



ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DE CHIMBORAZO

FACULTAD DE CIENCIAS

CARRERA DE INGENIERÍA EN BIOTECNOLOGÍA AMBIENTAL

“DETERMINANTES GENÉTICOS Y SUS MECANISMOS DE ACCIÓN IMPLICADOS EN LA RESISTENCIA BACTERIANA A METALES PESADOS”

Trabajo de titulación

Tipo: Proyecto de Investigación

Presentado para optar al grado académico de:

INGENIERA EN BIOTECNOLOGÍA AMBIENTAL

AUTORA: JOANA FERNANDA IZA GUAMAN

DIRECTOR: Dr. CELSO GUILLERMO RECALDE MORENO

Riobamba – Ecuador

2021

© 2021, Joana Fernanda Iza Guamán

Se autoriza la reproducción total o parcial, con fines académicos, por cualquier medio o procedimiento, incluyendo cita bibliográfica del documento, siempre y cuando se reconozca el Derecho del Autor.

Yo, Joana Fernanda Iza Guamán, declaro que el presente trabajo de titulación es de mi autoría y los resultados del mismo son auténticos. Los textos en el documento que provienen de otras fuentes están debidamente citados y referenciados.

Como autor/autora asumo la responsabilidad legal y académica de los contenidos de este trabajo de titulación; el patrimonio intelectual pertenece a la Escuela Superior Politécnica de Chimborazo.

Riobamba, 15 de abril de 2021

A handwritten signature in black ink, appearing to read "Joana Iza". The signature is enclosed within a faint, light-colored rectangular border.

Joana Fernanda Iza Guamán

060551797-8

ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DE CHIMBORAZO

FACULTAD DE CIENCIAS

CARRERA DE INGENIERÍA EN BIOTECNOLOGÍA AMBIENTAL

El Tribunal del Trabajo de Titulación certifica que: El trabajo de titulación; tipo: Proyecto de investigación, “**DETERMINANTES GENÉTICOS Y SUS MECANISMOS DE ACCIÓN IMPLICADOS EN LA RESISTENCIA BACTERIANA A METALES PESADOS**”, realizado por la señorita: **JOANA FERNANDA IZA GUAMÁN**, ha sido minuciosamente revisado por los Miembros del Trabajo de Titulación, el mismo que cumple con los requisitos científicos, técnicos, legales, en tal virtud el Tribunal Autoriza su presentación.

	FIRMA	FECHA
Ing. Cristina Gabriela Calderón Tapia PRESIDENTE DEL TRIBUNAL	 <small>Firmado electrónicamente por:</small> CRISTINA GABRIELA CALDERON TAPIA	2021-04-15
Dr. Celso Guillermo Recalde Moreno DIRECTOR DE TRABAJO DE TITULACIÓN	_____	2021-04-15
Ing. Ana Rafaela Pacurucu Reyes MIEMBRO DEL TRIBUNAL	_____	2021-04-15

DEDICATORIA

A Dios por bendecirme en cada día de mi vida y por permitirme llegar a este momento tan especial en mi vida. A mi madre Cecilia por su amor y apoyo incondicional en cada momento, gracias por ser la mejor guía y por inculcar en mí el ejemplo del esfuerzo y el sacrificio. A mis hermanos Cristian y David por compartir conmigo buenos momentos. A mis abuelitos Manuel y Leonor por ser un pilar fundamental en mi vida. A mi familia en general por confiar y creer en mis capacidades y sobre todo por el gran apoyo que me han brindado durante todo el tiempo de mi vida estudiantil.

Para todos ustedes con amor y cariño

Joana

AGRADECIMIENTO

A Dios por su amor y bondad. Gracias a mi madre por ser un gran ejemplo de constancia y superación. A toda mi familia por haberme apoyado y guiado a lo largo de toda mi carrera universitaria, por brindarme su confianza y su motivación. A mi Director del Trabajo de Titulación el Dr. Celso Recalde, por ser una excelente persona y brindarme su apoyo incondicional para la elaboración del presente trabajo, también un sincero agradecimiento a la Ing. Rafaela Pacurucú, por brindarme su ayuda para la mejora de mi investigación.

Un agradecimiento especial para Ivonne Carrera y Patricia Moreno, por la gran ayuda brindada durante el trayecto de mi carrera, por los consejos y las sabias palabras inculcadas en mí. A mis amigos por apoyarme cuando más lo he necesitado por extenderme su mano en los momentos difíciles y de manera desinteresada. Gracias a todos y quienes de una u otra manera me han brindado su apoyo y motivación para desarrollar mi trabajo de titulación y lograr cumplir con este objetivo tan anhelado.

Joana

TABLA DE CONTENIDO

ÍNDICE DE TABLAS.....	x
ÍNDICE DE ANEXOS	xi
RESUMEN	xii
SUMMARY	xiii
INTRODUCCIÓN	1

CAPÍTULO I

1. MARCO TEORICO REFERENCIAL.....	4
1.1. Antecedentes de la investigación	4
1.2. Marco conceptual.....	5
<i>1.2.1. Metales pesados.....</i>	<i>5</i>
<i>1.2.1.1. Características y toxicidad de los principales metales pesados.....</i>	<i>5</i>
1.2.2. Las bacterias y su clasificación	7
1.2.3. Resistencia bacteriana a metales pesados.....	7
<i>1.2.3.1. Mecanismos de resistencia bacteriana a metales pesados</i>	<i>8</i>
<i>1.2.3.2. Mecanismos de resistencia bacteriana a nivel genético</i>	<i>13</i>
1.2.4. Determinantes genéticos de Resistencia a metales pesados y su localización	13
<i>1.2.4.1. Principales determinantes genéticos de resistencia a metales pesados</i>	<i>15</i>
1.2.5. Expresión de los genes bacterianos	19
1.2.6. Regulación de la expresión génica en procariotas	20
<i>1.2.6.1. Regulación de la transcripción: modelo del Operón.....</i>	<i>20</i>
<i>1.2.6.2. Sistema regulador de dos componentes: Sensor y regulador de respuesta</i>	<i>23</i>
1.2.7. Importancia de los determinantes genéticos de resistencia bacteriana	23

CAPÍTULO II

2.	MARCO METODOLÓGICO.....	24
2.1.	Diseño No experimental.....	24
2.1.1.	<i>Tipo y Diseño de la Investigación</i>	24
2.1.2.	<i>Unidad de Análisis</i>	24
2.1.3.	<i>Población de Estudio</i>	25
2.1.4.	<i>Tamaño de Muestra</i>	25
2.1.5.	<i>Selección de muestra</i>.....	25
2.1.5.1.	<i>Criterios de selección</i>	26
2.1.6.	<i>Técnicas de Recolección de datos</i>	26

CAPÍTULO III

3.	RESULTADOS Y DISCUSIÓN DE RESULTADOS.....	27
3.1.	Determinantes genéticos de resistencia a metales pesados.....	27
3.2.	Mecanismo de acción codificado por determinantes genéticos.....	35
3.2.1.	<i>Mecanismo de acción codificado por el determinante genético ars</i>	35
3.2.1.1.	<i>Regulación transcripcional: arsR</i>	35
3.2.1.2.	<i>Sistema de transportadores: arsB, acr3, aqps, arsP, arsK y arsJ</i>	36
3.2.1.3.	<i>Sistema de reducción de arsenato</i>	38
3.2.1.4.	<i>Metilación de arsénico por arsM</i>	39
3.2.1.6.	<i>Oxidación de organoarsenicales trivalentes: arsH</i>.....	39
3.2.1.7.	<i>Desmetilación de organoarsenicales trivalentes:</i>	40
3.2.2.	<i>Mecanismo de acción codificado por el determinante genético aio</i>	40
3.2.2.1.	<i>Regulación de la transcripción</i>	40
3.2.2.2.	<i>Oxidación por el arsenito oxidasa</i>	41
3.2.3.	<i>Mecanismo de acción codificado por el determinante genético mer</i>.....	41
3.2.3.1.	<i>Regulación transcripcional: merR</i>	41
3.2.3.2.	<i>Secuestro del mercurio y sistema de transportadores</i>	42

3.2.3.3.	<i>Reducción de Hg²⁺ a Hg⁰⁺ por merA</i>	43
3.2.3.4.	<i>Desmetilación de metilmercurio por merB</i>	44
3.2.4.	<i>Mecanismo de acción codificado por el determinante genético chr</i>	44
3.2.4.1.	<i>Regulación transcripcional: chrB</i>	45
3.2.4.2.	<i>Sistema de expulsión: chrA</i>	45
3.2.5.	<i>Mecanismo de acción codificado por el determinante genético cad</i>	46
3.2.5.1.	<i>Regulación transcripcional: cadC</i>	46
3.2.5.2.	<i>Sistema de expulsión</i>	47
3.3.	Potencial biotecnológico de los determinantes genéticos	48
CONCLUSIONES		53
RECOMENDACIONES		54
GLOSARIO		
BIBLIOGRAFÍA		
ANEXOS		

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1-1: Determinantes genéticos de resistencia a metales en bacterias.	15
Tabla 1-3: Determinantes genéticos de resistencia a metales en bacterias	27
Tabla 2-3: Biosensores basados en diferentes genes de resistencia a metales pesados	48
Tabla 3-3: Plantas y bacterias transgénicas que expresan genes de resistencia a metales.....	50

ÍNDICE DE ANEXOS

ANEXO A: DETERMINANTES GENÉTICOS DE RESISTENCIA AL ARSENICO: *ars*

ANEXO B: DETERMINANTES GENÉTICOS DE RESISTENCIA AL ARSÉNICO: *aio*

ANEXO C: DETERMINANTES GENÉTICOS DE RESISTENCIA AL MERCURIO: *mer*

ANEXO D: DETERMINANTES GENÉTICOS DE RESISTENCIA AL CROMO Y CADMIO:
chr y *cad*

RESUMEN

El objetivo del presente trabajo de titulación fue identificar y describir los principales determinantes genéticos implicados en la resistencia bacteriana a metales pesados, así como sus usos potenciales a nivel biotecnológico y ambiental. Se llevó a cabo una revisión bibliográfica a través de información publicada en los últimos 10 años en artículos científicos de los mejores cuartiles encontrados en revistas que presenten indexación SJR disponibles en las diferentes bases de datos reconocidas a nivel nacional e internacional, tales como Scielo, Scopus, Elsevier, Redalcy, Science Direct, Latindex entre otras; determinando la situación actual del conocimiento sobre el tema y realizando comparaciones cualitativas entre los diferentes resultados de las investigaciones seleccionadas. Las bacterias se encuentran en constante evolución y se vuelven más resistentes a los metales pesados gracias a la adquisición de genes que les permite hacer frente a los efectos tóxicos de estos elementos. Por ello, se identificó los determinantes genéticos de resistencia bacteriana para los metales pesados más tóxicos, como el arsénico, mercurio, cromo y cadmio siendo respectivamente: *ars*, *aio*, *mer*, *chr*, *cad* y *czc*, estos sistemas pueden localizarse en el cromosoma, plásmidos, transposones e islas genómicas de las bacterias. Se definió el mecanismo de acción que codifica cada determinante genético, siendo principalmente la regulación, desintoxicación enzimática que incluye la reducción, oxidación, metilación o desmetilación y por último la expulsión, los principales mecanismos encontrados en las diferentes referencias bibliográficas. Finalmente, se comparó las aplicaciones biotecnológicas y ambientales de cada uno de los determinantes genéticos, encontrándose un amplio uso en la construcción de biosensores y en la generación de organismos genéticamente modificados para fines de biorremediación de la contaminación. Se recomienda seguir con estudios de carácter similar con el fin de ampliar información acerca de otros determinantes genéticos de resistencia a otros metales pesados que resultan tóxicos para los seres vivos.

Palabras clave: < DETERMINANTES GENÉTICOS>, < OPERONES>, < RESISTENCIA>, < GENES>, < METALES>, < MECANISMO DE ACCIÓN>.



Firmado electrónicamente por:
**JHONATAN RODRIGO
PARREÑO UQUILLAS**



21-04-2021

1048-DBRA-UTP-2021

SUMMARY

The purpose of the current research was to identify and describe the main genetic determinants involved in bacterial resistance to heavy metals, as well as their potential use at a biotechnological and environmental level. A bibliographic review was carried out with the information published along the last 10 years in scientific articles with the best quartiles and found in journals with SJR indexing available in the different databases accepted at a national and international level, such as Scielo, Scopus, Elsevier, Redalcy, Science Direct, Latindex among others; this determines the current situation about the knowledge on the topic and at the same time it allows making qualitative comparisons between the different results of selected researches. Bacteria are constantly evolving and become more resilient to heavy metals due to the acquisition of genes which allow them to face the toxic effects of these elements. Therefore, the bacterial resistance of genetic determinants was identified for the most toxic heavy metals, such as arsenic, mercury, chromate and cadmium, (*ars*, *aio*, *mer*, *chr*, *cad* and *czc*) respectively, these systems can be found in the chromosome, plasmids, transposons and genomic islands of bacteria. The action mechanism encoding each genetic determinant was defined, mainly the one with regard to the regulation, enzymatic detoxification including the reduction, oxidation, methylation or demethylation and finally the expulsion. These were the main mechanisms found in the different bibliographic references. Finally, the biotechnological and environmental applications of each genetic determinant were compared; so, it was possible to find a wide use in the construction of biosensors and in the generation of genetically modified organisms for the bioremediation of contamination. Thus, it is recommended to continue with similar studies in order to expand the information about different genetic determinants which are resistant to other heavy metals and toxic for living beings.

Keywords: <GENETIC DETERMINANTS>, <OPERONS>, <RESISTANCE>, <GENES>, <METALS>, <ACTION MECHANISM >.

INTRODUCCIÓN

Identificación del problema

La contaminación ambiental generada por metales pesados es una de las principales preocupaciones a nivel mundial, altas concentraciones de estos elementos constituyen un grave problema, porque tienden a bioacumularse en el medio ocasionando daño celular y disfunción de los sistemas vitales en los organismos vivos que entran en contacto con los mismos (Vasconez y Durán, 2015: p.104).

Los metales juegan un papel importante, ya sea directa o indirectamente en los diferentes procesos metabólicos de las bacterias, siendo esenciales en pequeñas concentraciones para su crecimiento y correcto desarrollo (Nanda et al., 2019: pp.1-2). Los entornos que presentan elevadas concentraciones de metales constituyen un factor determinante en la evolución de la fisiología celular de ciertas especies bacterianas, ya que les permite desarrollar mecanismo para adaptarse y sobrevivir a estos medios cambiantes (Moreta, 2016).

La asociación entre los contaminantes y la microbiota residente da lugar a una serie de procesos adaptativos que finalmente se expresan como mecanismos de resistencia, los cuales pueden ser codificados genéticamente, constitutivos o inducidos por la presencia del metal (Castro y Marín, 2018: p.10; Beltrán y Gómez: 2015: p.83). Los mecanismos de resistencia desarrollados por las bacterias se encuentran asociados a los denominados determinantes genéticos, los cuales pueden estar localizados en el cromosoma o en elementos genéticos móviles (Nanda et al., 2019: pp.1-2).

Se conoce que los determinantes localizados en plásmidos son específicos y tienen la capacidad de moverse de una célula a otra contribuyendo en gran parte a la adaptación bacteriana en un corto tiempo, sin embargo, los determinantes cromosomales son más complejos y en muchos de los casos complementan a los determinantes plasmídicos (Marreno et al., 2010: p.73). La presencia de genes de resistencia presentes en el cromosoma bacteriano, soporta la hipótesis de que este carácter es indispensable para algunos microorganismos (Marreno et al., 2010: p.74-75).

En las últimas décadas, gracias a los avances en el campo de la biología molecular y la genética se va ampliando información acerca de las vías metabólicas bacterianas, con la finalidad de identificar genes, proteínas o metabolitos implicados en la resistencia a metales pesados (Beltrán y Gómez: 2016: p.188). La comprensión del fenómeno de resistencia bacteriana proporciona una base para la exploración de los mecanismos de adaptación de la microbiota presente en sitios contaminados.

Esta comprensión es fundamental para lograr optimizar tecnologías que generen un beneficio a favor de la ciencia y la sociedad, en el ámbito ambiental y económico. Por ello, la presente investigación se enfoca en identificar y describir los genes que codifican los mecanismos de resistencia que los microorganismos han desarrollado para poder sobrevivir al estrés ambiental, así como el potencial de los mismos en el área de la biotecnología y ambiente.

Justificación de la investigación

Una investigación documentada es un procedimiento científico y sistemático que permite indagar, recolectar, organizar e interpretar información en torno a un tema, cuya finalidad es la construcción del conocimiento (Riso, 2015, p.40). Dicho proceso consiste básicamente en indagar de modo exhaustivo la bibliografía publicada y situarla en cierta perspectiva, proporcionando así al lector los avances investigativos más actuales sobre conceptos de interés (Vera, 2009, pp.63-64)

El conocimiento sobre los mecanismos bacterianos de resistencia a metales pesados y sus determinantes genéticos ha constituido un impulso para la investigación en el campo de la ecología microbiana y la biotecnología ambiental, la cual tiene por objetivo primordial el implementar métodos eficientes y económicos para el tratamiento de los metales pesados mediante el uso de los microorganismos (Beltrán y Gómez, 2015: pp.93-95).

