{-1}$) y altas ($0.5 \text{ mg}\cdot\text{g}^{-1}$) (Lei et al., 2021; Shao et al., 2012). Además, se encontró la presencia del operón en un MAG perteneciente a la clase Deltaproteobacteria en estas localidades; esta clase incluye bacterias IRB que utilizan hierro férrico como aceptor de electrones (Fleming et al., 2006), estimulando significativamente las tasas de metilación y sugiriendo un papel de las IRB en la síntesis de CH_3Hg (Yu et al., 2012). Por otro lado, homólogos *hgcAB* han sido identificados en aguas oceánicas asociados a microorganismos como aquellos pertenecientes a Deltaproteobacteria y Chloroflexi (Villar et al., 2020), lo que corrobora la presencia extendida de estos genes en diferentes ambientes (Liu et al., 2014).

Es necesario resaltar que los factores ambientales impulsan la metilación del Hg al afectar la actividad biológica o los procesos metabólicos de los microorganismos; esto, en suelos de turberas de donde provienen los datos expuestos, proporciona un escenario favorable para la metilación del mercurio por parte de microorganismos SRB e IRB. Investigaciones anteriores han confirmado que los ambientes anóxicos favorecen el incremento y la acumulación de metilmercurio (MeHg) (Yang et al., 2019; Mehrotra y Sedlak, 2005; Warner et al., 2003). Además, han mostrado una mayor producción de MeHg en sedimentos anaeróbicos en comparación con sedimentos aeróbicos (Olson y Cooper, 1976). La materia orgánica disuelta (DOM) facilita la metilación microbiana del Hg, ya que proporciona carbono y nutrientes esenciales para los microorganismos (Jaffe et al., 2008); esta materia orgánica es particularmente abundante en humedales ricos en sulfatos (Geesink et al., 2019).

Por otro lado, un MAG pertenecientes a el género *Rhodanobacter* (66-474), perteneciente a la clase Gammaproteobacteria se encontró exclusivamente en las localidades de Solano, Caquetá,

donde la muestra proviene de un bosque tropical, y en la localidad de Tauramena, Casanare, donde las muestras provienen de suelos de cultivos de casava; la diferencia en la localización geográfica subraya la plasticidad de estos microorganismos. (Garrity et al., 2021) La detección del operón *hgc* en un MAG perteneciente a dicha clase, está en línea con los datos de la literatura que establecen ampliamente que las Pseudomonadota son microorganismos predominantes en numerosos estudios donde se investiga la metilación del Hg (Bravo et al., 2018a; Hamelin et al., 2011; Zhang et al., 2021).

Por último, en muestras procedentes de agua, la presencia del operón *hgc* se limitó a la localidad de San Martín, Meta, encontrándose en un MAG perteneciente a bacterias de la clase Thermodesulfobacteria, género Thermodesulfobacterium estos se caracterizan por ser reductores de sulfato, lo que les permitiría llevar a cabo la metilación de mercurio (Achá et al., 2011; Gilmour et al., 2011) Además, se encontró también un MAG en arqueas de la clase Archaeoglobi, género Archaeoglobu (filo Euryarchaeota); Zhang et al. (2021), en estudios sobre arrozales afectados por la minería, obtuvieron datos del filo Euryarchaeota y sugieren que los metiladores de mercurio arqueanos se vuelven más dominantes a medida que aumenta la concentración de mercurio total ([THg]).

Un estudio de Choi y Bartha (1994) reportó que el nivel de materia orgánica estaba correlacionado positivamente con la actividad de metilación del mercurio en los sedimentos estuarinos. Lo que denota que la abundancia y diversidad de los microorganismos que portan el operón *hgc* constituyen indicadores sensibles del potencial de metilación (Gilmour et al. 2013; Podar et al. 2015) teniendo en cuenta que algunos de estos microorganismos exhiben un metabolismo conocido como sintrofia microbiana se podría llevar a potenciar la actividad enzimática y la eficiencia metabólica de los microorganismos implicados, (Gilmour et al., 2013;

Yu et al., 2018; Hu et al., 2020). Lo que subraya la importancia en la cadena trófica microbiana asociada a la metilación de mercurio en los entornos de procedencia de las muestras.

En este estudio, la detección del operón *mer* se dio en MAG del género *Desulfomonile*, perteneciente a la clase Desulfomonilia y al filo Thermodesulfobacteriota en las muestras provenientes de las localidades de Villavicencio, Cumaral y San Carlos de Guaroa, todas en el departamento del Meta, teniendo en cuenta que este género se caracteriza por ser reductores de sulfato además de anaerobios estrictos, implica que puede crecer en ambientes anóxicos como los suelos de turberas, investigaciones anteriores, ya han evidenciado a *Desulfomonile* en la capa anóxica y reductora del lago meromórfico Cueva de la Mora, este tipo de lagos presentan capas que suelen incluir, una capa superior oxigenada (mixolimnion) y una capa inferior anóxica (monimolimnion) (Sánchez-España y Johnson, 2013), y más recientemente en el lago ácido Brunita, donde también se propone que desempeñe un papel importante en la atenuación natural de las condiciones extremas en el monimolimnion (Sánchez-España et al., 2020). Sobre la base de experimentos de inhibición, concluyeron que, en los sedimentos anóxicos, tanto los metanógenos como los reductores de sulfato participan en la desmetilación del metilmercurio en sedimentos (Oremland, Culbertson, & Winfrey, 1991). Lo anterior argumenta la posible presencia de un MAG de dicho género en las muestras en cuestión, aunque no se data a la fecha de información en la literatura o en estudios anteriores que vinculen a estos con la presencia del operón *mer* y en su defecto a procesos de desmetilación de mercurio.

Conclusiones.

El análisis metagenómico de muestras ambientales de diferentes localidades y tipos reveló una notable diversidad de microorganismos y su distribución en Colombia, lo que subraya la importancia de realizar estudios para avanzar en el conocimiento de la ecología microbiana.

La detección del operón *mer* en un MAG asociado al género *Desulfomonile* (*Thermodesulfobacteriota*) es un hallazgo innovador, ya que hasta la fecha no se ha vinculado dicho género con el operón en cuestión ni con el potencial de desmetilación de mercurio. Esto resalta la relevancia de seguir profundizando en la diversidad microbiana vinculada a estos procesos de transformación del mercurio.