Se sabe que las comunidades bacterianas en los sitios contaminados prosperan con la carga orgánica acumulada, productos tóxicos, xenobióticos y metales pesados presentes en ellos. En dicho entorno, se espera que los microorganismos residentes posean genes que les permita degradar diversos contaminantes (Mittal et al, 2019: p.2; Jordaan et al., 2019: p.18). La presión selectiva de estos medios cambiantes ha forzado a las bacterias a desarrollar una serie de procesos para resistir a la contaminación, mostrando capacidades metabólicas asombrosas para poder adaptarse y sobrevivir a estos medios (Bretón-Deval et al, 2020: p.1).

Basándose en lo anterior, la presente investigación pretende recopilar los nuevos hallazgos científicos, acerca de los determinantes genéticos y sus mecanismos de acción involucrados en la resistencia a metales pesados descritos en diversos géneros bacterianos estudiados hasta el día de hoy, de modo que se pueda comprender la respuesta de la comunidad bacteriana frente a elevadas concentraciones de metales pesados (Xie., et al: p.349; Jordaan et al., 2019: p.1). La importancia del estudio también radica en las múltiples aplicaciones que se le otorgan a los determinantes genéticos en el campo de la biotecnológica y la industria.

OBJETIVOS

Objetivo general

- Describir los principales determinantes genéticos y sus mecanismos de acción implicados en la resistencia bacteriana a metales pesados.

Objetivos específicos

- Identificar los determinantes genéticos implicados en la resistencia bacteriana a metales pesados.
- Definir los mecanismos de acción codificados por determinantes genéticos implicados en la resistencia bacteriana a metales pesados
- Comparar los usos potenciales en diferentes aplicaciones biotecnológicas para cada uno de los determinantes genéticos.

CAPITULO I

1. MARCO TEORICO REFERENCIAL

1.1. Antecedentes de la investigación

La investigación se fundamenta en trabajos de características similares. A nivel internacional, se realizó un estudio que evidencia la presencia de determinantes de resistencia al ion mercurio en aislamientos bacterianos de sitios contaminados. *Pseudomonas sp.*, y *Klebsiella sp.*, fueron examinadas para determinar su composición genética en términos de la presencia de genes *mer* (*merP* y *merT*). Los autores señalan que, las especies bacterianas que contienen estos genes están mejor adaptadas para sobrevivir en sitios con altos niveles de mercurio y son capaces de transformar este contaminante. Por lo tanto, explotar especies bacterianas que contengan estos genes facilitaría la manipulación genética de estos microorganismos para fines de biorremediación (Jan et al., 2016: pp.55-62)

Das et al., (2016) elaboran un artículo de revisión sobre la importancia de los genes de resistencia a metales pesados. El objetivo de esta revisión fue describir el papel de las bacterias y sus mecanismos de adaptación para la desintoxicación de metales tóxicos y la restauración de sitios contaminados. La revisión integra la descripción de los genes resistentes a metales agrupados en operones como: *cad*, *chr*, *cop*, *pbr*, *mer*; así como su importancia en el campo de la biorremediación y la biotecnología. Los autores señalan que, cada vez se va descubriendo nuevos genes de detoxificación a metales; sin embargo, debido a la gran diversidad microbiana y a las condiciones ambientales se requiere de una comprensión profunda acerca de los mecanismos genéticos de las bacterias para desarrollar adecuadas estrategias de biorremediación (Das et., 2016).

Nanda et al., (2019) generaron una revisión documentada, en este trabajo resumen los mecanismos de adaptación bacteriana a varios metales pesados, así como su aplicación en la biorremediación. Los autores señalan que, las bacterias han desarrollado una serie de procesos para la tolerancia a los metales pesados, como el transporte a través de la membrana celular, el secuestro a nivel intra y extracelular, la formación de complejos y reacciones redox, que forman la base de diferentes estrategias de biorremediación bacteriana. Para recopilar la información se sustentan de varios estudios realizados logrando obtener comparaciones de manera ordenada con el fin de proporcionar una idea concreta acerca del potencial bacteriano para la eliminación de metales pesados (Nanda et al., 2019: p.4-8).

1.2. Marco conceptual

1.2.1. Metales pesados

Elementos químicos que poseen una densidad atómica alta de $4 \pm 1 \text{ g/cm}^3$ en comparación con el agua; su masa y peso atómico se encuentra por encima de 20 y son tóxicos en concentraciones que sobrepasan un umbral específico (Gabrielyan et al., 2018: p.1). Los metales pesados están presentes de forma natural en el medio y en concentraciones que no generan daños a los diferentes organismos (Londoño et al., 2016: p.147-150). Generalmente, estos elementos se hallan formando complejos como iones libres o participando en varios procesos redox, los cuales resultan extremadamente tóxicos para los seres vivos (Beltran y Gómez, 2016: p.173). Dentro del grupo de los metales pesados más tóxicos se encuentra el mercurio, cobalto, cadmio, cobre, cromo, zinc, plomo y níquel (Tábora Sarmiento, 2017: p.6). Basándose en el supuesto de que la pesadez y la toxicidad se interrelacionan, en el grupo de los metales pesados se incluyen también a algunos metaloides, como el arsénico y el antimonio (Gabrielyan et al., 2018: p.1).

1.2.1.1. Características y toxicidad de los principales metales pesados

Los metales pesados representan una clase importante de contaminantes, ya que generan daños al medio cuando se encuentran en concentraciones elevadas. Estos elementos no son biológicamente degradables y tienden a bioacumularse en los distintos eslabones de la cadena trófica (Tábora Sarmiento, 2017: p.2). Una vez que han entrado en el medio, los metales pesados se transforman a través de los ciclos biogeoquímicos y se dispersan entre especies de diferentes características fisicoquímicas (Reyes et al., 2016: p.67). A las células ingresan usando importadores y su efecto tóxico se debe a la producción de ROS y a su unión a proteínas esenciales (Hoogewerf et al., 2015: p.148).

a) Cadmio (Cd)

El cadmio se puede encontrar formando parte de la composición natural de las rocas y los suelos; se estima que se libera alrededor de 25000 toneladas de cadmio al ecosistema. El 5% del cadmio se recicla, sin embargo debido a su carácter móvil genera una importante contaminación ambiental (Reyes et al., 2016: p.68). Las principales fuentes de liberación de cadmio al medio es por la industria y las prácticas agrícolas, especialmente por el uso de fertilizantes fosfatados que están contaminados con cadmio (Nesler et al., 2017: p.54; Argudín et al., 2019: p.140; Mero et al., 2019: p.625).

El cadmio es un metal no esencial, sin embargo, en dosis bajas es tóxico porque actúa como un veneno acumulativo (Argudín et al., 2019: p.140). En las plantas, este elemento tiende a acumularse y causa desequilibrio en las funciones de transporte y nutrición; está bien documentado que reprime

el crecimiento, genera clorosis, estrés oxidativo, peroxidación lipídica, inhibe enzimas, y genera daños al ADN (Reyes et al., 2016: p.68; Mero et al., 2019: p.625). En los organismos superiores, afecta a los órganos excretores, al esqueleto y al sistema nervioso central (Mero et al., 2019: p.624).

b) Mercurio (Hg)

El mercurio ha sido utilizado en la agricultura y la medicina, sus derivados orgánicos se han usado en la agricultura, mientras que los inorgánicos en la medicina (Agudín, Hoefler y Butaye, 2019). El mercurio a temperatura ambiente se presenta como un metal líquido, pero también puede encontrarse en su estado elemental, el cual es poco soluble y no resulta elevadamente tóxico al ingerirse, sin embargo puede emitir vapores tóxicos a cualquier temperatura que llega a generar intoxicaciones tanto agudas como crónicas al ser inhalado (Reyes et al., 2016: p.69).

La toxicidad de los iones mercurios se debe a la inactivación de enzimas y a su estrecha afinidad por los grupos nitrógeno tiol e imino de las proteínas (Argudín et al., 2019), también, pueden unirse a nucleótidos, lípidos, además, puede interferir con la función del ADN y contribuir a la peroxidación lipídica (Hobman y Crossman, 2015: p.5). El metilmercurio es la forma más tóxica de este elemento, ya que se puede incorporar en la cadena trófica y bioacumularse en los tejidos de los organismos afectando al sistema nervioso y el cerebro (Reyes et al., 2016: p.69).

c) Cromo (Cr).

Elemento de color gris acerado que presenta la característica de ser resistente a la corrosión, el cromo existe en nueve estados de valencia y se incorpora al medio por procesos naturales o antropogénicos (Viti et al., 2014: pp.633-635). El Cr^{3+} y Cr^{6+} presentan importancia desde el punto de vista ambiental porque son las formas de oxidación más estables presentes en el entorno. Estos estados de oxidación tienen diferentes características químicas y afectan a los seres vivos de modo distinto (Viti et al., 2014: pp.633-635). Por lo tanto, la toxicidad del cromo va a depender del estado de oxidación en el que este se encuentre (Cárdenas et al., 2011: p.44).

El Cr^{3+} a pH neutro precipita, es poco soluble, estable, y por lo tanto no es tan tóxico; está presente en minerales de óxido, hidróxido y sulfato o genera complejos con la materia orgánica (Rodríguez, 2017; p.6; Henson et al., 2015: p.2). El Cr^{3+} repercute en la replicación del ADN, además, altera la estructura y actividad de las enzimas reaccionando con sus grupos tiol y carboxilo (Viti et al., 2014: pp.634). En contraste, el Cr^{6+} es más tóxico debido a su alta solubilidad en agua, rápida permeabilidad a través de las membranas de los organismos y su interacción con proteínas y ácidos nucleicos (Thatoi y Pradhan, 2018: p.287; Henson et al., 2015: p.4). Este elemento, también es genotóxico y citotóxico (Covarrubias y Peña Cabriales, 2017: p.10; Zhou et al., 2020: p.996-998).

d) Arsénico (As).

Metaloide presente de forma natural y muy poco abundante en medios acuáticos y terrestres, presenta elevada toxicidad convirtiéndolo en uno de los venenos naturales más tóxicos (Fekih et al., 2018: p.6). El estado real del arsénico depende en gran medida del entorno, por ejemplo, los derivados orgánicos y metilados también están presentes en la naturaleza, sin embargo, son menos tóxicos que sus homólogos inorgánicos (Kruger et al, 2013: p.3827; Fekih et al., 2018: p.2).

El arsenito es más tóxico que el arsenato porque se une con alta afinidad a los grupos tiol, como los del glutatión y las cisteínas de proteínas reguladoras que inhiben procesos bioquímicos (Firrincieli et al., 2019: p.2; Kruger et al, 2013: p.3828). Está bien documentado que el arsenito estimula la generación ROS, los cuales dañan proteínas, lípidos y el ADN (Prieto et al., 2018: p.23; Ali et al., 2013: p.871). Por otro lado, el arsenato al ser análogo del fosfato altera las rutas bioquímicas debido a la generación de metabolitos arsenilados, también compite con el fosfato en las funciones energéticas y de transporte; su toxicidad se debe a su conversión en arsenito (Kruger et al, 2013: p.3828; Firrincieli et al., 2019: p.2; Fekih et al., 2018: p.2).

1.2.2. Las bacterias y su clasificación

Organismos procariontes, unicelulares, carecen de un núcleo, por lo tanto, su ADN se encuentra disperso en el citoplasma, pueden o no presentar flagelos, son metabólicamente activas y se dividen por fisión binaria. Son ubicuas, sin embargo, tan solo 1% de todas las bacterias presentes en el planeta, se han identificado (Rodríguez, 2017, p.14). Las bacterias pueden ser clasificadas según la tinción en: Gram positivas y Gram negativas (Rodríguez, 2017, p.15). Las Gram positivas retienen la tinción azul violeta, y las Gram negativas se decoloran y se tiñen con safranina. Esta diferencia se debe a la estructura de sus paredes celulares, por ejemplo, las Gram positivas poseen una pared celular gruesa e impermeable compuesta de peptidoglucanos y polímeros que le proporciona resistencia a la decoloración. En contraste, las Gram negativas tienen una pared celular completa que consta de una capa delgada de peptidoglucanos más una bicapa de lipoproteínas que tiende a deshacerse con la decoloración (Rodríguez y Arenas, 2018: p.166).

1.2.3. Resistencia bacteriana a metales pesados

Los metales juegan un rol fundamental en los procesos metabólicos bacterianos; esto permite que crezcan incluso en presencia de varios metales tóxicos (Nanda et al., 2019: p.1). Los metales pesados son considerados un factor importante, ya que afectan de manera significativa a la actividad de las comunidades microbianas, la biomasa, la diversidad e incluso la actividad metabólica (Dickinson et al., 2019: p.2). El estrés producido por metales pesados contribuye a la inhibición del

crecimiento de los microorganismos (Chudobova et al., 2015: p.147).

La mayoría de los microbios crean resistencia biológica contra los efectos adversos del medio externo e interno (Chudobova et al., 2015: p.147). Esta respuesta microbiana constituye un fenómeno ambiental de selección natural para su supervivencia en entornos que presenten condiciones extremas (Nanda et al., 2019: p.4-8). La presencia de especies bacterianas resistentes a metales pesados es producto de una evolución constante y de una adaptación al medio en el que se encuentran (Staninska-Pięta et al., 2020: p.15).

Existen dos tipos de resistencia bacteriana, la resistencia natural o resistencia intrínseca es un mecanismo específico, propio de la especie, familia o grupo bacteriano; se encuentra codificada genéticamente y tiene la característica de ser inherente, este tipo de resistencia no está correlacionada con la dosis del contaminante (Beltran, 2018, p.6; Robles y Perez, 2013: p.188). Por otro lado, la resistencia adquirida es propia de una especie y generalmente es originada por un cambio en la composición genética de la bacteria, ya sea por mutaciones o transferencia horizontal de genes. Este tipo de resistencia tiene la característica de ser variable (Robles y Perez, 2013; Beltran, 2018)

1.2.3.1. Mecanismos de resistencia bacteriana a metales pesados

La exposición bacteriana a metales tóxicos ha permitido a los microorganismos desarrollar mecanismos que les permitan adquirir metales esenciales y controlar los niveles intracelulares de los mismos (Hobman y Crossman, 2015: p.19). La capacidad bacteriana para resistir contaminantes en el medio está determinada por factores estructurales y fisiológicos, que actúan a nivel extracelular e intracelular (Troncoso et al., 2017: p.1215). Ver figura 1-1

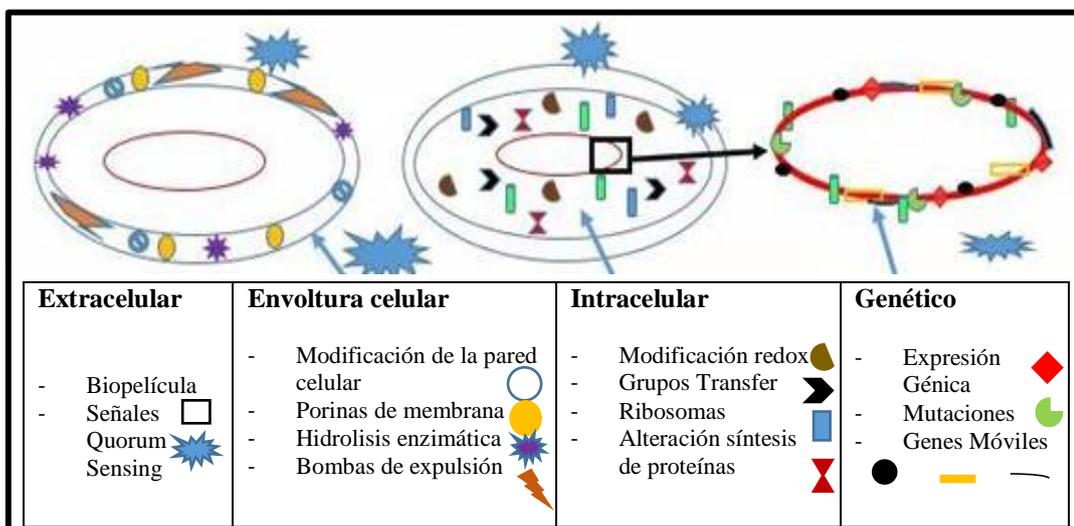


Figura 1-1. Mecanismos de resistencia bacteriana

Fuente: Troncoso, C.; Pavez, M.; Santos, A.; Salazar, R.; Barrientos, L. 2017

No existe un mecanismo de resistencia bacteriano generalizado para los diferentes metales, sin embargo, varias investigaciones reportan el desarrollo de mecanismos de salida que bombean activamente estos tóxicos al exterior de la célula, la formación de complejos con otros componentes, secuestro intra y extracelular y la reducción enzimática (Nanda et al., 2019: p.2; Troncoso et al., 2017: p.1215). También, algunos iones metálicos pueden ser usados como aceptores terminales de electrones durante la respiración anaeróbica (Nanda et al., 2019: p.1-2).

a) Formación de biopelículas

Las biopelículas son agregaciones estructuradas de células bacterianas encerradas en una matriz extracelular, compuesta por varias sustancias poliméricas muy hidratadas y útiles para la agregación, la estructura y sobre todo para lograr mantener el estilo de vida de la comunidad sésil formada. La biopelícula otorga protección frente a las agresiones fisicoquímicas, tales como la luz uv, los metales pesados, la acidez, cambios de hidratación y salinidad. También, le otorga la capacidad para hacer de frente a la agresión por parte de los antibióticos (Troncoso et al., 2017).

b) Sistema Quorum Sensing

Este sistema está presente en bacterias de especies diferentes o similares, se define como un mecanismo relacionado con la densidad poblacional, o por señales generadas por las bacterias en respuesta al estrés ambiental, esto les permite regular la expresión de sus genes, independiente de la densidad celular (Troncoso et al., 2017: p.1216; Clark et al., 2019: p.550).

c) Captura de iones en la célula bacteriana:

La acumulación y la compartimentación de los iones de metales pesados en las células de las bacterias, con frecuencia suele ocurrir en la membrana, en el espacio periplasmático y en el interior de la célula. En este proceso intervienen una serie de polímeros estructurales y extracelulares, que interactúan con los metales capturándolos dentro y evitando que interactúen con proteínas esenciales (Beltrán y Gómez, 2015: p.94).

d) Transformación mediada por enzimas/ Detoxificación

La oxidación, reducción, metilación y desmetilación son las principales transformaciones enzimáticas de los metales. Las bacterias realizan estas transformaciones, dando como resultado compuestos poco solubles o volátiles (Marreno et al., 2010: p.69). Hace varias décadas, la metilación y la desmetilación del arsénico eran procesos considerados como parte del metabolismo, pero

actualmente se supone que son simplemente procesos de desintoxicación, ya que otorgan una mayor tolerancia o resistencia a este elemento (Andres y Berlin, 2016: p.302).

Oxidación

Un ejemplo claro de este proceso es la oxidación del arsenito por microorganismos, sin embargo, no es un mecanismo común en bacterias fotosintéticas, ni en cianobacterias. La oxidación es considerada como un mecanismo de desintoxicación (Rahman y Hassler, 2014: p.213; Andres y Berlin, 2016: p.300; Koecler et al., 2015: p.205). En la oxidación de As^{3+} a As^{5+} , se genera energía debido a que el As^{3+} puede servir como donante de electrones en este proceso (Rahman y Hassler, 2014: p.213; Koecler et al., 2015: p.205). El gen del arsenito oxidasa *aioA* media la oxidación aeróbica del As^{3+} ; y el gen del arsenito oxidasa *arxA* media la oxidación en condiciones anaerobias.

Reducción enzimática

Estrategia adoptada por las bacterias para obtener metales con estados de oxidación menos tóxicos (Nanda et al., 2019: p.1-2). El metal en su forma reducida debe ser exportado fuera de la célula, para evitar que se vuelva a oxidar (Ianeva, 2009). Una de las reducciones enzimáticas más estudiadas es la reducción del Hg^{2+} a su forma volátil menos tóxica (Marreno et al., 2010: p.70). De manera similar, los microorganismos fotosintéticos transforman el As^{5+} , en un proceso que involucra la reducción de dos electrones (Rahman y Hassler, 2014: p.213). Se conocen dos sistemas de reducción de arsenato en los procariontes; el primero es la reducción del arsenato por *ArsC* y el segundo consiste en la reducción por *ArrA* (Kruger et al, 2013: p.3832-3833; Prieto et al., 2018: p.23).

Metilación:

Mecanismo biológico mediante el cual los metales son transformados a sus derivados metilados, los cuales son expulsados velozmente desde las células para luego volatilizarse o transformarse a formas menos tóxicas (Beltrán y Gómez, 2016: p.177). Este proceso predomina en ecosistemas terrestres y acuáticos, dando como resultado la detoxificación del metal (Beltrán y Gómez, 2016: p.177). Generalmente, la metilación del Hg^{2+} ocurre en bacterias anaerobias (Bazzi et al., 2020: p.3). De modo similar, la metilación de As^{3+} es catalizada por *ArsM*, una enzima que metila el As^{3+} a metilarsenita, dimetilarsenita y trimetilarsenita, estos son más tóxicos que el As^{3+} , pero no se acumulan en la célula y pueden ser detoxificados por varios caminos (Yan et al., 2019: p.5).

Desmetilación:

A diferencia del mecanismo de metilación, a menudo el proceso de desmetilación es llevado a cabo por bacterias y catalizado por enzimas; en el caso del metilmercurio, la detoxificación puede ocurrir vía reductiva por la acción del operón *mer* de amplio espectro, principalmente, interviene

el gen *merB*, cuyo producto génico separa el componente orgánico del ion Hg^{2+} (Guo et al., 2011). En el caso del arsénico, la desmetilación es llevada a cabo por el gen *arsI*, cuyo producto génico rompe el enlace C-As (Yoshinaga y Rosen, 2014: p.7703; Andres y Bertil, 2016: p.302).

e) Expulsión de iones metálicos/ sistema efflux/ bombas de eflujo

Una estrategia microbiana para regular la homeostasis de los metales pesados consiste en disminuir la concentración de estos elementos en las células por medio del uso de bombas de eflujo. Estas bombas son herramientas bacterianas muy frecuentes, que otorgan resistencia a los metales pesados, ya sea mediante la hidrólisis de ATP o mediante un gradiente electroquímico de protones (Bazzi et al., 2020: p.3). Por ejemplo, el Cr^{6+} puede ser bombeado fuera de la célula por un sistema de eflujo específico (Branco y Morais, 2013: p.2). Los sistemas efflux contienen proteínas que pertenecen a las siguientes familias:

- RND (resistencia, nodulación, división celular)
- CDF (facilitador de difusión catiónica)
- ATPasas tipo P

Estos sistemas forman una red que asegura la homeostasis celular y garantiza la supervivencia bacteriana en ecosistemas con altas concentraciones de iones metálicos (Marreno et al., 2010: p.71). Muchas veces, los niveles basales de eflujo no bastan para otorgar la resistencia a los metales, sin embargo, los cambios en la expresión, ya sea por mutaciones en las regiones promotoras o reguladoras de la bomba de salida o la inactivación de los represores, conlleva a la sobreexpresión de estas bombas o le proporciona una mayor resistencia (Bazzi et al., 2020: p.3).

ATPasas tipo P:

Las ATPasas tipo P son una superfamilia de transportadores que utilizan la hidrólisis del ATP como fuente de energía para mover un sustrato a través de la membrana citoplasmática (Gillet et al., 2019: pp.412-413). Este tipo de bombas son consideradas la defensa básica contra cationes de metales pesados (Marreno et al., 2010: p.71). Han sido identificadas ATPasas de tipo P para el transporte específico de Cu^+ , Zn^{2+} y Co^{2+} , siendo la más estudiada en las bacterias, la proteína de resistencia al cadmio: CadA, presente en *S. aureus* (Gillet et al., 2019: pp.412; Marreno et al., 2010: p.71).

Transportadores RND

Los transportadores (RND) son una familia de proteínas que bombean los cationes metálicos desde el citoplasma, la membrana interna o el periplasma hacia al exterior usando la fuerza motriz

de quimiosmosis/protones (Bazzi et al., 2020: p.3). Este tipo de transportadores son el sistema de resistencia a metales pesados de más relevancia en las bacterias (Rodríguez, 2017, p.16). Dentro de la superfamilia de transportadores (RND), se incluye a la familia de eflujo de metales pesados (HME-RND) que juegan un papel en la homeostasis de iones metálicos en diversas bacterias Gram negativas (Gillet et al., 2019: p.413). El transportador HME-RND es un complejo tripartito, en el cual la proteína (RND) de la membrana interna se une a una membrana externa (OMP) a través de una proteína de fusión de membrana periplásmica (MFP) (Gillet et al., 2019: p.413). El sistema más estudiado de transportadores RND es el sistema CzcABC de *C. metallidurans* CH34 (Marreno et al., 2010: p.71).

Facilitadores de difusión de cationes

Los transportadores de difusión de cationes (CDF) pertenecen al tercer tipo de bombas de eflujo bacterianas, que catalizan la salida de una gran variedad de metales de transición desde el citoplasma al medio extracelular o en compartimentos subcelulares. La función celular de los transportadores de difusión de cationes es exportar el excedente del metal presente en la célula para evitar su acumulación excesiva y la toxicidad (Salusso y Raimunda, 2017: p.2). A diferencia de los eucariotas, las bacterias poseen muy pocos genes que codifican CDF, la mayor parte de las proteínas CDF estudiadas están involucradas en la resistencia al metal Zn^{2+} y otros cationes de metales pesados (Marreno et al., 2010: p.71).

Transportadores de casete de unión a ATP (ABC)

Los transportadores ABC de múltiples subunidades son una de las familias de proteínas más grandes, presentan una gran variedad de funciones fisiológicas, como la absorción de nutrientes, el transporte de oligopéptidos, proteínas, y la extrusión de metales. Estos transportadores presentan una distribución ubicua, es decir, se pueden encontrar en todas las formas vivas (Srivastava y Kowshik, 2013: pp.8-10). Los casetes de unión de ATP (ABC) juegan un papel relevante en la salida de iones metálicos impulsados por la hidrólisis de ATP (Bazzi et al., 2020: p.3).

Un gran número de las proteínas transportadoras ABC muestran estricta especificidad hacia su sustrato; sin embargo, se han demostrado que algunos transportadores como los del fosfato presentan múltiple especificidad y están reguladas de diferente forma por más de un ion metálico (Srivastava y Kowshik, 2013: p8). En general, los diferentes sistemas de bombas bacterianas difieren en su secuencia de aminoácidos, en la especificidad de sustrato y en el consumo de energía para el bombeo de los iones metálicos (Bazzi et al., 2020: p.3).

1.2.3.2. Mecanismos de resistencia bacteriana a nivel genético

Las bacterias adquieren resistencia en función de su variabilidad genética, esta hace referencia a las diferencias en el material genético de una población o una especie. El desarrollo de nuevos mecanismos de resistencia se puede originar por mutaciones o por transferencia horizontal de genes entre células bacterianas, ya sea de especies similares o distintas (Rosso y Dussan, 2010: p.23).

a) Resistencia producida por mutaciones

Las características genéticas de las bacterias ayudan al desarrollo de la resistencia, las bacterias poseen un solo cromosoma, por ello, cualquier modificación en la hebra del ADN induce cambios en su comportamiento (Troncoso et al., 2017: p.1220). Las mutaciones son la principal fuente de variabilidad genética en los organismos procariontes, este mecanismo consiste en una alteración génica que logra afectar a las rutas de regulación de los mecanismos de resistencia naturales, dando como resultado un aumento de la resistencia a diferentes niveles (Bravo, 2018, p.6).

b) Resistencia debida a la transferencia horizontal de genes

Las bacterias logran un nivel adecuado de variabilidad genética mediante el uso de varios mecanismos de transferencia horizontal. Uno de ellos es la conjugación, siendo el proceso más amplio que consiste en la transferencia de material genético por contacto célula a célula de una bacteria donante a una receptora por medio de maquinaria de conjugación generalmente codificada por plásmidos. La conjugación permite la transferencia de genes de resistencia a los antibióticos, así como genes para la degradación de contaminantes (Rosso y Dussan, 2010: pp.23-24).

c) Resistencia por regulación de la transcripción

Los cambios en las hebras del ADN pueden llegar a modular la funcionalidad de las membranas, las porinas o de las diferentes bombas de expulsión, en consecuencia, esto da lugar a la resistencia bacteriana (Troncoso et al., 2017: p.1220).

1.2.4. Determinantes genéticos de Resistencia a metales pesados y su localización

A nivel genético, la resistencia a iones metálicos se encuentra codificada por secciones del genoma bacteriano denominados “determinantes genéticos” (Bustos, 2016: p.11). La mayoría de las bacterias portan los determinantes genéticos de resistencia como un conjunto de genes, denominados operones, frecuentemente localizados uno al lado del otro en el cromosoma o en plásmidos bacterianos (Clark et al., 2019: p.335).

Los operones son un sello distintivo del genoma bacteriano, que permite la expresión concertada

de genes funcionalmente relacionados como transcripciones policistrónicas únicas (Kominek et al., 2019: p.1). Todos los genes de un operón se transcriben de forma coordinada para generar un solo ARNm, denominado ARNm policistrónico (Betancor et al., 2010: p.67; Clark et al., 2019: p.335). Una sola molécula de ARNm bacteriano puede codificar para varias proteínas con funciones similares (Clark et al., 2019: p.335). Un operón está formado por Ver Figura 2-1:

- El gen regulador
- Un promotor
- Un operador
- Genes estructurales

El operador y el promotor son elementos de control; y son regiones del ADN que poseen secuencias que pueden ser reconocidas; en el caso del operador, por la proteína reguladora y en el caso del promotor, por la ARN polimerasa, la cual da inicio a la transcripción. El gen regulador también es una secuencia del ADN, que tiene la función de codificar la formación de la proteína reguladora (represora) (Terradas, 2015, p.71).

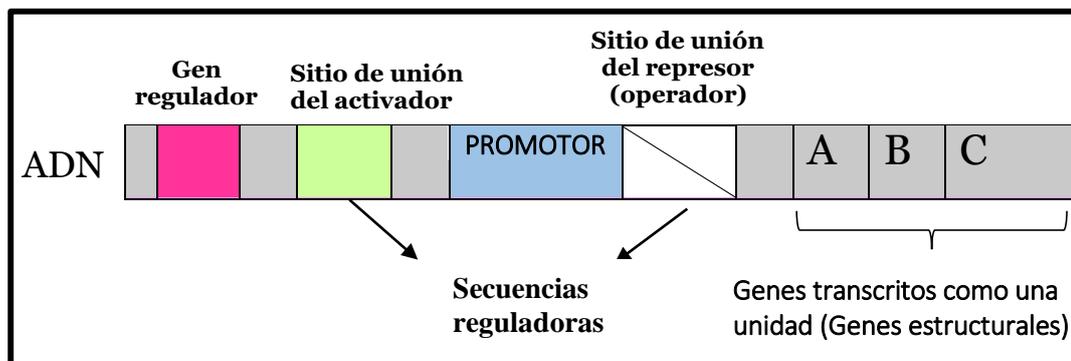


Figura 2-1. Estructura del operón

Fuente: Verdura, T.; López, Iliana. 2013

La localización de los determinantes genéticos varía de una especie bacteriana a otra, generalmente, se ubican a nivel cromosómico o extra cromosómico, es decir, en elementos genéticos móviles, tales como los plásmidos, genes saltarines (transposones) o en ambos (Quispe et al., 2017: p.204). La figura 3-1 muestra la localización de los determinantes genéticos

Cromosoma: Molécula circular de ADN que contiene información genética imprescindible para la vida; el cromosoma bacteriano se replica de manera bidireccional a diferencia de los plásmidos (Betancor et al., 2010: p.59).

Plásmidos bacterianos: Pequeña molécula circular de ADN, frecuentemente, presente en el genoma bacteriano; se encuentra separado del cromosoma y su replicación es de manera

independiente (Betancor et al., 2010: p.59). Los genes localizados en plásmidos proporcionan a los organismos ventajas competitivas frente a otros en el proceso de colonización de nuevos ambientes (Mindlin et al., 2016: p.1).

Transposones: O genes saltarines, son secuencias de ADN que pueden ser traslocados por un sistema de recombinación propio, que junto a la capacidad que poseen los plásmidos de moverse de una célula a otra durante el proceso de conjugación, permite la adquisición de genes entre bacterias, facilitando de esta manera que la resistencia se expanda (Robles y Perez, 2013: pp.188)

Integrone: Elementos móviles que tienen la capacidad de integrar y expresar genes de resistencia (González et al., 2004: p.620). Algunos plásmidos y transposones contienen integrone, que les permiten capturar un sin número de genes exógenos generando la aparición de una cepa con carácter multirresistente (Robles y Perez, 2013: p.189).