La caracterización de diversidad taxonómica de los operones *hgc* y *mer* en diversos ecosistemas colombianos, mostro que existe variabilidad en la diversidad taxonómica, prevaleciendo el operón *hgc* en los datos analizados en comparación con el operón *mer*. Este hallazgo subraya el potencial de la actividad metabólica de microorganismos capaces de llevar a cabo la metilación del mercurio. Además los resultados indican que el suelo de turba tropical de la región de los llanos orientales de Colombia, específicamente en las localidades de Villavicencio, Cumaral y San Carlos de Guaroa, Meta, fueron identificados como entornos con alto potencial de actividad de metilación del mercurio, al albergar ambos operones (*mer* y *hgc*) lo cual sugiere que podrían influir en la movilización y bioacumulación de mercurio en el ambiente local, siendo relevante en el contexto colombiano, donde la producción y uso de mercurio presentan desafíos ambientales importantes.

Perspectivas.

Ahora que se han obtenido los genomas parciales de los microorganismos relacionados al metabolismo del mercurio, se abre la posibilidad de realizar análisis más específicos para profundizar en el entendimiento de los mecanismos de desmetilación y metilación del mercurio mediados por los operones *mer* y *hgc*. Estos análisis incluirían la genómica comparada, que permitirá identificar rutas metabólicas relacionadas., además, de permitir explorar la expresión génica y la actividad metabólica integralmente en los ecosistemas de origen, mejorando así nuestra comprensión de estos procesos en contextos naturales.

Apéndices.

Apéndice A. (Script)

```
#!/bin/bash

esearch -db sra -query "(Strategy:WGS[Properties] AND Colombia) AND (metagenome
OR shotgun)" | efetch -format runinfo > output.csv

cut -d, -f22 output.csv | tail -n +2 | sort | uniq > unique_bioproject_ids.txt

echo "BioProject_ID,Project_Title,Project_Description" > bioproject_details.csv

while read BIOPROJECT_ID; do

    if [ ! -z "$BIOPROJECT_ID" ]; then

        title=$(esummary -db bioproject -id $BIOPROJECT_ID | awk -v
RS='<Project_Title>|</Project_Title>' 'NR==2' | sed -e 's/^[[:space:]]*//' -e 's/[[:space:]]*$//' | tr '\n'
' ')

        description=$(esummary -db bioproject -id $BIOPROJECT_ID | awk -v
RS='<Project_Description>|</Project_Description>' 'NR==2' | sed -e 's/^[[:space:]]*//' -e
's/[[:space:]]*$//' | tr '\n' ' ')

        echo "$BIOPROJECT_ID,\"$title\",\"$description\"" >> bioproject_details.csv

    fi

done < unique_bioproject_ids.txt

awk -F, 'NR==FNR{a[$1]=$2,"$3;next}{print $0,"a[$22]}' bioproject_details.csv
output.csv > output_with_details.csv

echo "¡Proceso completado! Los detalles de BioProject se han guardado en
bioproject_details.csv y output_with_details.csv"
```

Apéndice B. Metadatos.

B ioproyecto	S RA Ids	at.	L ong.	ltitud	Localid ad	Tipo de muestra	T. media anual	umedad	lima
P RJEB35365	E RR3671680	.958889	- 72.5730555	19 msnm	Tauram ena Casanare	suelo inseptisol rizosférico	2 8 °C	5%	ropical
P RJEB35365	E RR3671681	.958889	- 72.5730555	19 msnm	Tauram ena Casanare	suelo inseptisol rizosférico	2 8 °C	5%	ropical
P RJEB35365	E RR3671683	.958889	- 72.5730555	19 msnm	Tauram ena Casanare	suelo inseptisol rizosférico	2 8 °C	5%	ropical
P RJEB35365	E RR3671684	.958889	- 72.5730555	19 msnm	Tauram ena Casanare	suelo inseptisol rizosférico	2 8 °C	5%	ropical
P RJEB35365	E RR3671685	.958889	- 72.5730555	19 msnm	Tauram ena Casanare	suelo inseptisol rizosférico	2 8 °C	5%	ropical
P RJEB35365	E RR3671686	.958889	- 72.5730555	19 msnm	Tauram ena Casanare	suelo inseptisol rizosférico	2 8 °C	5%	ropical
P RJEB35365	E RR3671688	.958889	- 72.5730555	19 msnm	Tauram ena Casanare	suelo inseptisol rizosférico	2 8 °C	5%	ropical
P RJEB35365	E RR3671691	.958889	- 72.5730555	19 msnm	Tauram ena Casanare	suelo inseptisol rizosférico	2 8 °C	5%	ropical
P RJEB35365	E RR3671693	.958889	- 72.5730555	19 msnm	Tauram ena Casanare	suelo inseptisol rizosférico	2 8 °C	5%	ropical
P RJEB35365	E RR3671694	.958889	- 72.5730555	19 msnm	Tauram ena Casanare	suelo inseptisol rizosférico	2 8 °C	5%	ropical
P RJEB35365	E RR3671695	.958889	- 72.5730555	19 msnm	Tauram ena Casanare	suelo inseptisol rizosférico	2 8 °C	5%	ropical
P RJEB35365	E RR3671696	.958889	- 72.5730555	19 msnm	Tauram ena Casanare	suelo inseptisol rizosférico	2 8 °C	5%	ropical
P RJEB35365	E RR3671697	.958889	- 72.5730555	19 msnm	Tauram ena Casanare	suelo inseptisol rizosférico	2 8 °C	5%	ropical
P	E		-		Solano	suelo de	2		