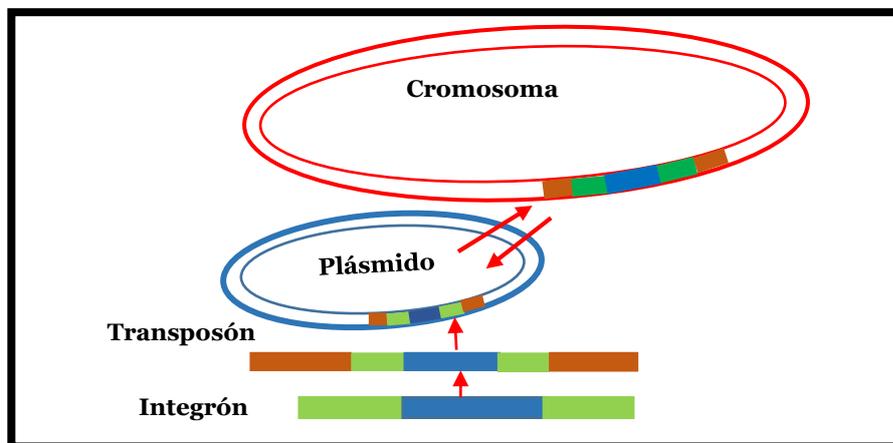


Figura 3-1. Cromosoma, plásmido, transposón e integrón
Fuente: Paredes, D. 2013

Los plásmidos proporcionan resistencia a iones metálicos, además, presentan gran especificidad y son sistemas inducibles en su mayoría. También, se ha descrito mecanismos de resistencia a metales codificados por genes cromosomales (Beltrán y Gómez, 2016: p.188). La presencia de genes de resistencia en elementos móviles, constituye una oportunidad para que las bacterias diseminen estos rasgos genéticos adaptativos por medio de la transferencia horizontal (Fekih et al., 2018: p.3).

1.2.4.1. Principales determinantes genéticos de resistencia a metales pesados

Los principales determinantes genéticos de resistencia a metales pesados han sido clasificados en la tabla 2-1 por su localización y metal al que confiere resistencia.

Tabla 2-1 Determinantes genéticos de resistencia a metales en bacterias.

Determinante genético	Localización	Metal al que confiere resistencia
<i>ars.</i>	Plásmidos y cromosoma	As ⁵⁺ , As ³⁺ , Sb ³⁺
<i>cad.</i>	Plásmidos, cromosoma	Cd ²⁺ , Zn ²⁺
<i>chr.</i>	Plásmidos y Cromosoma	Cr ⁶⁺
<i>mer.</i>	Transposones, plásmidos y cromosoma	Hg ²⁺
<i>nre.</i>	Plásmidos y cromosoma	Ni ²⁺

Fuente: Marreno et al., 2010

Realizado por: Iza Joana, 2021.

a) *Determinantes genéticos de resistencia al arsénico*

Los determinantes de resistencia al arsénico se ensamblan como operones (Kruger et al., 2013: p.3828-3830), su presencia es un reflejo de la ubiquidad del arsénico en el ambiente; sin embargo, también está presente en bacterias aisladas de hábitats libres de arsénico (Fekih et al., 2018: pp.2-3). Los genes *ars* son muy abundantes y presentan una diversidad extrema de distribución (Li et al., 2014: p.8). El gen *arsR* codifica una proteína metaloreguladora, el represor ArsR que controla negativamente la expresión de *ars*; el gen *arsB* codifica para ArsB, una bomba de eflujo de As³⁺ y el gen *arsC* codifica para ArsC, la enzima arsenato reductasa (Fekih et al., 2018: p.4). El gen *arsA* codifica para ArsA, una ATPasa transportadora de As³⁺ (Firincieli et al., 2019: p.7) y el gen *arsD* codifica para ArsD, una metalochaperona que dona As³⁺ a ArsA (Shi et al., 2019: p.2; Li et al., 2016: p.5). Sin embargo, ArsD también puede actuar como un represor débil (Firincieli et al., 2019: p.7; Fekih et al., 2018: p.3-8)

Algunas bacterias poseen el mecanismo de metilación y desmetilación (Vidallangos et al., 2011: pp.1000-1010). El gen *arsM* codifica para ArsM, la enzima As³⁺ S-adenosilmetionina metil transferasa para la resistencia al arsénico (Zhao et al., 2015: p.5). La desmetilación es llevada a cabo por el gen *arsI*, que codifica para la enzima ArsI, capaz de romper los enlaces carbono-arsénico en derivados metilados de As³⁺, se ha encontrado que estos genes se distribuyen en bacterias aeróbicas y se establece que las bacterias anaeróbicas presentan otras vías de desmetilación (Yoshinaga y Rosen, 2014: p.7701-7704). La proteína ArsI, expande el rango de resistencia del arsénico inorgánico al orgánico (Yoshinaga y Rosen, 2014: p.7705).

Se ha identificado el gen *arsH* en varias *Gamma Proteobacterias*, este gen codifica el enzima oxidasa organoarsénica ArsH, que confiere resistencia a los organoarsénicos trivalentes (Chen et al., 2015a: p.1042). En el operón *ars* de *C. jejuni*, se ha encontrado el gen *arsP*, que codifica para un transportador de membrana putativo, la permeasa ArsP, siendo este el primer sistema de eflujo para la expulsión de organoarsénicos trivalentes (Fekhin et al., 2018; Chen et al., 2015b: p.625). La

proteína ArsP no requiere de oxígeno para su actividad, por otra parte, ArsH y ArsI usan O₂ en su mecanismo catalítico (Chen et al., 2015b: p.631). Otro determinante de la resistencia es el gen *arsJ*, que otorga resistencia a los arsenicales pentavalentes al acoplarse con *gadph* (Chen et al. 2016: p.949).

Otro sistema de resistencia y metabolismo del arsénico es el operón *aio*; la oxidación del As³⁺ en As⁵⁺ está mediada por el arsenito oxidasa periplásmica (Koechler et al., 2015: p.205; Lett et al., 2012: p.207). El operón *aio* con frecuencia usa el As³⁺ como fuente de energía quimiolitotrófica, ahora bien, este sistema difiere de los genes *ars*, cuya función es netamente protectora (Li et al., 2013: p.6). Curiosamente, se ha evidenciado la presencia conjunta de los operones *aio* y *ars*, lo que sugiere un mayor nivel de resistencia al arsénico (Jérémy y Bertin, 2016: p.305). Los genes *aioAB* son los elementos constantes del operón *aio* (Lis et al., 2013: p.177), el gen *aioB* codifica la subunidad pequeña (Rieske) [2Fe-2S] y *aioA* la subunidad grande del arsenito oxidasa, con un centro de molibdeno y un centro [3Fe-4S] (Jérémy y Bertin, 2016: p.305; Pacheco Gonzales, 2013: p.93). AioA presenta un péptido señal TAT (Twin Arginine Transporter) en el extremo N-terminal que guía a la proteína heterodimérica plegada durante su transporte desde el citoplasma al periplasma (Pacheco Gonzales, 2013: p.93).

Aguas arriba de *aioAB* está presente el gen *aioX*, que codifica para una proteína de unión periplásmica de As³⁺ (AioX); *aioSR* codifica para un sistema regulador de dos componentes (AioSR) (Jérémy y Bertin, 2016: p.303). Los genes *aioXSR* forman parte del operón *aio* en varias *Proteobacterias*, al contrario, otros filos no portan estos genes (Jérémy y Bertin, 2016: p.303). La transcripción de *aioBA* es inducida por As³⁺ y en muchos organismos esta activación es controlada por *aioXRS* (Koechler et al., 2015: p.212; Lett et al., 2012: p.207). Sin embargo, en este caso la regulación es más compleja, ya que otros factores juegan un rol en su regulación (Koechler et al., 2015: p.212).

b) *Determinantes genéticos de resistencia al mercurio*

El determinante genético *mer* es el único sistema bacteriano conocido para la resistencia al mercurio (De Luca Rebello et al., 2013: p.2). Las bacterias Gram negativas y Gram positivas presentan conjuntos similares de genes *mer*, dispuestos en un orden similar, pero con diferentes variaciones genéticas (Paisio et al. 2012: p.124). Los determinantes *mer* son de dos tipos, los de espectro estrecho, que desintoxican el mercurio inorgánico y los de amplio espectro, que desintoxican el mercurio orgánico e inorgánico (Naguib et al., 2018: p.60). El sistema de espectro estrecho incluye la resistencia a organomercuriales, como la merbromina y el acetato mercúrico de fluoresceína (Wang et al., 2016).

Los operones que codifican la resistencia al mercurio han sido encontrados en plásmidos y transposones de bacterias Gram negativas (Yu et al., 2017: p.11). El conjunto mínimo de genes vitales

que confiere resistencia al mercurio es el operón *merRTPA* (Mindlin et al., 2016: p.4). Sin embargo, el operón estándar es *merRTPADE* (Argudín et al., 2019). Este operón de espectro estrecho contiene genes involucrados en la detección (*merR*, *merD*), transporte (*merP*, *merT*, *merE*) y desintoxicación enzimática de mercurio inorgánico (*merA*) (Argudín et al., 2019). Las bacterias Gram negativas pueden contener genes extra, como *merC*, *merF* o *merH* que codifican para proteínas de importación de iones Hg^{2+} (Das et al., 2016: p.2970).

El sistema de amplio espectro proporciona resistencia a los compuestos inorgánicos y orgánicos de mercurio (Wang et al., 2016: p.1; Naguib et al., 2018: p.59). Este sistema incluye genes implicados en la regulación (*merR*, *merD*), unión o transporte (*merT*, *merP*, *merC*, *merF*, *merE*), y funciones de desintoxicación de organomercuriales (*merB*, *merG*) (Boyd y Barkay, 2012: p.5). El gen *merB* codifica para MerB, una liasa que confiere resistencia a organomercuriales (Yoshinaga y Rosen, 2014). Por otro lado, *merE*, *merT*, *merF* y *merC* son clave para el transporte de metilmercurio e iones de mercurio a través de la membrana citoplasmática bacteriana (Sone et al., 2013a: p.1835; Naguib et al., 2018: p.59). Los genes *merG* y *merE* median la permeabilidad celular de los compuestos orgánicos de mercurio (Argudín et al., 2019; Sone et al., 2013a: p.1840). Se ha encontrado una asociación entre *merG* y *merB*, lo que sugiere funciones interrelacionadas para atenuar la toxicidad de los organomercuriales (Boyd y Barkay, 2012: p.5). Del mismo modo, *merP* y *merT* son los genes más comunes a diferencia de *merC*, *merF*, *merE* y *merH* presente en taxones de evolución reciente.

c) *Determinantes genéticos de resistencia al cromato*

La resistencia bacteriana al ion cromato, generalmente, se asocia con la presencia de un determinante genético inducible, denominado *chr*, que porta al menos un gen *chrA*. No obstante, en varias cepas bacterianas, el operón *chr* consta de otros genes que codifican proteínas con diferentes funciones y que en conjunto proporciona un mayor nivel de resistencia a este elemento (Branco y Morais, 2016: p.7). El operón de resistencia al cromato *chrABC* es el más común en las bacterias (Mindlin et al., 2018: p.5). El gen *chrA* codifica para el transportador ChrA que proporciona resistencia al cromato mediante su expulsión del citoplasma bacteriano usando la fuerza motriz del protón (Verduzco y Julia, 2013: p.941). Contiguo a *chrA* se encuentra *chrB*, un regulador sensible al cromo y que controla la expresión de *chr* (Verduzco y Julia, 2013: p.2; Mindlin et al., 2018: p.5; Brando y Morais, 2013: p.2). El gen *chrC* codifica para una supuesta superóxido dismutasa que reduce el cromato disminuyendo su toxicidad (Fe-SOD) (Branco y Morais, 2016: pp.4-5; Klonowska et al., 2020: p.11).

d) *Determinantes genéticos de resistencia al cadmio*

Los operones *cad* codifican un mecanismo de resistencia al cadmio bien conocido en las bacterias

Gram positivas. En contraste, en las bacterias Gram negativas la resistencia al Cd^{2+} , Co^{2+} y Zn^{2+} esta codificado por el sistema *czc* (Argudín et al., 2019; Mergeay y Houdt, 2020). La bomba de eflujo CzcCBA consta de tres antiportadores quimiosmóticos de polipéptidos (Khan et al, 2015). Con raras excepciones, los operones *cad* constan de dos genes *cadA* y *cadC*, se ha observado este sistema en *L. monocytogenes* y *Listeria sp.*(Argudín et al., 2019; Zhang et al., 2015: p.5; Parson et al., 2020: p.565).

El gen *cadA* codifica para una ATPasa de tipo P, que depende de energía para exportar el Cd^{2+} de la célula, el producto de *cadC* es un represor transcripcional que controla la expresión de *cad* (Argudín et al., 2019; Das et al., 2016). CadA es análogo de ArsB (Das et al., 2016). Los genes *cadAC* y *cadB* de *S. aureus* transmitidos por plásmidos, proporcionan resistencia al Cd^{2+} y Zn^{2+} , no obstante, los genes cromosómicos median la resistencia al ion Cd^{2+} (Zhang et al., 2015: p.1; Chudobova et al., 2015: p.154). Diversas combinaciones de los genes *cad* contribuyen a la complejidad, generando una variedad de operones, como *cadCA*, *cadCB*, *cadXD*, *cadXB*, *cadCD* y *cadCAD* (Parson et al., 2020: p.565). El gen *cadB* proporciona resistencia de bajo nivel al cadmio, ya que su mecanismo de resistencia es diferente al de *cadA*, asimismo, no promueve la salida de cationes, pero proporciona protección a la célula mediante la unión de cadmio a la membrana. Por otro lado, *cadX* actúa como un regulador que cuadruplica la resistencia, en contraste *cadC* confiere resistencia total al ion cadmio (Argudín et al., 2019; Chudobova et al., 2015: p.148). Finalmente, el gen *cadD* proporciona resistencia al Cd^{2+} , y *cadR* también actúa como regulador del operón *cad* (Parson et al., 2020: pp.565-566; Chudobova et al., 2015: p.148).

En la resistencia al Cd^{2+} , Co^{2+} y Zn^{2+} intervienen 3 mecanismos de eflujo; el facilitador de difusión de cationes (CDF), CzcD; la ATPasa de tipo PIB, CzcP y el sistema CzcCBA impulsado por HME-RND (Mergeay y Houdt, 2020). El operón *czc* de *R. eutrophus* CH34 está constituido por tres genes estructurales *czcC*, *czcB* y *czcA* que forman el sistema de eflujo de cationes impulsado por un antiportador catión/protón (Nanda et al., 2019: p.5; Nesler et al., 2017: p.55). CzcC es la proteína de membrana externa, CzcB es la proteína de fusión de membrana y CzcA es la contraparte RND, la única subunidad del complejo de proteínas de salida CzcCBA (Khan et al., 2015; Nesler et al., 2017: p.55). Los genes *czcRS* forman un sistema regulador de dos componentes formado por dos proteínas, un sensor (CzcS, una histidina quinasa) y un regulador de respuesta (CzcR), que regulan la expresión de *czcCBA* a través de una cascada de fosforilación (Intorne et al., 2012: p.76).

1.2.5. Expresión de los genes bacterianos

Para que la célula funcione es necesario que sus genes se expresen, la palabra "expresar" significa que sus productos génicos deben ser fabricados (Clark et al., 2019: pp.333). Esta expresión depende de la transcripción y la traducción, que son procesos que ocurren de manera simultánea en el citoplasma (Betancor et al., 2010: p.65). En el proceso de la transcripción se produce la síntesis de una

copia de ARN de información codificada en el ADN. Los genes o conjunto de genes son transcritos de forma separada; por ende solo se da la transcripción de regiones cortas del ADN a la vez. Los principales productos de la transcripción son el ARN mensajero, que se traduce en proteínas y el ARN no codificante, que funciona mientras aún es ARN (Clark et al., 2019: p.332). El ARN es producido por la ARN polimerasa, la cual reconoce una gran variedad de señales; está formada por dos componentes: la enzima central y la subunidad σ . La enzima central tiene como función la síntesis del ARN y la subunidad sigma reconocer dos secuencias especiales de bases en la región promotora: la secuencia -10 y -35. Varios grupos de genes tienen promotores que carecen de estas secuencias de reconocimiento a las que se une el factor sigma estándar, sin embargo, sus secuencias de reconocimiento distintas son reconocidas por factores sigma alternativos (Clark et al., 2019: pp.336-525).

Posteriormente, se genera el proceso de la traducción del ARNm, este es el paso limitante de la síntesis de proteínas y representa el objetivo de la regulación postranscripcional de la expresión de varios genes. En la primera etapa, un anticodón iniciador del ARNt reconoce un codón de inicio en el ARNm unido a una pequeña subunidad ribosómica, luego, la subunidad ribosómica grande se une a la subunidad pequeña y se recluta un segundo ARNt. A medida que el ARNm se mueve en relación con el ribosoma, los ARNt sucesivos se mueven a través del ribosoma y se forma la cadena polipeptídica. Finalmente, la entrada de un factor de liberación en el sitio A, termina la traducción y los componentes se disocian y se reciclan (lumen, 2020; Gualerzi y Pon, 2015).

1.2.6. Regulación de la expresión génica en procariotas

La regulación de los genes en las bacterias se origina en respuesta a cambios en el medio, como la temperatura, presión osmótica o la disponibilidad de nutrientes, etc. Las bacterias han desarrollado mecanismos para el control de la expresión génica, gracias a ello logran que el producto de un gen determinado se sintetice cuando sea necesario, esto le brinda a la bacteria la capacidad de adaptarse a cualquier cambio en el entorno, activando en caso de ser necesario rutas metabólicas específicas. De este modo, las bacterias evitan sintetizar enzimas cuando no esté presente el sustrato correspondiente, pero siempre están listas para fabricarlas cuando aparece dicho sustrato en el medio (Betancor et al., 2010: pp.6-7).

1.2.6.1. Regulación de la transcripción: modelo del Operón

Otro mecanismo de regulación desarrollado por las bacterias consiste en activar o desactivar la transcripción de un grupo de genes (operones), que se encuentran organizados de tal modo que permiten regular su expresión (Betancor et al., 2010: p.7). La mayor parte de las regulaciones se dan a

nivel transcripción, resultando más interesante en términos de ahorro de energía, por otro lado, la regulación al inicio de la traducción genera un impacto inmediato en la síntesis de proteínas (Bervoets y Charlier, 2019: p.308).

a) Sistemas constitutivos y sistemas adaptativos

Los genes constitutivos son aquellos que están activos todo el tiempo, es decir, se expresan constantemente. En las bacterias, estos genes tienen sus secuencias promotoras de la región -10 y -35, por esta razón siempre son reconocidos por la ARN polimerasa y se expresan en todas las condiciones (Clark et al., 2019: p.343). Por el contrario, los genes que solo se necesitan en ciertas condiciones, se denominan genes adaptativos, estos a veces presentan secuencias de reconocimiento deficientes en las regiones promotoras. En estos casos, la ARN polimerasa no reconoce al promotor a menos que exista otra proteína accesoria (proteínas activadoras) para ayudar; cada una de ellas estimula la transcripción de uno o más genes. El conjunto de genes reconocidos por la misma proteína activadora se expresan juntos en condiciones similares, incluso si los genes se encuentran en lugares distintos del ADN (Clark et al., 2019: p.343).

b) Proteínas represoras y activadoras

Las proteínas activadoras activan los genes, estas se unen corriente arriba de la región promotora del gen, una vez unida, la proteína activadora facilita la unión de la subunidad sigma de la ARN polimerasa y luego comienza la transcripción (Clark et al., 2019: p.343-535). Al contrario, las proteínas represoras desactivan los genes, se unen aguas abajo del promotor y bloquean la unión de la ARN polimerasa, impidiendo que esta avance y se transcriba el gen (Betancor et al., 2010). Una misma proteína de unión al ADN puede actuar como activador de un gen y represor de otro si se une en diferentes lugares de los dos genes. La mayoría de los activadores y represores son proteínas, sin embargo, hay casos en los que la regulación se debe al ARN regulador o incluso a pequeñas moléculas (Clark et al., 2019: p.532).

c) Molécula señal

Ya sea que una proteína reguladora sea un activador o un represor necesita de una señal de algún tipo, una de las formas más comunes de hacerlo es mediante el uso de una molécula pequeña que encaje en un sitio de unión de la proteína reguladora, esta se denomina molécula señal (Clark et al., 2019: p.346). Frecuentemente, los represores transcripcionales solo son activos cuando se unen a una pequeña molécula de señal, llamada correpresor (Clark et al., 2019: p.540; Ruiz, 2016: p.21). El inductor es una pequeña molécula que cuando se une a la proteína reguladora hace que ese gen se

actíve (Clark et al., 2019a: p.344)

d) *Regulación o control positivo y negativo*

La primera etapa de la transcripción puede regularse positiva o negativamente; los genes bajo una regulación negativa se están expresando continuamente, excepto que sean inhibidos por una proteína represora que impedirá que el gen se exprese por su unión a la región operadora evitando que la ARN polimerasa se una a la región promotora y de inicio a la transcripción. Los genes bajo una regulación positiva, no se transcriben excepto que esté presente una proteína activadora que se una a una secuencia específica del ADN y ayude a la ARN polimerasa a unirse al promotor y comenzar la transcripción (Betancor et al., 2010: p.7). Tanto en el control positivo como en el negativo, una pequeña molécula de señal, el inductor, se une a la proteína reguladora e induce la expresión génica (Clark et al., 2019: pp.532-533).

e) *Inducción y Represión génica*

Se considera un sistema inducible, cuando la introducción de un sustrato en el medio incrementa la expresión de las enzimas necesarias para su metabolismo, este sistema solo funciona en presencia de una pequeña molécula, denominada inductor. Por otro lado, en un sistema reprimible, la síntesis de algunas enzimas disminuye porque hay cantidades suficientes de los productos terminales de la ruta metabólica determinada. Este proceso se denomina represión por producto final, en donde los metabolitos terminales son moléculas denominadas correpresores (Betancor et al., 2010: p.7). Ver figura 4-1

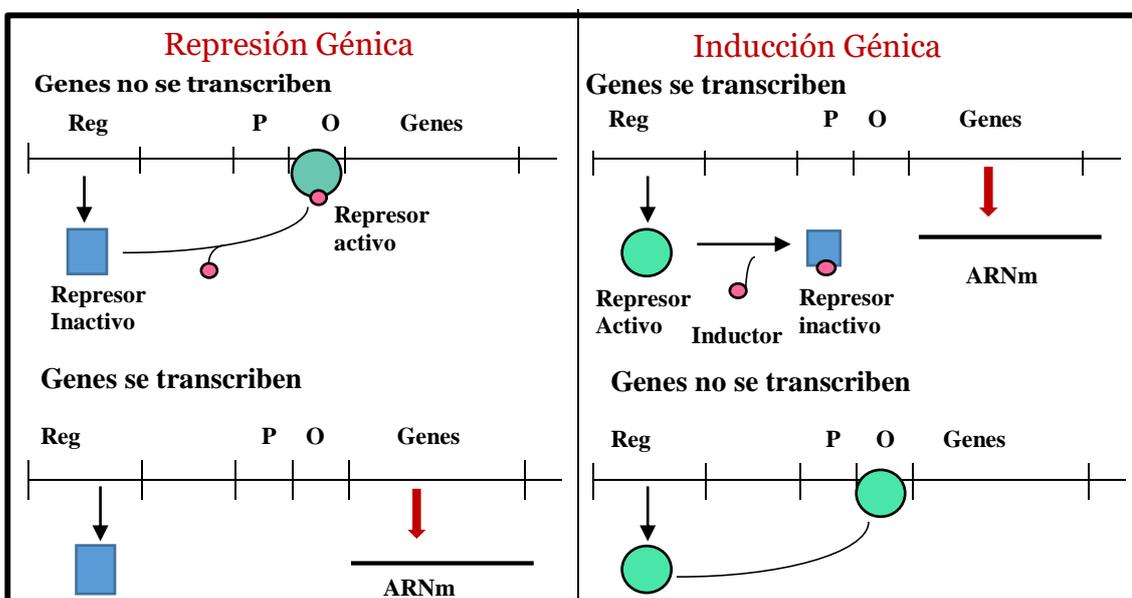


Figura 4-1. Represión e inducción génica
Fuente: Universidad de Granada, 2006

1.2.6.2. Sistema regulador de dos componentes: Sensor y regulador de respuesta

Las bacterias poseen sistemas en los cuales la señal ambiental no ingresa a la célula, sino que es captada por un sensor a nivel de membrana, el cual reemite el estímulo hacia una proteína citoplasmática que interacciona con secuencias determinadas al comienzo del operón para regularlo, proporcionando una respuesta adaptativa correspondiente a la señal ambiental (Bouzat y Hoostal, 2013: p.267; Bervoets y Charlier, 2019: p.317). Este sistema está formado por una proteína reguladora y un sensor quinasa, las cuales cooperan juntas para regular la expresión génica (Clark et al., 2019: p.541).

El sensor de histidina quinasa ubicado en la membrana celular se autofosforila en presencia de un desencadenante ambiental, luego, el sensor fosforila un regulador de respuesta afín, lo que resulta en una expresión genética diferencial (Bouzat y Hoostal, 2013: p.267; Clark et al., 2019: p.541). Los sistemas de dos componentes están involucrados en la regulación de una variedad de funciones fisiológicas críticas, como la esporulación, la resistencia a antibióticos y a metales pesados, etc. (Bervoets y Charlier, 2019: p.3; Bouzat y Hoostal, 2013: pp.267-268).

1.2.7. Importancia de los determinantes genéticos de resistencia bacteriana

Los ambientes contaminados con metales pesados presentan una biota de interés con capacidades extraordinarias para hacer de frente a los iones metálicos, estas ventajas adaptativas permiten el uso de estos microorganismos en una amplia gama de aplicaciones biotecnológicas (Monachese et al., 2012: p.6397; Breton et al., 2020: pp1-13). Las tecnologías microbianas se encuentran activas y en constante crecimiento; actualmente, existe una mejora en la microbiología clásica a través de la identificación de nuevas especies bacterianas, la selección de cepas que presenten interés biotecnológico o la mejora de cepas mediante la introducción de genes no nativos para expresar nuevos productos o nuevos rasgos funcionales (Vitorino y Bessa, 2017: p.2) Existen dos áreas principales para el uso de los determinantes genéticos en el área de la Biotecnología y Ambiente:

- Introducción de los determinantes genéticos de resistencia desde un organismo a otro.
- Biorremediación de sitios contaminados con metales

Dentro de las aplicaciones a nivel industrial se encuentra el desarrollo de biorreactores (Marreno et al., 2010: p.75). Por otro lado, la técnica del ADN recombinante ha facilitado la obtención de biosensores microbianos para el control de la concentración de metales, esta técnica se basa en la construcción de cepas microbianas recombinantes que contengan un gen reportero, es decir, un gen que proporcione una señal cuando se genere una interacción biológica entre el microbio y el ion metálico (Marreno et al., 2010: p.75; Rosas et al., 2019: p.148-149; Kruger et al, 2013: p.3834).

CAPITULO II

2. MARCO METODOLOGÍCO

2.1. Diseño No experimental

2.1.1. Tipo y Diseño de la Investigación

La investigación es de tipo exploratorio básico, ya que su finalidad es la exploración del problema y su entorno con el fin de encontrar nueva información de un determinado tema.

- *Por el método de investigación:* La investigación presenta un enfoque cualitativo, ya que usa la recolección y el análisis de la información con el fin de afinar las preguntas de investigación o revelar nuevas interrogantes en el proceso de interpretación (Hernández et al., 2014: p.2-10).
- *Por el objetivo:* La investigación es teórica, su finalidad fue la obtención de nuevos conocimientos, sin tener en cuenta la aplicación de estos.
- *Por el nivel de profundización en el objeto de estudio:* Descriptiva, porque la difusión de la información se realizó a través de la descripción de investigaciones previamente realizadas.
- *Por la manipulación de las variables:* No experimental, porque no se realizó la manipulación deliberada de las variables.
- *Por el tipo de inferencia:* La investigación utiliza el método inductivo, el cual se basa en la obtención de conclusiones a partir de la observación.
- *Por el periodo temporal:* La investigación es longitudinal, ya que se recabo información en diferentes puntos del tiempo, desde el año 2011 al año 2021 para realizar inferencias acerca de cómo el problema de investigación ha ido evolucionando con el tiempo.

2.1.2. Unidad de Análisis

La unidad de análisis en la presente investigación son todos los artículos científicos de máximo 10 años de antigüedad publicados en revistas que presenten indexación SJR, los buscadores usados fueron: Scimago Journal & Country Rank; Redalyc; Hindawi, Latindex, Researchgate; Scielo; Only Way Library, Mendeley, Science Direct; Scopus; Springer link; Pubmed-NCBI, Taylor and Francis Online, Semantic Scholar, Nature, ProQuest, Oxford Academic, Cambridge Core Journal, ACS Publications, Plos, Elsevier, Scopus, CORE, y el buscador Google académico

acerca de los determinantes genéticos de resistencia a metales pesados y los mecanismos de acción, así como las aplicaciones a nivel ambiental y biotecnológico de cada uno de los determinantes genéticos.

2.1.3. Población de Estudio

Como población de estudio en esta investigación se consideró a todos los artículos que cumplieran con los parámetros establecidos para el estudio, y que se encuentren publicados en las diferentes bibliotecas virtuales, tales como Scopus, Scielo, Google Scholar, Mendeley, Google académico entre otros. De la cual se extrajo la información, tomando en cuenta los bioensayos a nivel de laboratorio realizados con bacterias que porten los determinantes de resistencia al arsénico, cadmio, cromato y mercurio, así como también los ensayos de resistencia a metales pesados con el fin de obtener la mayor cantidad de información disponible.

2.1.4. Tamaño de Muestra

En el presente estudio el tamaño de la muestra es infinito

2.1.5. Selección de muestra

La muestra fue seleccionada mediante bosquejos de artículos científicos tomando en cuenta variables como: año, base de datos del cual se extrajo el artículo, revista, idioma, título del artículo, resumen. Los filtros temáticos para la investigación fueron: determinantes de resistencia a metales pesados, bacterias resistentes a metales pesados, genes de resistencia a metales pesados, mecanismos bacterianos de resistencia a metales pesados, distribuciones de los genes de resistencia a metales pesados en bacterias, proteínas codificadas por determinantes genéticos, enzimas codificadas por determinantes genéticos, proteínas implicadas en los mecanismos de resistencia a metales, mecanismo de resistencia a metales en determinadas especies bacterianas, mecanismo de acción de las enzimas implicadas en la resistencia bacteriana a metales, X-ray Structure of enzyme, X-ray Structure of protein, microorganismos genéticamente modificados, biosensores con genes reguladores. También, se hizo uso de palabras clave, tales como *ars* operón, *mer* operón, *chr* operón, *cad* operón, *czc* operón. Adicionalmente, se usaron operadores booleanos con las palabras clave cómo: *ars* operón AND mechanism, *aio* operón AND mechanism, *mer* operón AND mechanism, *chr* operon AND mechanism, *cad* operon AND mechanism, *czc* operon AND mechanism; *ars* mechanism OR expression, *aio* mechanism OR expression, *mer* mechanism OR expression, *cad* mechanism OR expression, *chr* mechanism OR expression. Toda la información se buscó tanto en el idioma español e inglés con el fin de poder localizar,

determinar, establecer y seleccionar toda la información vigente disponible.

2.1.5.1. Criterios de selección

Como criterios de selección de muestra se consideró: Artículos científicos publicados en revistas de mayor impacto que posean indexación SJR, y que contengan información referente a: determinantes genéticos de resistencia a metales pesados, mecanismos de acción codificados por determinantes genéticos implicados en la resistencia bacteriana, de los artículos que cumplan los criterios de selección se excluyeron aquellos que no poseían información completa, como los genes que intervienen en el mecanismo de resistencia, aquellos que no especifiquen los productos de los genes implicados en la resistencia, información sin datos de los ensayos de resistencia, aquellos que no muestren el efecto del metal sobre el crecimiento bacteriano, aquellos que no muestren el porcentaje de retención del metal pesado ya sea por microorganismos o plantas, aquellos que no muestren la dinámica de la expresión de los determinantes genéticos de resistencia. En caso de encontrar un artículo repetido en varias publicaciones, se incluyó aquel publicado en una revista de mayor impacto o aquel publicado más recientemente.

2.1.6. Técnicas de Recolección de datos

Una vez definido el objeto de estudio, se realizó una búsqueda meticulosa a través de varias bases de datos que posean revistas que contengan artículos científicos de investigación. Debido a que el proyecto es de tipo investigativo, y se recolecta información de estudios previamente realizados, las técnicas aplicadas para la recolección de investigaciones se detallan a continuación:

- Búsqueda en diferentes bases de datos y revistas científicas
- Selección de la información que se establece en las diferentes investigaciones.
- Análisis y comparación de las investigaciones seleccionadas

Con el propósito de obtener y seleccionar la mayor parte de artículos científicos de calidad que presenten indexación SJR, se realizó una búsqueda profunda en el portan SJR (Scimago Journal and Country Rank) y en varias bases de datos. Finalizado el levantamiento y la obtención de la información, esta última fue organizada por título, autor, cuartil, y revista mediante el uso del gestor bibliográfico Mendeley, finalmente, la información fue analizada y comparada haciendo énfasis en los resultados de cada una de las investigaciones. Entonces, se describieron los hallazgos de los últimos 10 años y se consolidó la información de los artículos que resultaron relevantes y contenían la información requerida, de este modo se estructuró los resultados en base a los objetivos propuestos en la investigación.

CAPITULO III

3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN DE RESULTADOS

3.1. Determinantes genéticos de resistencia a metales pesados

En la Tabla 1-3, se identifica los principales determinantes genéticos, el metal al que otorga resistencia, su localización y la especie bacteriana portadora del determinante de resistencia.