RJEB44163	RR5866825	.738517	75.181233	35 msnm	Caquetá	la selva amazónica	8°C	2%	ropical
P RJEB44163	E RR5866831	.738517	- 75.181233	35 msnm	Solano Caquetá	suelo de la selva amazónica	2 8 °C	2%	ropical
P RJEB44163	E RR5866833	.738517	- 75.181233	35 msnm	Solano Caquetá	suelo de la selva amazónica	2 8 °C	2%	ropical
P RJEB44163	E RR5866839	.738517	- 75.181233	35 msnm	Solano Caquetá	suelo de la selva amazónica	2 8 °C	2%	ropical
P RJEB44163	E RR5866840	.738517	- 75.181233	35 msnm	Solano Caquetá	suelo de la selva amazónica	2 8 °C	2%	ropical
P RJEB44163	E RR5866843	.738517	- 75.181233	35 msnm	Solano Caquetá	suelo de la selva amazónica	2 8 °C	2%	ropical
P RJEB44163	E RR5866844	.738517	- 75.181233	35 msnm	Solano Caquetá	suelo de la selva amazónica	2 8 °C	2%	ropical
P RJEB44163	E RR5866845	.738517	- 75.181233	35 msnm	Solano Caquetá	suelo de la selva amazónica	2 8 °C	2%	ropical
P RJEB44163	E RR5866846	.738517	- 75.181233	35 msnm	Solano Caquetá	suelo de la selva amazónica	2 8 °C	2%	ropical
P RJEB44163	E RR5866850	.738517	- 75.181233	35 msnm	Solano Caquetá	suelo de la selva amazónica	2 8 °C	2%	ropical
P RJEB44163	E RR5866851	.738517	- 75.181233	35 msnm	Solano Caquetá	suelo de la selva amazónica	2 8 °C	2%	ropical
P RJEB44163	E RR5866852	.738517	- 75.181233	35 msnm	Solano Caquetá	suelo de la selva amazónica	2 8 °C	2%	ropical
P RJEB44163	E RR5866853	.738517	- 75.181233	35 msnm	Solano Caquetá	suelo de la selva amazónica	2 8 °C	2%	ropical
P RJEB44163	E RR5866855	.738517	- 75.181233	35 msnm	Solano Caquetá	suelo de la selva amazónica	2 8 °C	2%	ropical
P RJEB44163	E RR5866859	.738517	- 75.181233	35 msnm	Solano Caquetá	suelo de la selva amazónica	2 8°C	2%	ropical
P RJEB44163	E RR5866862	.738517	- 75.181233	35 msnm	Solano Caquetá	suelo de la selva amazónica	2 8 °C	2%	ropical
P	E		-		Solano	suelo de	2		

RJEB44163	RR5866863	.738517	75.181233	35 msnm	Caquetá	la selva amazónica	8 °C	2%	ropical
P RJEB44163	E RR5866864	.738517	- 75.181233	35 msnm	Solano Caquetá	suelo de la selva amazónica	2 8 °C	2%	ropical
P RJEB44163	E RR5866865	.738517	- 75.181233	35 msnm	Solano Caquetá	suelo de la selva amazónica	2 8 °C	2%	ropical
P RJEB44163	E RR5866867	.738517	- 75.181233	35 msnm	Solano Caquetá	suelo de la selva amazónica	2 8 °C	2%	ropical
P RJEB44163	E RR5866870	.738517	- 75.181233	35 msnm	Solano Caquetá	suelo de la selva amazónica	2 8 °C	2%	ropical
P RJEB44163	E RR5866871	.738517	- 75.181233	35 msnm	Solano Caquetá	suelo de la selva amazónica	2 8 °C	2%	ropical
P RJEB44163	E RR5866873	.738517	- 75.181233	35 msnm	Solano Caquetá	suelo de la selva amazónica	2 8 °C	2%	ropical
P RJEB44163	E RR5866875	.738517	- 75.181233	35 msnm	Solano Caquetá	suelo de la selva amazónica	2 8 °C	2%	ropical
P RJEB44163	E RR5866876	.738517	- 75.181233	35 msnm	Solano Caquetá	suelo de la selva amazónica	2 8 °C	2%	ropical
P RJEB44163	E RR5866877	.738517	- 75.181233	35 msnm	Solano Caquetá	suelo de la selva amazónica	2 8 °C	2%	ropical
P RJEB44163	E RR5866880	.738517	- 75.181233	35 msnm	Solano Caquetá	suelo de la selva amazónica	2 8 °C	2%	ropical
P RJEB44163	E RR5866881	.738517	- 75.181233	35 msnm	Solano Caquetá	suelo de la selva amazónica	2 8 °C	2%	ropical
P RJEB44163	E RR5866882	.738517	- 75.181233	35 msnm	Solano Caquetá	suelo de la selva amazónica	2 8°C	2%	ropical
P RJEB44163	E RR5866886	.738517	- 75.181233	35 msnm	Solano Caquetá	suelo de la selva amazónica	2 8°C	2%	ropical
P RJNA296369	S RR2753156	.01585	- 76,483.00	044 msnm	Santand er de Quilichao,Cauca	Tanques de Fermentación de Almidónn de Yuca	2 6 °C	0%	ropical
P RJNA296369	S RR2753157	.01585	- 76,483.00	044 msnm	Santand er de	Tanques de Fermentación de	2 6°C	0%	ropical

					Quilichao, Cauca	Almidón de Yuca			
P RJNA296369	S RR2753158	.01585	- 76,483.00	044 msnm	Santander de Quilichao, Cauca	Tanques de Fermentación de Almidón de Yuca	2 6°C	0%	ropical
P RJNA648659	S RR12326541	.244195	- 75.5811945	473 msnm	Medellín Antioquia	aguas residuales urbanas	2 4.5 °C	3 %	ropical
P RJNA648659	S RR12396704	.244195	- 75.5811945	473 msnm	Medellín Antioquia	aguas residuales urbanas	2 4.5 °C	3 %	ropical
P RJNA659220	S RR12532398	.936333	- 73.7675	08 msnm	Barrancabermeja Santander	muestra de agua en depósitos de petróleo	2 6.2 °C	7%	ropical
P RJNA659220	S RR12532400	.936333	- 73.7675	08 msnm	Barrancabermeja Santander	muestra de agua en depósitos de petróleo	2 6.2 °C	7%	ropical
P RJNA727370	S RR14424468	.497833	- 73.405889	37 msnm	San Martín Meta	agua del depósito de petróleo	2 9 °C	0%	ropical
P RJNA727370	S RR14424469	.497833	- 73.405889	37 msnm	San Martín Meta	agua del depósito de petróleo	2 9 °C	0%	ropical
P RJNA443510	S RR7004198	.838111	- 73.3193889	51 msnm	San Carlos de Guaroa, Meta	suelo de turba tropical de turberas	2 5.8 °C.	9.8%	ropical
P RJNA443510	S RR7004199	.838111	- 73.3193889	51 msnm	San Carlos de Guaroa, Meta	suelo de turba tropical de turberas	2 5.8 °C.	9.8%	ropical
P RJNA443510	S RR7004201	.838111	- 73.3193889	51 msnm	San Carlos de Guaroa, Meta	suelo de turba tropical de turberas	2 5.8°C.	9.8%	ropical
P RJNA443510	S RR7004202	.838111	- 73.3193889	51 msnm	San Carlos de Guaroa, Meta	suelo de turba tropical de turberas	2 5.8 °C.	9.8%	ropical
P RJNA443510	S RR7004203	.838111	- 73.3193889	51 msnm	San Carlos de Guaroa, Meta	suelo de turba tropical de turberas	2 5.8 °C.	9.8%	ropical