Tabla 1-3: Determinantes genéticos de resistencia a metales en bacterias

Determinante genético	Metal	Genes	Localización	Especie bacteriana
ars	Arsénico	arsRBC	pI258	<i>Staphylococcus aureus</i>
			cromosoma	<i>P.fluorescens MSP3</i>
		arsRDABC	pKW301	<i>A. multivorum</i> AIU301
			plásmido R773	<i>E. coli</i>
		arsDABC	pSheB	<i>Shewanella sp.</i> O23S
		arsRBCH-arsRBCH-arsO-arsNI	pVH	<i>Pseudomonas putida</i> KT2440
		arsHRBC	pYV	<i>Yersinia sp.</i>
		arsBCHR	cromosoma	<i>A. ferrooxidans</i> AO1
		arsRacr3arsCDA arsRKacr3arsC	plásmido	<i>Bacillus sp.</i> PVR-YHB1-1
		arsRBC	cromosoma	<i>P.aeruginosa</i> PAO1
		arsR1-orf1-arsA-arsD-arsO-arsN arsH-dsp-gapdh-arsJ	cromosoma	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> DK2
		arsHBC1RC2	pALWED2.1	<i>Acinetobacter lwoffii</i> ED45-23
		arsHBC1RC2	pALWED3.1	<i>Acinetobacter lwoffii</i> ED5-9a
		arsADCI-arsRacr3C2C3-arsRI	plásmido	<i>R. aetherivorans</i> BCP1
		arsR2K-arsH-arsO-acr3-arsC1C2R1	isla genómica	<i>Agrobacterium tumefaciens</i> GW4
		arsR1acr3-arsC1-arsC1`arsR2acr3_2-arsC2	cromosoma	<i>Corynebacterium glutamicum</i>
		ars RCBH-arsRRCC-acr3-arsRM	cromosoma	<i>Rhodopseudomonas palustris</i>
		arsRDAB-arsR2C2acr3H	cromosoma	<i>Ochrobactrum tritici</i> SCII24 ^T
		arsP-arsR-arsC-acr3	cromosoma	<i>Campylobacter jejuni</i>
		aio	Arsénico	aioXSR- aioBA
aioAB	PSI07			<i>Ralstonia solanacearum</i> PSI07
aioBA - aioXSR	isla genómica			<i>Agrobacterium tumefaciens</i> 5A
aioBA- aioXSR	isla genómica			<i>A. tumefaciens</i> GW4
aioXSR - aioBA	NT26_p1			<i>Rhizobium sp</i> NT-26

		<i>aioAB</i>	isla genómica	<i>P.xanthomarina S11</i>
<i>cad</i>	cadmio	<i>cadAC</i>	cromosoma	<i>Listeria monocytogenes</i> EGDe
		<i>cadAC</i>	p6	<i>Bacillus vietamensis</i> 151-6
		<i>cadAC</i>	p25	<i>Bacillus marisflavi</i> 151-25
		<i>cadACD</i>	pGIAK1	Bacillaceae bacterium JMAK1
		<i>cadA1B1</i>	plásmido	<i>A. ferrooxidans</i> ATCC 23270
		<i>cadXD</i>	pUR3912	<i>S. aureus</i> ST398-t571
		<i>cadXB</i>	pII147	<i>S. aureus</i>
		<i>cadAR</i>	cromosoma	<i>P.aeruginosa</i> BC15
		<i>cadAR</i>	isla genómica	<i>P.putida</i> W619
		<i>czcCBA-czcRS</i>	TOL	<i>Pseudomonas putida</i> mt2
		<i>czcMNICBADRSEJ</i>	PMLO30	<i>C. metallidurans</i> CH34
		<i>czcNICBADRSJE_czcP</i>	pBS1 cromosoma	<i>C. metallidurans</i> BS1
		<i>czcCBAD</i>	pALWEK1.1	<i>Acinetobacter lwoffii</i> EK30A
		<i>czcCBA- czcCBA</i>	pHP-42	<i>Marinobacter adhaerens</i> HP15
				<i>czcDABC</i>
<i>chr</i>	cromato	<i>chrBA</i>	cromosoma	<i>E.coli</i>
		<i>chrFECAB</i>	pMOL28	<i>C. metallidurans</i> CH34
		<i>chrABF</i>	cromosoma	<i>C. metallidurans</i> CH34
		<i>chrBAC</i>	pUM505	<i>P.aeruginosa</i> PAO1
		<i>chrA</i>	cromosoma	<i>Shewanella oneidensis</i> MR-1
		<i>ch3S-chr3Nchr3C</i>	plásmido	<i>B. subtilis</i> 168
		<i>chrB1A1</i> <i>chrB2A2CF-cep-chrL</i>	cromosoma	<i>Cupriavidus neocaledonicus</i> STM 6070
		<i>chrAB</i>	pALWED3.5	<i>Acinetobacter lwoffii</i> ED9-5a
		<i>chrBA</i>	cromosoma	<i>Ralstonia solanacearum</i>
		<i>chrBACF</i>	cromosoma	<i>B. xenovorans</i> LB400
		<i>chrBAC</i>	pLA6	<i>Marinibacterium, anthonyi</i>
		<i>chrBACF</i>	TnOtChr	<i>Ochrobactrum tritici</i> 5bv11
		<i>chrBA</i>	plásmido	<i>Proteus mirabilis</i> PW4c
		<i>chrBA</i>	plásmido	<i>P.vermicola</i> PWAP3
<i>mer</i>	mercurio	<i>merRFTADE</i>	Tn5053	<i>Proteus mirabilis</i> PW4c
		<i>merRTPCAD</i>	pKLH2	<i>Acinetobacter calcoaceticus</i>
		<i>merREDACPT</i>	Tn21	<i>E. coli</i> XLI-Blue
		<i>merRTPAD</i>	pVS1 Tn501	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>
		<i>merRTPCADE</i>	pVS6 Tn502	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>
		<i>merRTAB</i>	Tn 6294	<i>Bacillus</i> sp.EOA1
		<i>merRTAP</i>	plásmido	<i>B. thuringiensis</i> PW-05
		<i>merRB- merRTPADE</i>	Tn3	<i>P.putida</i> W619
		<i>merRBDAC</i>	plásmido R471	<i>Serratia marcescens</i>
		<i>merRTPCADEB</i>	PALWED 1.1	<i>A. lwoffii</i> ED23-35
		<i>merRTP</i>	Tn5563	<i>P.pseudoalcaligenes</i>

Realizado por: Iza Joana, 2021.

La organización de los operones *ars* varía entre las diferentes cepas bacterianas; sin embargo, existen genes centrales que están prácticamente siempre presentes, un claro ejemplo es el operón *arsRBC* presente en *Pseudomonas fluorescens* MSP3 aislada de agua de mar, *Staphylococcus aureus* y en *Exiguobacterium antarcticum* B7 aislada de ambientes fríos (Kruger et al., 2013; Ordoñez et al., 2015). Otro conjunto de genes presente en muy pocos genomas bacterianos es el operón *arsRDABC*, este sistema se ha identificado en *Acidiphilium multivorum* AIU301 aislada de un drenaje ácido y en el plásmido R733 de *E. coli* (Andres y Bertin, 2016; Fekih et al., 2018: p.2). En todos estos genomas bacterianos se evidencia la presencia del gen *arsR*, no obstante, en *Shewanella* sp.O23, aislada del laboratorio de recursos minerales de China, *arsR* no se encuentra dentro del conjunto de genes *ars*, pero sigue regulando la expresión del operón, ya que está ubicado aguas arriba o aguas debajo de *arsDABC* (Uhrynowski et al., 2019: p.7).

El gen más frecuente en el entorno es *arsC*, su diversidad es producto de su funcionamiento en condiciones aeróbicas, anaeróbicas e incluso en amplios rangos de pH y temperatura, incluidos los extremos (pH 2,5 y 80 °C) (Xiao et al., 2016: pp.2-4; Suhadolnik et al., 2021: p.4). En contraste, se ha encontrado que *arsB* y *acr3* están ampliamente distribuidos en el genoma de bacterias resistentes al arsénico (Prieto et al., 2018: pp.26). Por su parte, Li et al., (2014) identifican de 205 bombas de salida de arsenito, que 150 pertenecían al gen *acr3*, estableciendo a este como la principal bomba de salida de As^{3+} en el orden *Burkholderiales*, principalmente, en la familia *Burkholderiaceae* (Li et al., 2014: p.6). Asimismo, *R. palustris* CGA009 obtenida de American Type Culture Collection, *Bacillus* sp.PVR-YHB1-1 aislada de raíces de *P.vittata*, *O. tritici* SCII24^T y 58 de 98 aislados de *Campylobacter* sp., portan el gen *acr3* (Zhao et al., 2015: pp.2-7; Jia et al., 2019: p.1066; Sousa et al., 2015: p.3; Shen et al. 2014: p.6). Por el contrario, el gen *arsB* ha sido identificado en *Thiobacillus ferrooxidans* AO1, *P.putida* KT2440, *P.aeruginosa* PAO1, *Ochrobactrum tritici* SCII24^T y está presente en 76 de 98 aislados de *Campylobacter* sp. (Jiang et al., 2015: p.7; Yang y Rosen, 2016: p.9; Fekih et al., 2018: p.3; Sousa et al., 2015: p.3; Shen et al. 2014: p.6). Curiosamente, *Sinorhizobium melilotis* carece de este par de determinantes, pero presenta el gen *aqpS*, para la resistencia al As^{5+} (Chen et al., 2021)

Los genes *arsA* y *arsD* están presentes en el genoma bacteriano de *Ochrobactrum tritici* SCII24^T, *Shewanella* sp.O23S, *Bacillus* sp.PVR-YHB1-1, *Pseudomonas aeruginosa* DK2, *Acidiphilium multivorum* AIU301 y en *E. coli*. En la cepa AIU301, se ha demostrado la función reguladora del gen *arsD* (Sousa et al., 2015: p.3; Uhrynowski et al., 2019: p.7; Jia et al., 2019: p.1066; Yang y Rosen, 2016: p.7; Fekih et al., 2018; Yu et al., 2015: p.12). Por otra parte, en algunos genomas bacterianos, como en *Bacillus* sp.PVR-YHB1-1 y *Bacillus* sp.CDB3 aislada de sitios con ganado, este par de genes siempre están juntos, porque presentan funciones interrelacionadas, es decir, el producto génico de *arsD* funciona como una metalochaperona, que transfiere arsénico al gen *arsA* y activa la bomba de salida de As^{3+} (Yu et al., 2015: p.12; Jia et al., 2019: p.1066; Yoshinaga y Rosen, 2014: p.7705).

Los operones *ars* confieren resistencia al arsénico inorgánico, pero también pueden acoplarse con otros genes *ars* para permitir la desintoxicación de compuestos organoarsénicos: *arsI*, *arsH*, *arsP*, *arsJ* y *arsK* (Yang et al., 2019: p.330; Fekih et al., 2018: p.2). Por el contrario, el gen *arsM* identificado en *R. palustris* CGA009 permite la generación de compuestos metilados, que se volatilizan rápidamente en el ambiente (Zhao et al., 2015: p.5). Firrincieli et al., (2019) ha identificado el gen *arsI* en varias cepas de *Rhodococcus sp.*, principalmente, en *Rhodococcus aetherivorans* BCP1 aislado de sitios contaminados (Firrincieli et al., 2019: p.6), también, mediante un análisis de más de 100 genes *arsI*, se encontró que no parece haber un gen *ars* específico asociado con *arsI* (Yoshinaga y Rosen, 2014: p.7705). Por otro lado, en *Pseudomonas putida* KT2440 y *Pseudomonas aeruginosa* DK2, se ha identificado el gen *arsO* y *arsN* (Firrincieli et al., 2019: p.6; Nadar et al., 2019: p.5).

El gen *arsH* está presente solamente en bacterias aeróbicas, como *Ochrobactrum tritici* SCII24^T, *Thiobacillus ferrooxidans* AO1 y *P.putida* KT2440 aisladas directamente del suelo (Chen et al., 2017: p.474; Sousa et al., 2015: p.3; Chang, Yoom y Kim; Páez et al., 2020: p.2230). Paralelamente, Mindlin et al., (2016) identifica en las cepas ED45-23 y ED5-9a de *A. lwoffii* aisladas del permafrost la presencia del gen *arsH* (Mindlin et al., 2016: pp.5-6). Por otro lado, Shen et al., (2014) identifican el gen *arsP* en 54 aislados (21 pollos, 14 pavos, y 19 humanos) de *C. jejuni*, con este estudio se evidencia la presencia del gen *arsP* en bacterias aeróbicas, no obstante, también puede estar presente en bacterias anaeróbicas (Shen et al., 2014: p.2023; Chen et al., 2017: p.474). Shi et al., (2018) identifican otro determinante de resistencia al arsénico; el gen *arsK* presente en *Agrobacterium tumefaciens* GW4 aislada de sedimentos de agua subterránea (Shi et al., 2018: p.2). Además, Chen et al., (2016) ha identificado en *P.aeruginosa* DK2 los genes *gapdh* y *arsJ*, lo que sugiere que en conjunto confieren resistencia al As⁵⁺ (Chen et al., 2016: p.945).

Existen bacterias con sistemas *ars* múltiples y redundantes que confiere niveles más altos de resistencia al arsénico y sus derivados, ahora bien, los niveles de resistencia no presentan correlación directa con el número de operones *ars* (Fekih et al., 2018: p.4). Se ha identificado en *R. palustris* CGA009 y *C. glutamicum* operones *ars* redundantes, cuya expresión difiere según los niveles de exposición al arsenito. En la cepa CGA009, *ars1* se expresa de manera constitutiva; *ars2* se expresa cuando las células se exponen a (0,01 µM – 1.0 mM), pero *ars3* que contiene el gen *arsM*, no se expresa cuando las células se exponen a 1,0 µM de As³⁺, lo que sugiere que *arsM* no es crítico para desintoxicar el As³⁺ en condiciones ambientales bajas (Zhao et al., 2015: p.5). De modo similar, en *C. glutamicum*, *ars1* se expresa constitutivamente y *ars2* se expresa cuando las células se exponen a concentraciones de 1mM de As³⁺ (Vidallangos et al., 2011: pp.1000-1010). Estos sistemas complejos de desintoxicación de As³⁺ evidencian que estas cepas deben estar equipadas para crecer y lidiar en ambientes con niveles altos de arsénico que pueden cambiar rápidamente.

Los genes *aio* son otro sistema de resistencia al arsénico, sin embargo, solo un pequeño número de bacterias portan este operón, siendo la oxidación del arsenito relativamente rara (Li et al., 2014: p.6). La organización de los genes *aio* puede diferir, ya sea por la presencia o ausencia de *AioXSR* (Koecher et al., 2015). Curiosamente, se ha identificado en el genoma de *R. solanacearum* PSI07 y en *P.xanthomarina* S11 aisladas de sitios fuertemente contaminados con arsénico los operones *aioAB*. En estas dos cepas, se ha observado la carencia de los genes reguladores *aioXSR*, lo que sugiere que estas cepas probablemente podrían haber perdido o no adquirido estos genes, ya que siempre se encuentran expuestas al estrés por arsénico (Li et al., 2014; Koecher et al., 2015: p.213). Por su parte, Li et al., (2013) en su estudio (con 55 cepas resistentes al arsénico) identificaron la presencia de los genes *aioAB* en 21 cepas; en contraste, solamente 12 cepas especialmente las *Alfa Proteobacterias* y *Beta Proteobacterias* presentaban los genes *aioXSR*, los autores establecen que los genes *aioAB* se distribuyen, principalmente, en *Proteobacterias*, *Chlorobi*, *Deinococcus-Thermus* y *Chloroflexi* (Li et al., 2013: p.2-8). Por el contrario, en el plásmido de *Rhizobium* sp.NT-26 aislado de una mina de oro, se ha encontrado los genes *aioXSR – aioBA* (Marchal et al., 2013: pp.937). De manera similar, en las islas genómicas de *Agrobacterium tumefaciens* 5A y *Agrobacterium* sp.GW4, se ha encontrado el mismo sistema de genes (Li et al., 2013: p.2-8). En consecuencia, resulta evidente que el determinante clave para la oxidación del As^{3+} es el gen *aioA*, este presenta una distribución ubicua encontrándose en todos los ambientes excepto a pH 10.8 (Suhadolnik et al., 2021: p.5).

En *B. thuringiensis* PW-05 aislado de la costa de Odisha, se ha identificado el determinante genético *merRTPA*, siendo el conjunto de genes más simples para la resistencia al Hg^{2+} (Dash et al., 2013). El operón *mer* es regulado por el gen *merR*, sin embargo, en los *Bacteroidetes* aislados del Alto Ártico, no está presente este gen, sino *arsR*, en consecuencia, es posible que *merR* sea un desarrollo posterior en la evolución del operón *mer*, que reemplaza a los genes reguladores *arsR* y genera sistemas *mer* más eficientes (Møller et al., 2013: p.61). Otro de los genes reguladores del operón es *merD*, se ha evidenciado la presencia de este gen en bacterias Gram negativas, en especial en las *Beta* y *Gamma Proteobacterias* (Boyd y Barkay, 2012: p.8; Naguib et al., 2018: p.65).

El gen *merA* es el determinante clave para la resistencia al Hg^{2+} , es específico y se encuentra omnipresente en el entorno (Ruuskanen y Poulain, 2020: p.788; Chenia y Jacobs, 2017: p.202). Mediante un análisis filogenético identificaron que en los *Bacteroidetes* aislados del Alto Ártico, el gen *merA* forma parte de un linaje temprano en la filogenia *mer*; mientras que en las *Beta* y *Gamma Proteobacterias*, *merA* parecían haber evolucionado recientemente (Møller et al., 2013: p.53). Paralelamente, se ha identificado en 215 cepas (de 272 cepas) la presencia del gen *merA*, principalmente, distribuido en *Proteobacterias*, *Firmicutes*, *Actinobacteria*, *Aquificae*, *Chloroflexi*, *Deinococcus/Thermus*, *Tenericutes*, *Nitrospira* y *Verrucomicrobia*. El gen *merA*, no

se encuentra en taxones y gremios microbianos completos y rara vez es identificado en anaerobios estrictos (Boyd y Barkay, 2012: pp.4-8). En contraste, la bacteria aeróbica, *Pseudomonas pseudoalcaligenes* carece de *merA*, por lo tanto, la resistencia al Hg²⁺ depende de una estrategia mediada por *merT* y *merP* (Zhang et al., 2020: p.5-9)

Los genes *merP* y *merT* son más comunes en los primeros operones de *Aquificae* y se distribuyen por todo el árbol filogenético (Boyd y Barkay, 2012: p.6). Por el contrario, Jan et al., (2016) en su investigación identificaron que de 18 cepas aisladas de sitios contaminados de la India, 14 aislados portaban el gen *merP* y solo 12 cepas el gen *merT*; principalmente, *Pseudomonas aeruginosa* ARY1 aislada del río Yamuna y *Klebsiella* sp.ND3 aislada de un drenaje en Delhi portaban el gen *merP* y *merT*. Además, *Klebsiella pneumonia* ND6 aislada del drenaje de Najafgarh portaba el gen *merP*, pero carecía de *merT*, por lo tanto, se evidencia que la función de *merT* es compensada por otro gen transportador o realizado solo por el gen *merP* (Jan et al., 2016: pp.55-56).

El gen *merB* es un componente del sistema de espectro ancho, cuya función es otorgar la resistencia a los organomercuriales. Mindlin et al., (2016) identifica el gen *merB* en la cepa *Acinetobacter lwoffii* ED23-35 aislada del permafrost. De modo similar, en el Tn 6294 de *Bacillus* sp.EOA1 aislada de Taiwan y *P.putida* W619 aislada de un suelo contaminado con níquel está presente el gen *merB* (Mindlin et al., 2016: pp.3-5; Matsui et al., 2016; Taghavi et al., 2011). Boyd y Barkay (2012) han identificado que 42 cepas, principalmente, distribuidas entre los *Bacteroidetes*, *Actinobacteria*, *Firmicutes* y *Proteobacterias* portan el gen *merB* en su genoma (Boyd y Barkay, 2012: pp.4-8). Paralelamente, se ha identificado la presencia del gen *merB* en las *Gamma Proteobacterias* aisladas del Alto Artico (Møller et al., 2013: p.53). A partir de estos ejemplos, resulta evidente la distribución de *merB* en bacterias Gram negativas, sin embargo, varios investigadores establecen que este gen es más común en bacterias Gram positivas (Naguib et al., 2018: p.65).

Los operones *mer* han aumentado sus complementos genéticos y por tal razón su diversidad funcional (Zheng et al., 2018: p.10). Los genes *merC*, *merF*, *merE*, *merH* y *merG* que codifican transportadores alternativos son comunes en operones asociados con linajes *merA* de evolución reciente (Boyd y Barkay, 2012: p.9). Curiosamente, mediante un análisis bioinformático y filogenético examinaron la distribución de los genes *mer* en todos los genomas microbianos secuenciados hasta diciembre 2011, identificando que el gen *merG* está presente (de 272 aislados) en 3 cepas de *Pseudomona* sp., y en 2 cepas aisladas del suelo, lo que sugiere la presencia de *merG*, solo en cepas que contengan el gen *merB* (Boyd y Barkay, 2012: p.9). El gen *merF* en *Proteus mirabilis* PW4c ha sido identificado como un transportador, en cambio, en *Pseudomonas stutzeri* 273 aislada de sedimentos de mar, *merF* es el determinante clave para la formación de flagelos y biopelículas en las bacterias marinas (Adekanmbi et al., 2019; Zheng et al., 2018: p.10).

En *E. coli* XLI-Blue, *Proteus mirabilis* PW4c y *P.aeruginosa* se ha identificado la presencia del gen *merC* y *merE* después de *merD* y se propone que estos genes pueden tener un rol crítico en el transporte de mercurio y metilmercurio a través de la membrana celular (Sone et al., 2017: p.1998; Adekanmbi et al., 2019: p.270-273). Boyd y Barkay (2012) han investigado la distribución de *merE* y *merF*, principalmente, entre *Firmicutes* y *Proteobacteria*. En contraste, la existencia de *merC* se ha evidenciado solamente en *mer* operones asociados con las *Beta* y *Gamma Proteobacterias* (Boyd y Barkay, 2012: p.8). Acorde a estos estudios, las cepas ED45-23 y ED9-5a de *Acinetobacter lwoffii* presentan los genes *merC* y *merD* en su genoma (Mindlin et al., 2016: pp.3-5).

El determinante de resistencia al cromato (*chr*), se ha detectado en varios géneros bacterianos. Adekanmbi et al., (2018) identifica (de 40 cepas aisladas de aguas residuales de impresión) los genes *chrAB* en *Pseudomona aeruginosa*, *Providencia vermicola* PWAP3 y *Proteus mirabilis* PW4c corroborando la distribución de los genes *chr* en los plásmidos de bacterias Gram negativas (Adekanmbi et al., 2019: p.270-273). De manera similar, este mismo sistema de genes se ha identificado en los plásmidos de 40 aislados de las *Enterobacteriaceae* (de 109 aislados nosocomiales) y en las cepas ED9-5a y EK30A de *Acinetobacter lwoffii* (Caballero-Flores et al., 2012: p.152; Mindlin et al., 2016: pp.5). En contraste, el gen *chrA* puede estar presente en plásmidos y cromosomas de *Proteobacterias* (*Shewanella oneidensis* MR-1), *Cyanobacteria*, *Actinobacteria* y *Firmicutes* (Baaziz et al., 2017: p.5; Caballero-Flores et al., 2012: p.152; Henson et al., 2015: p.2).

O. tritici 5bv11 y *B. xenovorans* LB400 contienen los genes *chrB*, *chrA*, *chrC* y *chrF* ubicados en el cromosoma y en un mega plásmido respectivamente (Morais Vasconcelos et al., 2011: p.402; Acosta-Navarrete et al., 2014: p.289). *Cupriavidus metallidurans* CH34 contiene 6 genes involucrados en la resistencia al Cr⁶⁺ (*chrI*, *chrB1*, *chrA1*, *chrC*, *chrE* y *chrF1*) en el plásmido pMOL28 y 3 genes (*chrA2*, *chrB2* y *chrF2*) en el cromosoma (Bazzis, 2018). No obstante, solamente *chrB* y *chrA* son esenciales para una alta resistencia al cromato (Pradhan et al., 2016: p.14-17). Branco y Morais (2016) establecen la importancia de los genes *chrC* y *chrF* para evitar la acumulación de ROS en las células sometidas a estrés por cromato; además, establecen una gran similitud entre el producto génico de *chrC* de la cepa 5bv11 con la Fe-SOD (ChrC) de *C. metallidurans* CH34 (Branco y Morais, 2016: p.2-6).

En contraste, el producto génico de *chrF* de *C. neocaledonicus* STM 6070 aislada de un suelo rico en níquel recolectado cerca del macizo de Koniambo y el producto del gen *chrI* de *Cupriavidus metallidurans* CH34 han sido identificados como represores transcripcionales del operón *chr* (Klonowska et al., 2020: p.11; Mergeay y Houdt, 2015: p.73). Sin embargo, esto difiere de varios estudios, en los cuales identifican que el gen *chrF* codifica para una superóxido dismutasa (Mn-SOD) (Branco y Morais, 2016: p.2-6). De manera similar, otro represor transcripcional es la proteína

ChrS de *B. subtilis* 168, la cual regula negativamente el operón *chr* por la unión de ChrS a la región reguladora de su propio gen, y lo regula positivamente por iones cromato, además, se encuentra ubicado aguas arriba de *chr3N*, por lo tanto, *chr3N* y *chr3C* expresados juntos confieren resistencia al cromato; de manera similar, este conjunto de genes, se ha encontrado en 40 cepas diferentes de *Bacillus sp.* (Verduzco y Julia, 2013: p.943-947).

El sistema de resistencia al cadmio mejor caracterizado en bacterias Gram positivas es el sistema *cad*, se ha identificado el conjunto de genes *cadCA* en *S. aureus* ATCC12600 aislado de un ambiente hospitalario, en *Bacillus vietamensis* 151-6 y *B. marisflavi* 151-25 aisladas de un suelo contaminado con cadmio (Hoogewerf et al., 2015: p.153; Yu et al., 2020: pp.7-9; Zhang et al., 2015: p.2-4; Parsons et al., 2020: pp.565-566). Por otro lado, en el genoma de la cepa JMAK1 de *Bacillaceae* aislada del ambiente confinado de la estación Concordia de la Antártica, se ha evidenciado la presencia de los genes *cadA*, *cadC* y *cadD* (Guo y Mahillon, 2013). Los genes *cadA* y *cadC* son críticos para la resistencia al Cd^{2+} , sin embargo, *cadC* de *S. aureus* ATCC12600 y *Bacillus firmus* no funciona como represor, sino como proteína accesoria para suministrar cationes a la bomba de salida (Hoogewerf et al., 2015: p.158).

Los genes *cadXD* son otro mecanismo menos definido de resistencia al cadmio y zinc; se ha identificado este sistema en *S. aureus* ST398-t571 aislado de una muestra nasal (Gómez-Sanz et al., 2013). Del mismo modo, se ha encontrado en el plásmido de *S. aureus* y de *A. ferrooxidans* ATCC 23270, el operón *cadXB* y *cadAB* respectivamente (Argudín et al., 2020; Chen et al., 2014). Adicionalmente, la resistencia al cadmio en *Pseudomonas aeruginosa* BC15 aislada de aguas residuales y *P. putida* W619 aislada de un sitio contaminado con níquel; se logra mediante la función de dos genes vitales *cadR* y *cadA* (Prabhakaran et al., 2018; Taghavi et al., 2011). Estos últimos conjuntos de genes descritos presentan grandes diferencias, por ejemplo, *cadX* regula positivamente el operón *cad*, mientras que *cadR* lo regula positiva y negativamente (Pearsons et al., 2020).

Un sistema de resistencia al Cd^{2+} , Co^{2+} y Zn^{2+} bien caracterizado en las bacterias Gram negativas es el sistema (*czc*). Jain y Bhatt, (2014) identificaron que *Pseudomonas putida* SB32 y *Pseudomonas monteilii* SB35 aisladas de las minas Semera, Palamau, e India contienen en sus plásmidos el sistema *czc* (Yu et al., 2020: p.2; Jain y Bhatt, 2014: p.300). Paralelamente, en las cepas ED23-35 y EK30A de *Acinetobacter Iwoffii*, se ha identificado el sistema *czcDABC* (Mindlin et al., 2016: p.6). En contraste, en *A. ferrooxidans* ATCC 23270 obtenida de American Type Culture Collection y en *Marinobacter adhaerens* HP15 aislada de un entorno marino, se ha encontrado los genes (*czcA*, *czcB* y *czcC*), además, se ha evidenciado que la bomba *czcABC* en la cepa HP15 es específica para zinc y que la ausencia de *czcD* en la cepa ATCC 23270, conlleva a la disminución de la resistencia al Co^{2+} (Chen et al., 2014; Stahl et al., 2015; Mazhar et al., 2020: pp.8-13). El

sistema *czcICBA* es el determinante central más conservado en el género *Cupriavidus*, por lo tanto, resulta evidente la presencia de este sistema en *Cupriavidus metallidurans* CH34 y *Cupriavidus metallidurans* BS1 (Nies, 2016: p.494; Mazhar et al., 2020: p.13).

3.2. Mecanismo de acción codificado por determinantes genéticos

A continuación, se definen los mecanismos de acción codificados por los principales determinantes genéticos implicados en la resistencia bacteriana a metales pesados

3.2.1. Mecanismo de acción codificado por el determinante genético ars

En *R. palustris* CGA009 y *C. glutamicum* debido a su similitud química con P, el As^{5+} ingresa a las células a través de transportadores de P (Zhu et al., 2014: p.447). En consecuencia, se ha demostrado que los genes *pst* y *pit* juegan un rol fundamental en la absorción del arsénico, por ejemplo, en *E. coli*, el As^{5+} se absorbe a través del transportador de fosfato inespecífico Pit (Villadangos et al., 2011: pp82). Sin embargo, *Ochrobactrum tritici* SCII24^T y *R. aetherivorans* BCP1, al estar expuestos a altas cantidades de As^{5+} , expresan un segundo transportador de fosfato, más específico: Pst, el cual permite discriminar los iones fosfatos de los iones arsenato más grandes evitando la entrada del As^{5+} a la célula (Sousa et al., 2015; Villadangos et al., 2011: pp82; Yan et al., 2019: p.330-331). Por otro lado, en *E. coli*, el As^{3+} se absorbe a través de las acuagliceroporinas, como el facilitador de glicerol GlpF y es probable que juegue un rol en el transporte de As^{3+} a través de la membrana celular (Kruger et al., 2013: p.10; Firrincieli et al., 2020).

3.2.1.1. Regulación transcripcional: arsR

Por lo general, la expresión del operón *ars* está regulada por el gen *arsR*, que codifica para el represor transcripcional de acción trans ArsR, que pertenece a la familia ArsR/SmtB. ArsR es una proteína homodimérica que responde a As^{3+} y controla la expresión de los genes restantes (Antonucci et al., 2017: p10.; Shen et al., 2013: p.5). En *R. palustris* CGA009 y en *C. glutamicum* cuando el As^{3+} está ausente, ArsR se une a la región del operador/promotor del operón y, por lo tanto, reprime la transcripción de los genes aguas abajo. En contraste, cuando el As^{3+} está disponible, ArsR se une a él y pasa por cambios conformacionales, lo que resulta en la disociación de la región del operador/promotor (Zhao et al., 2015: pp.6-7; Villadangos et al., 2011: pp82).

Los dos reguladores de *C. glutamicum* poseen 3 residuos de cisteína, 2 en el N-terminal Cis 15, Cis 16 y Cis 55 cercano del dominio de unión al ADN, en conjunto estos residuos conforman el sitio de unión tipo II para el As^{3+} (Villadangos et al., 2011: pp82). Por otro lado, ArsR en *A. ferroxidans* se compone de tres residuos conservados Cis 95, Cis 96 y Cis 102 ubicados en el extremo C-

terminal del represor y conformando el sitio de unión de tipo III para el As^{3+} (Prabaharan et al., 2020: p.8). Recientemente, se ha identificado un nuevo ArsR que responde a los organoarsénicos trivalentes en *S. putrefaciens* 200, SpArsR presenta tres residuos conservados Cis 83, Cis101 y Cis 102; los dos últimos forman el sitio de unión para los organoarsénicos trivalentes. También, SpArsR se puede convertir en un represor que responde a As^{3+} , mediante la introducción de una cisteína adicional (AfCis 102) que permite la unión del As^{3+} (Chen et al., 2017: pp.106-10).

3.2.1.2. Sistema de transportadores: *arsB*, *acr3*, *aqps*, *arsP*, *arsK* y *arsJ*

Los productos génicos de *arsB* y *acr3* llevan a cabo el mecanismo de expulsión del As^{3+} de la célula. *C. glutamicum* presenta dos permeasas Acr3 que trabajan juntas con diferente eficiencia para expulsar el As^{3+} sin usar ATP, CgAcr3-1 expulsa el 80% y CgAcr3-2 el 20% (Vidallangos, 2011: p.1009). CgAcr3-1 es un antiportador, que cataliza el intercambio arsenito-protón con los residuos conservados Cis129 y Glu 305 (Vidallangos et al., 2012: p.724). En contraste, mediante modelado en sílico de Acr3 de *Exiguobacterium sp.*S17 revelaron la presencia del residuo Cis 107, siendo la única requerida para la expulsión del As^{3+} . Por otro lado, *Exiguobacterium sp.*, aislada de lagos de los Andes Sudamericanos, presenta la bomba transportadora de As^{3+} y Sb^{3+} , denominada ArsB (Ordoñez et al., 2015). En contraste, ArsB de *C. jejuni* es diferente, ya que no cataliza la expulsión del Sb^{3+} (Shen et al., 2013: p.5-10). ArsB no presenta cisteínas conservadas y no hay tiolatos implicados en la translocación del As^{3+} ; además, han dilucidado que ArsB es un antiportador que extrae el As^{3+} , acoplado al gradiente electroquímico de protones mediante el intercambio de el As^{3+}/H^+ (Villadangos et al., 2012: p.724).