P	S		-		San	suelo de	2		
RJNA443510	RR7004339	.838111	73.3193889	51 msnm	Carlos de Guaroa, Meta	turba tropical de turberas	5.8 °C.	9.8%	ropical
P	S		-		San	suelo de	2		
RJNA443510	RR7004340	.838111	73.3193889	51 msnm	Carlos de Guaroa, Meta	turba tropical de turberas	5.8 °C.	9.8%	ropical
P	S		-		Villavic	suelo de	2		
RJNA443515	RR7004204	.062694	73,195.00	11 msnm	encio, Meta	turba tropical de turberas	5.5 °C.	0%	ropical
P	S		-		Villavic	suelo de	2		
RJNA443515	RR7004205	.062694	73,195.00	11 msnm	encio, Meta	turba tropical de turberas	5.5 °C	0%	ropical
P	S		-		Villavic	suelo de	2		
RJNA443515	RR7004206	.062694	73,195.00	11 msnm	encio, Meta	turba tropical de turberas	5.5 °C	0%	ropical
P	S		-		Villavic	suelo de	2		
RJNA443515	RR7004200	.062694	73,195.00	11 msnm	encio, Meta	turba tropical de turberas	5.5 °C	0%	ropical
P	S		-		Villavic	suelo de	2		
RJNA443515	RR7004341	.062694	73,195.00	11 msnm	encio, Meta	turba tropical de turberas	5.5 °C	0%	ropical
P	S		-		Villavic	suelo de	2		
RJNA443515	RR7004342	.062694	73,195.00	11 msnm	encio, Meta	turba tropical de turberas	5.5 °C	0%	ropical
P	S		-		Villavic	suelo de	2		
RJNA443515	RR7004343	.062694	73,195.00	11 msnm	encio, Meta	turba tropical de turberas	5.5 °C	0%	ropical
P	S		-		Villavic	suelo de	2		
RJNA443515	RR7004344	.062694	73,195.00	11 msnm	encio, Meta	turba tropical de turberas	5.5 °C	0%	ropical
P	S		-		Cumara	suelo de	2		
RJNA443518	RR7004333	.239611	73.2023889	15 msnm	l, Meta	turba tropical de turberas	5.8°C.	4.3%	ropical
P	S		-		Cumara	suelo de	2		
						turba tropical de			

RJNA443518	RR7004334	.239611	73.2023889	15 msnm	l, Meta	turberas	5.8°C.	4.3%	ropical
P RJNA443518	S RR7004335	.239611	- 73.2023889	15 msnm	Cumara l, Meta	suelo de turba tropical de turberas	2 5.8°C.	4.3%	ropical
P RJNA443518	S RR7004337	.239611	- 73.2023889	15 msnm	Cumara l, Meta	suelo de turba tropical de turberas	2 5.8°C.	4.3%	ropical
P RJNA443518	S RR7004338	.239611	- 73.2023889	15 msnm	Cumara l, Meta	suelo de turba tropical de turberas	2 5.8°C.	4.3%	ropical
P RJNA443518	S RR7004345	.239611	- 73.2023889	15 msnm	Cumara l, Meta	suelo de turba tropical de turberas	2 5.8°C.	4.3%	ropical
P RJNA443518	S RR7004346	.239611	- 73.2023889	15 msnm	Cumara l, Meta	suelo de turba tropical de turberas	2 5.8°C.	4.3%	ropical
P RJNA443518	S RR7004347	.239611	- 73.2023889	15 msnm	Cumara l, Meta	suelo de turba tropical de turberas	2 5.8°C.	4.3%	ropical
P RJNA443518	S RR7006909	.2396111	- 73.2023889	15 msnm	Cumara l, Meta	suelo de turba tropical de turberas	2 5.8°C.	4.3%	ropical

Referencias.

Achá, D., Hintelmann, H., & Yee, J. (2011). Importance of sulfate reducing bacteria in mercury methylation and demethylation in periphyton from Bolivian Amazon region. *Chemosphere*, 82(6), 911-916.

Allison, S. D., y Martiny, J. B. (2008). Resistance, resilience, and redundancy in microbial communities. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 105(1), 11512–11519. <https://doi.org/10.1073/pnas.0801925105>

Albertsen, M., Hugenholtz, P., Skarshewski, A., Nielsen, K. L., Tyson, G. W., & Nielsen, P. H. (2013). Genome sequences of rare, uncultured bacteria obtained by differential coverage binning of multiple metagenomes. *Nature Biotechnology*, 31(6), 533-538.

Bae, H. S., Dierberg, F. E., y Ogram, A. (2014). Syntrophs dominate sequences associated with the mercury methylation-related gene *hgcA* in the water conservation areas of the Florida Everglades. *Applied and Environmental Microbiology*, 80(20), 6517–6526. doi: 10.1128/AEM.01666-14

Barkay, T., Miller, S. M., y Summers, A. O. (2003). Bacterial mercury resistance from atoms to ecosystems. *FEMS Microbiology Reviews*. 27, 355-384. doi: 10.1016/s0168-6445(03)00046-9

Barkay, T., y Wagner-Döbler, I. (2005). Microbial transformations of mercury: Potentials, challenges, and achievements in controlling mercury toxicity in the

environment. *Advances in Applied Microbiology*, 57, 1–52. [https://doi.org/10.1016/S0065-2164\(05\)57001-1](https://doi.org/10.1016/S0065-2164(05)57001-1)

Bravo AG, Peura S, Buck M, Ahmed O, Mateos-Rivera A, Ortega SH, Schaefer JK, Bouchet S, Tolu J, Bjorn E, Bertilsson S (2018a) Methanogens and iron-reducing bacteria: the overlooked members of mercury-methylating microbial communities in Boreal Lakes. *Appl Environ Microb* 84(23):e01774– e01718. <https://doi.org/10.1128/aem.01774-18>

Beckers, F., Mothes, S., Abrigata, J., Zhao, J., Gao, Y., y Rinklebe, J. (2019). Mobilization of mercury species under dynamic laboratory redox conditions in a contaminated floodplain soil as affected by biochar and sugar beet factory lime. *Science of The Total Environment*, 672, 604–617. doi: 10.1016/j.scitotenv.2019.03.401). *Environmental Science & Technology*, 35(1), 127–132. doi:10.1021/es001415n

Bedoya K, Niño J, Acero J, Jaimes-Prada R, Cabarcas F y Alzate JF (2021) El análisis metagenómico del agua de yacimientos de petróleo neotropicales tratada con biocidas revela la microdiversidad de la especie termófila *Tepidiphilus* . *Front. Microbiol.* 12:741555. doi: 10.3389/fmicb.2021.741555

Bowers, R. M., Kyrpides, N. C., Stepanauskas, R., Harmon-Smith, M., Doud, D., Reddy, T. B. K., et al. (2017). Minimum information about a single amplified genome (MISAG) and a metagenome-assembled genome (MIMAG) of Bacteria and Archaea. *Nat. Biotechnol.* 35, 725–731. doi: 10.1038/nbt.3893

Boyd, E. S., y Barkay, T. (2012). The mercury resistance operon: From an origin in a geothermal environment to an efficient detoxification machine. *Frontiers in Microbiology*, 3. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2012.00349>

Bridou, R., Monperrus, M., Gonzalez, P. R., Guyoneaud, R., y Amouroux, D. (2011). Simultaneous determination of mercury methylation and demethylation capacities of various sulfate-reducing bacteria using species-specific isotopic tracers. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 30, 337-344. doi: 10.1002/etc.395

Capo, E., Peterson, B. D., Kim, M., Jones, D. S., Acinas, S. G., Amyot, M., ... & Gionfriddo, C. M. (2023). A consensus protocol for the recovery of mercury methylation genes from metagenomes. *Molecular Ecology Resources*, 23(1), 190-204.

Chaumeil, P. A., Mussig, A. J., Hugenholtz, P., & Parks, D. H. (2022). GTDB-Tk v2: memory friendly classification with the genome taxonomy database. *Bioinformatics (Oxford, England)*, 38(23), 5315–5316. <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/btac672>

Choi S.-C. and Bartha R. Environmental factors affecting mercury methylation in estuarine sediments. *Bull. Environ. Contam. Toxicol.* 53 1994 805 -812

Compeau, G. C., Bartha, R. (1985). Sulfate-reducing bacteria: main mercury methylators in anoxic estuarine sediments. *Applied and Environmental*, 50, 498–502.

Davila Aleman, F. D., Bautista, M. A., McCalder, J., Jobin, K., Murphy, S. M., Else, B., & Hubert, C. R. (2024). Novel oil-associated bacteria in Arctic seawater exposed to different nutrient biostimulation regimes. *bioRxiv*. <https://doi.org/10.1101/2024.03.00.485743>

Dietrich, G. J., Dietrich, M., Kowalski, R. K., Dobosz, S., Karol, H. y Demianowicz, W. (2010). Exposure of rainbow trout milt to mercury and cadmium alters sperm motility parameters and reproductive success. *Aquatic Toxicology*, 97, 277–284. doi: 10.1016/j.aquatox.2009.12.010

Dorrepaal, E., Toet, S., van Logtestijn, R. S. P., Swart, E., van de Weg, M. J. y Callaghan, T.V. (2009). Carbon respiration from subsurface peat accelerated by climate warming in the subarctic. *Nature*, 460, 616–619. doi: 10.1038/nature08216

Eddy, S. R. (2020). HMMER user's guide: biological sequence analysis using profile hidden Markov models. Howard Hughes Medical Institute.

Emms, D. M., y Kelly, S. (2019). OrthoFinder: inferencia de ortología filogenética para genómica comparada. *Biología del genoma*, 20 , 1-14.

Enamorado, G., Montoya, J. T., & Negrete, J. M. (2022). Metales pesados (Hg, As, Cd, Zn, Pb, Cu, Mn) en un trayecto del río Cauca impactado por la minería de oro. *Revista EIA*, 19(37), 37005-pp.

Finn, R. D., Bateman, A., Clements, J., Coghill, P., Eberhardt, R. Y., Eddy, S. R., ... & Punta, M. (2014). Pfam: the protein families database. *Nucleic acids research*, 42(D1), D222-D230.

] García-López, M., Meier-Kolthoff, J.P., Tindall, B.J., Gronow, S., Woyke, T., Kyrpides, N.C., Hahnke, R.L., Göker, M. (2019) Analysis of 1,000 type-strain genomes improves taxonomic classification of Bacteroidetes. *Front. Microbiol.* 10, 2083, <http://dx.doi.org/10.3389/fmicb.2019.02083>.

Gaioli, M., Amoedo, D., & González, D. (2012). Impacto del mercurio sobre la salud humana y el ambiente. *Archivos argentinos de pediatría*, 110(3), 259-264.

Gilmour, C. C., Elias, D. A., Kucken, A. M., Brown, S. D., Palumbo, A. V. y Schadt, C. W. (2011). Sulfate-reducing bacterium *Desulfovibrio desulfuricans* ND132 as a model for understanding bacterial mercury methylation. *Applied and Environmental Microbiology*, 77, 3938-3951. doi: 10.1128/aem.02993-10

Gilmour, C. C., Podar, M., Bullock, A. L., Graham, A. M., Brown, S. D., Somenahally, A. C., Johs, A., Hurt, R. A., Bailey, K. L., Elias, D. A. (2013). Mercury methylation by novel microorganisms from new environments. *Environmental Science Technology*, 47, 11810-11820. doi: 10.1021/es403075t.

Gionfriddo C. M., Wymore A. M., Jones D. S., Wilpiseski R. L., Lynes M. M., Christensen G. A. (2020). An improved hgcAB primer set and direct high-throughput sequencing expand Hg-methylator diversity in nature. *Front. Microbiol.* 11. doi: 10.3389/fmicb.2020.541554

Gionfriddo, C. M., Stott, M. B., Power, J. F., Ogorek, J. M., Krabbenhoft, D. P., Wick, R., Holt, K., Chen, L. X., Thomas, B. C., Banfield, J. F., & Moreau, J. W. (2020). Genome-Resolved Metagenomics and Detailed Geochemical Speciation Analyses Yield New Insights into Microbial Mercury Cycling in Geothermal Springs. *Applied and Environmental Microbiology*, 86(15). <https://doi.org/10.1128/AEM.00176-20>

Haft, D. H., Loftus, B. J., Richardson, D. L., Yang, F., Eisen, J. A., Paulsen, I. T., & White, O. (2001). TIGRFAMs: a protein family resource for the functional identification of proteins. *Nucleic acids research*, 29(1), 41-43.

Hamelin S, Amyot M, Barkay T, Wang YP, Planas D (2011) Methanogens: principal methylators of mercury in Lake Periphyton. *Environ Sci Technol* 45(18):7693–7700. <https://doi.org/10.1021/es2010072>

Helbig, M., Waddington, J. M., Alekseychik, P., Amiro, B. D., Aurela, M. y Barr, A. G. (2020). Increasing contribution of peatlands to boreal evapotranspiration in a warming climate. *Nature Climate Change*, 10, 555–560. doi: 10.1038/s41558-020-0763-7

Huson, D. H., Richter, D. C., Mitra, S., Auch, A. F., & Schuster, S. C. (2009). Methods for comparative metagenomics. *BMC bioinformatics*, 10, 1-10.

Hyatt, D., Chen, G. L., LoCascio, P. F., Land, M. L., Larimer, F. W., & Hauser, L. J. (2010). Prodigal: prokaryotic gene recognition and translation initiation site identification. *BMC bioinformatics*, 11, 1-11.

Idrovo, Á., Manotas, L., Villamil, G., Ortíz, J., Silva, E., Romero, S., & Azcárate, C. (2001). Niveles de mercurio y percepción del riesgo en una población minera aurífera del Guainía (Orinoquía Colombiana). *Biomedica*. Recuperado de: http://www.scielo.org.pe/scielo.php?pid=S172859172010000400016&script=sci_arttext&lng=e

Jaffe, R., McKnight, D., Maie, N., Cory, R. y McDowell, W. H. (2008). Spatial and temporal variations in DOM composition in ecosystems: The importance of long-term

monitoring of optical properties. *Journal of Geophysical Research*, 113, 1-15. doi: 10.1029/2008JG000683

Ji, X., Liu, C., Zhang, M., Yin, Y., y Pan, G. (2020). Mitigation of methylmercury production in eutrophic waters by interfacial oxygen nanobubbles. *Water Research*, 173. doi: 10.1016/j.watres.2020.115563

Johnson, N. W., Mitchell, C. P. J., Engstrom, D. R., Bailey, L. T., Coleman Wasik, J. K., y Berndt, M. E. (2016). Methylmercury production in a chronically sulfate-impacted sub-boreal wetland. *Environmental Science: Processes & Impacts*, 18(6), 725–734. doi: 10.1039/c6em00138f

Jonsson, S., Skjellberg, U., Nilsson, M. B., Westlund, P.-O., Shchukarev, A. y Lundberg, E. (2012). Mercury methylation rates for geochemically relevant HgII species in sediments. *Environmental Science & Technology*, 46, 11653–11659. doi: 10.1021/es3015327

Kanehisa, M., Furumichi, M., Sato, Y., Kawashima, M., & Ishiguro-Watanabe, M. (2023). KEGG for taxonomy-based analysis of pathways and genomes. *Nucleic acids research*, 51(D1), D587-D592.

Kim, M., Han, S., Gieskes, J., y Deheyn, D. D. (2011). Importance of organic matter reliability for monomethylmercury production in sulfate-rich marine sediments. *Science of The Total Environment*, 409(4), 778–784. doi: 10.1016/j.scitotenv.2010.10.050

Kodama, Y., Shumway, M., Leinonen, R., & International Nucleotide Sequence Database Collaboration (2012). The Sequence Read Archive: explosive growth of

sequencing data. *Nucleic acids research*, 40(Database issue), D54–D56.
<https://doi.org/10.1093/nar/gkr854>

Krabbenhoft, D. P., y Sunderland, E. M. (2013). Global change and mercury. *Science*, 341(6153), 1457–1458. doi: 10.1126/science.1242838

Krueger, F. (2015). Trim Galore: A wrapper around Cutadapt and FastQC to consistently apply adapter and quality trimming to FastQ files, with extra functionality for RRBS data. Babraham Institute.

Kumari, S., Amit, Jamwal, R., Mishra, N., y Singh, D. K. (2020). Recent Developments in Environmental Mercury Bioremediation and its Toxicity: A Review. *Environmental Nanotechnology, Monitoring & Management*, 13.
<https://doi.org/10.1016/j.enmm.2020.100283>

Leinonen, R., Sugawara, H., Shumway, M., & International Nucleotide Sequence Database Collaboration. (2011). The sequence read archive. *Nucleic acids research*, 39(suppl_1), D19-D21. <https://doi.org/10.1093/nar/gkq1019>

Li, Y., y Cai, Y. (2023). Progress in the study of mercury methylation and demethylation in aquatic environments. *Chinese Science Bulletin*, 58, 177–185. doi: 10.1007/s11434- 012-5416-4

Li, D., Liu, C. M., Luo, R., Sadakane, K., & Lam, T. W. (2015). MEGAHIT: An ultra-fast sin-gle-node solution for large and complex metagenomics assembly via succinct de Bruijn graph. *Bioinformatics*, 31(10), 1674-1676.
<https://doi.org/10.1093/bioinformatics/btv033>

Lin, H., Ascher, D. B., Myung, Y., Lamborg, C. H., Hallam, S. J. y Gionfriddo, C. M. (2021). Mercury methylation by metabolically versatile and cosmopolitan marine bacteria. *The ISME Journal*, 15(6), 1810–1825. doi: 10.1038/s41396-020-00889-4

Liu, M., Zhang, Q., Maavara, T., Liu, S., Wang, X., y Raymond, P. A. (2021). Rivers as the largest source of mercury to coastal oceans worldwide. *Nature Geoscience*, 14(9), 672–677. doi: 10.1038/s41561-021-00793-2

Liu, Y. R., Yu, R. Q., Zheng, Y. M., He, J. Z. (2014). Analysis of the microbial community structure by monitoring an Hg methylation gene (*hgcA*) in paddy soils along an Hg gradient. *Applied and Environmental Microbiology*, 80. 2874-2879. doi: 10.1128/AEM.04225-13.

Lu, X., Gu, W., Zhao, L., Farhan Ul Haque, M., DiSpirito, A. A. y Semrau, J. D. (2017). Methylmercury uptake and degradation by methanotrophs. *Science Advances*, 3(5), e1700041. doi: 10.1126/sciadv.1700041

Lücker, S., Nowka, B., Rattei, T., Spieck, E., Daims, H., & Wagner, M. (2010). A *Nitrospira* metagenome illuminates the physiology and evolution of globally important nitrite-oxidizing bacteria. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 107(30), 13479–13484. <https://doi.org/10.1073/pnas.1003860107>

Mason, R. P., y Fitzgerald, W. F. (1993). The distribution and biogeochemical cycling of mercury in the equatorial Pacific Ocean. *Deep Sea Research Part I: Oceanographic Research Papers*, 40(9), 1897–1924. doi: 10.1016/0967-0637(93)90037-4

Martínez, J. A., & Uribe, A. (2015). El Mercurio y la contaminación por actividad extractiva. *Revista Ontare*, 3(1), 55-76.

McDaniel, E. A., Peterson, B. D., Stevens, S. L. R., Tran, P. Q., Anantharaman, K., and McMahon, K. D. (2020). Expanded phylogenetic diversity and metabolic flexibility of mercury-methylating microorganisms. *mSystems* 5: e299-20. doi: 10.1128/mSystems.00299-20

McMurdie, P. J., & Holmes, S. (2013). phyloseq: an R package for reproducible interactive analysis and graphics of microbiome census data. *PloS one*, 8(4), e61217.

Minamata Disease Research Group. (1966). *Minamata Disease: Studies About Methyl- Mercury Poisoning* (in Japanese) (Kumamoto, Japan: Kumamoto University School of Medicine).

Molina, C. F., Arango, C. M., & Sepúlveda, H. (2018). Contaminación por mercurio de leche materna de madres lactantes de municipios de Antioquia con explotación minera de oro. *Biomédica*, 38, 19-29.

Navarro, W. M., Ccarita, W. R. I., Paredes, D. W. D. la C., Sacachipana, N. Z., Sucaticona, R. S., Coaquira, D. M. (2019). Adsorción de metales pesados de aguas residuales de la mina Lunar de Oro con carbón activado de lenteja de agua (*Lemna gibba* L.). *ÑAWPARISUM – Revista de Investigación Científica*, 1(2), 13-20. <https://unaj.edu.pe/revista/index.php/vpin/article/view/27/12>

Navas-Cáceres, OD, Parada, M. y Zafra, G. Desarrollo de un consorcio bacteriano altamente tolerante a la biodegradación de asfaltenos en suelos. *Environ Sci Pollut Res* 30, 123439–123451 (2023). <https://doi.org/10.1007/s11356-023-30682-7>

Olivero, J., Johnson, B., Mendoza, C., Paz, R., y Olivero, R. (2004). Mercury in the aquatic environment of The Village of Caimito at The Mojana Region, North of Colombia. *Water, Air, & Soil Pollution*, 159, 409-420. <https://doi.org/10.1023/B:WATE.0000049162.54404.76>

Olivero, J., y Solano, B. (1998). Mercury in environmental samples from a waterbody contaminated by gold mining in Colombia, South America. *Science of The Total Environment*, 217, 83-89. Doi:10.1016/s0048-9697(98)00175-2

Osborn, A. M., Bruce, K. D., Strike, P., & Ritchie, D. A. (1997). Distribution, diversity, and evolution of the bacterial mercury resistance (mer) operon. *FEMS microbiology reviews*, 19(4), 239-262.

Parks, J. M., Johs, A., Podar, M., Bridou, R., Hurt, R. A. y Smith, S. D. (2013). The genetic basis for bacterial mercury methylation. *Science*, 339(6125), 1332–1335. doi: 10.1126/science.1230667

Parks, D. H., Chuvochina, M., Rinke, C., Mussig, A. J., Chaumeil, P. A., & Hugenholtz, P. (2022). GTDB: an ongoing census of bacterial and archaeal diversity through a phylogenetically consistent, rank normalized and complete genome-based taxonomy. *Nucleic acids research*, 50(D1), D785-D794. <https://doi.org/10.1093/nar/gkab776>

Parks, D. H., Imelfort, M., Skennerton, C. T., Hugenholtz, P., & Tyson, G. W. (2015). CheckM: assessing the quality of microbial genomes recovered from isolates, single cells, and metagenomes. *Genome Research*, 25(7), 1043-1055.

Patro, R., Duggal, G. y Kingsford, C. (2015). Salmón: cuantificación precisa, versátil y ultrarrápida a partir de datos de secuenciación de ARN mediante alineación ligera. *BioRxiv* , 10, 021592.

Pardo, A., & Rangel-Ch, J. O. (2014). Mamíferos de la Orinoquia. In J. O. Rangel-Ch (Ed.), *Colombia Diversidad Biótica XIV* (pp. 751-784). Bogotá, Colombia: Instituto de Ciencias Naturales, Facultad de Ciencias, Universidad Nacional de Colombia.

Perez, C., Qi, W., Vikram, S., Frossard, A., Makhalanyane, T., y Cowan, D. (2021). Shotgun metagenomics reveals distinct functional diversity and metabolic capabilities between 12,000-year-old permafrost and active layers on Muot da Barba Peider (Swiss Alps). *Microbial Genomics*, 7(2). <https://doi.org/10.1099/mgen.0.000558>

Podar, M.; Gilmour, C. C.; Brandt, C. C.; Soren, A.; Brown, S. D.; Crable, B. R.; Palumbo, A. V.; Somenahally, A. C. y Elias, D. A. (2015). Global prevalence and distribution of genes and microorganisms involved in mercury methylation. *Science Advances*, 1(9). doi: 10.1126/sciadv.1500675.

Podosokorskaya, O. A., Kochetkova, T. V., Novikov, A. A., Toshchakov, S. V., Elcheninov, A. G., & Kublanov, I. V. (2020). *Tenuifilum thalassicum* gen. nov., sp. nov., a novel moderate thermophilic anaerobic bacterium from a Kunashir Island shallow hot

spring representing a new family Tenuifilaceae fam. nov. in the class Bacteroidia. Systematic and Applied Microbiology, 126126. doi:10.1016/j.syapm.2020.126126

Procuraduría General de la Nación. (2023). Colombia el mayor emisor de mercurio per cápita en el mundo. Boletín 95. <https://www.procuraduria.gov.co/Pages/colombia-mayor-emisor-de-mercurio-por-persona-en-el-mundo.aspx>

Ramírez, A. V. (2008, March). Intoxicación ocupacional por mercurio. In *Anales de la Facultad de Medicina* (Vol. 69, No. 1, pp. 46-51). UNMSM. Facultad de Medicina.

R Core Team. (2019). R: A Language and Environment for Statistical Computing. R Foundation for Statistical Computing.

Rincón-Tomás, B., Lanzén, A., Sánchez, P., Estupiñán, M., Sanz-Sáez, I., Bilbao, M. E., ... & Alonso-Sáez, L. (2024). Revisiting the mercury cycle in marine sediments: A potential multifaceted role for Desulfobacterota. *Journal of Hazardous Materials*, 465, 133120.

Sánchez, D., & Cañón, J. (2010). Análisis documental del efecto de vertimiento domésticos y mineros en la calidad del agua del río Condoto (Chocó, Colombia). Redalyc. Recuperado de: <http://www.redalyc.org/html/1694/169419996009>

Schaefer, J. K., Kronberg, R. M., Morel, F. M. M., y Skyllberg, U. (2014). Detection of a key Hg methylation gene, *hgcA*, in wetland soils. *Environmental Microbiology Reports*, 6(5), 441–447. <https://doi.org/10.1111/1758-2229.12136>

Seemann, T. (2014). Prokka: rapid prokaryotic genome annotation. *Bioinformatics*, 30(14), 2068-2069.

Sostenible, S., & Latinoamérica, M. (2016). Veneno en la Sangre. Recuperado de: <http://sostenibilidad.semmana.com/medio-ambiente/multimedia/mercurio-en-colombia-veneno-en-la-sangre/37266>.

Sueoka, N. (1962). On the genetic basis of variation and heterogeneity of DNA base composition. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 48(5), 582-592.

Tarazona, D. (28 de noviembre de 2023). Minería ilegal aumentó un 8 % durante el año 2022 en Colombia. MONGABAY. <https://es.mongabay.com/2023/11/mineria-ilegal-aumento-en-colombia-informe/>

Uritskiy, G. V., DiRuggiero, J., & Taylor, J. (2018). MetaWRAP-a flexible pipeline for genome-resolved metagenomic data analysis. *Microbiome*, 6(1), 158. <https://doi.org/10.1186/s40168-018-0541-1>

Villar, E., Cabrol, L., y Heimbürger-Boavida, L. E. (2020). Widespread microbial mercury methylation genes in the global ocean. *Environmental Microbiology Reports*, 12(3), 277–287. doi: 10.1111/1758-2229.12829

Wickham, H., Averick, M., Bryan, J., Chang, W., McGowan, L. D. A., François, R., ... & Yutani, H. (2019). Welcome to the Tidyverse. *Journal of open-source software*, 4(43), 1686.

Yang Y, Pan J, Zhou Z, Wu J, Liu Y, Lin JG, et al. Complex microbial nitrogen-cycling networks in three distinct anammox-inoculated wastewater treatment systems. *Water Res.* 2020; 168:115142.

Yu, R. Q.; Reinfelder, J. R., Hines, M. E. y Barkay, T. (2013). Mercury methylation by methanogen *Methanospirillum hungatei*. *Applied and Environmental*, 79, 6325-6330.

Zhang, S.-P., Wang, Q., Quan, S.-W., Yu, X.-Q., Wang, Y., Guo, D.-D., et al. (2020). Sistema toxina-antitoxina tipo II en bacterias: activación, función y modo de acción. *Biophys. Rep.* 6, 68–79. doi: 10.1007/s00284-020-01983-8

Zhang L, Liu X, Sampath S, Sidelinger W, Wang Y, Krabbenhoft D, Barkay T, Schaefer J, Hines M (2015) Mercury methylation by syntrophs and methanogens in peatlands. In: Abstracts of Papers of the American Chemical Society, vol 250

Zhang, L., Liang, X., Wang, Q., Zhang, Y., Yin, X. y Lu, X. (2021). Isotope exchange between mercuric [Hg (II)] chloride and Hg (II) bound to minerals and thiolate ligands: Implications for enriched isotope tracer studies. *Geochimica et Cosmochimica Acta*, 292, 468–481. doi: 10.1016/j.gca.2020.10.013

Zhang, Y., Song, Z., Huang, S., Zhang, P., Peng, Y. y Wu, P. (2021). Global health effects of future atmospheric mercury emissions. *Nature Communications*, 12, 1–10.