En *Bacillus sp.* cepa PVR-YHB1-1 y CDB₃, los productos génicos de ArsA y Acr3 trabajan juntos para mejorar la capacidad de bombeo de As^{3+} ; el gen *arsD* funciona como una metalochaperona, que transfiere As^{3+} a ArsA, para su extrusión por Acr3; para su actividad depende de las cisteínas conservadas Cis 12-13 y Cis 18 (Jia et al., 2019: pp.1065-1067). Sin embargo, para que ArsD sea considerada como represor, debe presentar dos pares de cisteínas vecinales C-terminales Cis112-113 y Cis119-120 como las identificadas en *E. coli* (Yu et al., 2015: p.11). Por otro lado, el complejo ArsAB es una bomba de eflujo de As^{3+}/Sb^{3+} impulsada por ATP; ArsA presenta 2 dominios de unión a nucleótidos y además, presenta las cisteínas conservadas Cis113, Cis 422 y Cis 172 que participan en la unión al metaloide y en la activación de la hidrólisis de ATP (Kruger et al., 2013). Cuando el As^{3+} , se coordina con los residuos de cisteína de ArsA, une las dos mitades de la proteína poniendo en contacto los dos sitios de unión a nucleótidos acelerando la catálisis; la liberación de energía de la hidrólisis del ATP en ArsA se trasduce a la subunidad ArsB de la bomba, impulsando el transporte del As^{3+} . Resulta evidente la importancia del gen *arsA* para una mayor expulsión del As^{3+} , por ejemplo, *Shewanella sp.*O23S presenta el gen *arsA* y *arsB*, por ello

la capacidad de salida de As^{3+} por ArsB es alta en comparación con *C. jejuni* que no posee el gen *arsA* (Uhrzynowski et al., 2019: p.7; Shen et al., 2013: p.5).

Sinorhizobium meliloti 1021 presenta un canal de AqpS para la resistencia al As^{5+} , se acopla con ArsC y reemplaza la función de ArsB para extraer el As^{3+} de la célula (Yan et al., 2019: pp.330-331). Chen et al., (2020) AqpS posee un canal de sustrato con un filtro de selectividad que posee el residuo Val 177, en lugar de la Arg presente en otros AQP, lo que sugiere la importancia de Val 177 para el movimiento del anión del metil arsenato a través del canal. El mecanismo de expulsión es el siguiente: el metil arsenito ingresa a las células de *S. meliloti* por AqpS, se oxida por ArsH a metil arsenato, el cual sale de las células a través de AqpS (Chen et al., 2021).

También, los organoarsénicos trivalentes se pueden extraer de la célula mediante el transportador de eflujo ArsP. Antiguamente, se creía que *arsP* de *Campylobacter jejuni* extraía organoarsenicales pentavalente (Yan et al., 2019: p.331; Shen et al., 2014: p.2023-2028). Sin embargo, Chen et al., (2015b) identifica el verdadero sustrato de CgArsP, siendo este los organoarsenicales trivalentes, esta proteína presenta los residuos conservados Cis 65 y Cis 67 que forman el sitio de unión para los organoarsenicales trivalentes (Chen et al., 2015b: p.626). En *Shewanella putrefaciens* 200, el SpArsR es inducido por los organoarsenicales trivalentes, regulando la expresión de *arsP* (Chen et al., 2017). En consecuencia, Chen et al., (2015b) propone un mecanismo de transporte: ArsP de *C. jejuni* emplea un sitio de unión que se expone alternativamente a los dos lados de la membrana. ArsP asume una conformación en la que la Cis 65 y Cis 67 en la hélice transmembrana (TM2) están expuestos al citosol. TM2 está distorsionada por residuos de prolina en cada lado de los dos residuos de cisteína para permitir que los dos átomos de azufre formen un sitio S-S con los organoarsénicos. Posteriormente, un cambio conformacional reorienta el sitio de unión para que quede expuesto al periplasma. TM2 se vuelve más helicoidal, interrumpiendo el complejo organoarsénicos-S2 y liberando los organoarsénicos en el periplasma (Chen et al., 2015b: p.632).

Por otro lado, los organoarsénicos trivalentes y los arsenicales inorgánicos pueden ser expulsados por *arsK*. En *A. tumefaciens* GW4 se propone un mecanismo en el cual ArsR₂ es un represor e interactúa con la región promotora del operón: *arsR₂-arsK*. El As^{3+} , Sb^{3+} , RoX^{3+} o MA^{3+} interactúa con ArsR₂ y cambia la conformación de la proteína. La conformación alterada de ArsR₂ libera su supresión del operón *arsR₂-arsK* y luego se expresa el gen *arsK* (Shi et al., 2018: p.10). Los resultados de alineación de secuencias mostraron que existen tres residuos (Cis97, Cis183 y Cis318) en ArsK de *A. tumefaciens* GW4 y que la Cis183 se conserva, los autores sugieren que una mutación en un residuo de cisteína no afecta la función de ArsK (Shi et al., 2018: p.10).

Un último sistema de transportadores para la resistencia al arsénico comprende el conjunto de

genes: *gapdh* y *arsJ*, descritos en *Pseudomonas aeruginosa* DK2. En esta vía de desintoxicación, el arsenato es captado por los transportadores de fosfato, posteriormente, GAPDH (gliceraldehído-3-fosfato deshidrogenasa) codificada por el gen *gapdh* cataliza la arsenilación de G3P (d-gliceraldehído-3-fosfato) y forma un organoarsénico inestable (1As3PGA) (1-arseno-3-fosfoglicerato) que se expulsa de la célula por la permeasa de eflujo ArsJ. El 1As3PGA extracelular es inestable y se hidroliza rápidamente en As^{5+} y 3PGA (3-fosfoglicerato) (Chen et al. 2016: pp.949-950).

3.2.1.3. Sistema de reducción de arsenato: *arsC*

El gen *arsC* codifica para el enzima arsenato reductasa, la cual usa para la reducción electrones del sistema redox celular, estos se transfieren desde NADPH (nicotinamida adenina dinucleótido fosfato) por la participación secuencial de tres nucleófilos diferentes, existen tres tipos diferentes de esta enzima; los miembros de la primera familia son homólogos de *arsC* localizados en el plásmido de *E. coli* y usan (GSH)/ (Grx) como donantes de electrones para la reducción de As^{5+} (Vidallangos et al., 2011). La segunda familia, comprende a los homólogos de *arsC* de *S. Aureus*, *Bacillus sp.*PVR-YHB1-1 y *T. thermophilus* HB27 que usan (Trx)/ (TrxR) (Kruger et al., 2013: p.3830; Jia et al., 2019: pp.1064-1065; Del Giudice et al., 2013). Sin embargo, en *C. glutamicum* y *R. aetherivorans* BCP1 ambas *Actinobacterias*; la expresión de CgArsC1, CgArsC2 y RaArsC1 depende de MSH/Mrx1, en cambio, CgArsC1` y RaArsC2 y RaArsC3 depende de Trx/TrxR (Villadangos et al., 2011: pp.990-999; Zhao et al., 2015: pp.6-7).

En *S. aureus* y *Bacillus sp.*PVR-YHB1-1, ArsC conserva los residuos Cis 10, Cis 82 y Cis 89, pero la cepa PVR-YHB1-1 también conserva la Cis 15. Del mismo modo, *T. thermophilus* HB27 conservada los residuos Cis 7, Cis 83 y Cis 90 (Jia et al., 2019: pp.1064-1065; Del Giudice et al., 2013: p.2077). El mecanismo de acción de SaArsC dependiente de Trx/TrxR, inicia con el ataque nucleófilico de Cis 10 sobre el As^{5+} formando un intermedio Cis10- As^{5+} . Posteriormente, Cis 82 realiza un ataque nucleófilico sobre la Cis10 y forma el intermedio Cis10-Cis82 provocando la liberación de As^{3+} . Finalmente, Cis89 ataca a Cis82 y forma el intermedio Cis82-Cis89 (Villadangos et al., 2011: pp82). En *R. aetherivorans* BCP1, el enlace sulfuro entre As^{5+} y ArsC se reduce a través de un sistema de Trx con la liberación de As^{3+} . La reducción del enlace tiol-disulfuro entre ArsC y Trx (ArsC-S-S-Trx) es catalizada por TrxR (Firrincieli et al., 2020).

En *C. glutamicum* y *R. aetherivorans* BCP1, las enzimas CgArsC1`, RaArsC2 y RaArsC3 presenta las cisteínas catalíticas conservadas en el dominio N-terminal Cis 88, Cis 162 y Cis 166 ubicados en el núcleo hidrofóbico, sin embargo, CgArsC1 y CgArsC2 presentan una sola cisteína conservada. Villadangos (2011) y Firrincieli et al (2020) proponen un mecanismo de acción para

ArsC dependiente de MSH/ Mrx. El ciclo de reacción comienza con el ataque nucleófilo de una de las cisteínas de ArsC sobre el As^{5+} , generando un enlace sulfuro entre el As^{5+} y el tiol de la cisteína Cis- As^{5+} . Posteriormente, otro ataque nucleófilo en este caso del MSH sobre Cis- As^{5+} , reduce el enlace disulfuro y forma un nuevo intermediario micotiol-arsenato (As^{5+} -SM) que es reducido por la micorredoxina (Mrx1) liberando el As^{3+} y un complejo (micotiol-micorredoxina) SM-Mrx1. Finalmente, SM se regenerará con la ayuda de otra molécula de MSH, formando la micotona (MS-SM) que se reducirá a micotioles con la ayuda de la enzima micotona reductasa (MTR) y NADPH (Villadangos et al., 2011: pp82; Firrincieli et al., 2020).

3.2.1.4. Metilación de arsénico por *arsM*

Rhodopseudomonas palustris CGA009 es capaz de liberar trimetilarsina volátil (TMA^{3+}) a través de la metilación de arsénico inorgánico por (ArsM). En esta cepa, *arsM* se induce por As^{3+} bajo la regulación de *arsR* a concentraciones > 1.0 μM de As^{3+} ; el nivel de transcripción de *arsM* aumenta con mayor concentración de As^{3+} (Zhao et al., 2015: pp.3-7). En contraste, *Bacillus sp.*(CX-1) aislada de un abono de estiércol, *P.alcaligenes* NBRC14159 aislada de un cultivo contaminado con *Chlorella* y *R. ferrireducens* T118 metilan As^{3+} a DMA^{5+} y generan DMA^{3+} y TMA^{3+} como productos volátiles; en estas cepas, el gen *arsM*, no es controlado por *arsR* y no es inducible por As^{3+} , mostrando una expresión constitutiva. BsArsM presenta 3 residuos conservados (Cis 10, 145 y 195), del mismo modo, PaArsM presenta 4 residuos conservados (Cis 24, 52, 145 y 195) característicos de las proteínas ArsM, sin embargo, solo Cis 145 y 195 son necesarias para la metilación (Huang et al., 2018; Zhang et al., 2015: p.2855-2857; Li et al., 2014: p.6).

3.2.1.6. Oxidación de organoarsénicos trivalentes: *arsH*

ArsH oxida los organoarsénicos trivalentes a pentavalentes en presencia de NADPH y FMN (Flavín mononucleótido) (Chen et al. 2015a). ArsH en *Y. enterocolitica* alivia la toxicidad del As^{5+} y As^{3+} al mediar la reducción de ROS producidos tras la exposición al oxianión, generando $FMNH_2$ para alimentar las actividades de extinción de ROS. En esta bacteria, ArsH posee los residuos conservados Cis11, Cis90 y Cis136 (Xue et al., 2014: pp.107-110; Paez et al., 2020: p.2235). En contraste, *P.putida* KT2440 posee los residuos (Arg 45 y Ser 48) esenciales para la resistencia al fenil arsénico y se prevé que el residuo Glu108 contribuya a la unión de FMN (Chen et al.2015). Por otra parte, se ha evidenciado que en *Shewanella putrefaciens* 200, el gen *arsR* regula la expresión de *arsH* (Chen et al., 2017). Por su parte, (Chen et al., 2015a) propone el mecanismo de acción para ArsH en *Pseudomonas putida* KT2440. La semirreacción reductora consiste en la formación de un complejo FMN-NADPH oxidado seguido de una transferencia de hidruro de NADPH a FMN, generando $FMNH_2$ y liberando $NADP^+$. En la parte de la semirreacción oxidativa del ciclo

catalítico, una molécula organoarsénica se coloca cerca del FMNH₂. La flavina reducida es oxidada por O₂, produciendo H₂O seguido de la oxidación del arsénico trivalente a su forma pentavalente. ArsH sigue esta vía solo cuando está presente un sustrato organoarsénico trivalente.

3.2.1.7. Desmetilación de organoarsénicas trivalentes:

Una vez que los organoarsénicos pentavalentes se absorben través de permeasas de fosfato o AQP, son reducidos a su forma trivalente y después son desmetilados a As³⁺ por ArsI o transportados por ArsP (Yan et al., 2019: p.332; Yoshinaga y Rosen 2014: p.7701; Chen et al., 2015b: pp.626-631). El gen *arsI* es una dioxigenasa dependiente de hierro no hemo, cuya actividad está controlada por *arsR*, *Rhodococcus aetherivorans BCP1* posee en su genoma los genes *arsRI*, en donde *arsR* codifica el represor ArsR sensible a organoarsénicos trivalentes y presenta la Cis 101 y Cis 102 conservadas; también ArsI conserva los residuos Cis 98 y Cis 99 que forman el sitio de unión de los organoarsénicos trivalentes, de modo similar, ArsI de *Bacillus sp.*MD1 conserva los residuos Cis96 y Cis97 (Firrincieli et al., 2019: pp.4-11; Yoshinaga y Rosen, 2014: p.7702-7704).

La actividad de ArsI depende de Fe²⁺ y usa oxígeno para romper el enlace C-As, los organoarsénicos se unen a la Cis 98 y esta Cis 98 se reposiciona para orientar el átomo de arsénico en el sitio activo, posteriormente, los organoarsénicos trivalentes se transfieren al sitio activo, esto activa el centro de metal para la unión del O₂, la unión de O₂ a Fe²⁺ permite la transferencia de electrones, convirtiendo el O₂ en un anión superóxido (O₂)⁻² que ataca a los organoarsénicos y forma un intermedio alquilperoxo-Fe²⁺, rompiendo el enlace C-As. Los productos finales tienen un átomo de oxígeno incorporado en el formaldehído y en el As (OH)₃ (ácido arsenioso); del mismo modo, con la Rox (III) el producto orgánico final es 4-hidroxi-5-nitro-hexa-2,4-dienal, dicha detoxificación ocurre en condiciones aeróbicas y anaeróbicas (Nadar et al. 2016: p.18).

3.2.2. Mecanismo de acción codificado por el determinante genético *aio*

3.2.2.1. Regulación de la transcripción

La transcripción de *aioBA* es inducida por el As³⁺ y en muchos organismos esta activación está controlada por AioXRS, situado aguas arriba de *aioBA*, también esta transcripción está mediada por el factor sigma alternativo de la ARN polimerasa, RpoN, que se asocia con AioR para iniciar la transcripción del operón *aioBA*. Por su parte, Kang et al., (2012) evidencia que (RpoN) es un requisito indispensable para la oxidación de As³⁺ en *Agrobacterium tumefaciens* (Kang et al., 2012: p.5638). Sin embargo, los genes *aioXRS* y el promotor dependiente de σ 54 (RpoN) en *P.xanthomarina* S11 están ausentes; por tal razón, los *aio* genes se expresan constitutivamente y

el correspondiente enzima es activo en ausencia y presencia de As^{3+} (Koechler et al., 2015: p.212). Del mismo modo, los genes *aioXRS* y las secuencias para la RpoN (-24, -12) aguas arriba de *aioBA*, no están presentes en *P. stutzeri* TS44, pero a diferencia de la cepa *S11*; la expresión de *aioBA* en TS44 depende de la presencia de As^{3+} , lo que sugiere que su transcripción está bajo el control del promotor *arsDA* ubicado aguas arriba de los genes *aioBA* en esta cepa, siendo estos regulados positivamente por la adición de As^{3+} (Li et al., 2012: p.4473).

Li et al., (2013) proponen un mecanismo para la regulación de *aioBA* mediado por *aioXSR*: AioX se une al As^{3+} y envía la señal a la histidina quinasa simulando la autofosforilación de AioS. Posteriormente, AioS autofosforilado, fosforila su regulador de respuesta afín AioR. El AioR fosforilado se une a la secuencia similar a un palíndromo, lo que lleva a la oligomerización de la actividad ATPasa, la energía conservada por AioR abrirá el complejo de polimerasa RopN-ARN e iniciará la transcripción (Li et al., 2013: p.7). Por su parte, Badilla et al., (2018) evidencian que en NT-26, la proteína periplásmica AioX presenta 3 residuos: dos tirosinas (Y88 y Y131) y la Cis106 involucrada en la unión del As^{3+} , además, los cambios conformacionales que sufre AioX permiten su interacción con AioS, dando lugar a la activación (Badilla et al., 2018). AioR regula la oxidación del As^{3+} mediante el control positivo de los genes de la oxidasa del As^{3+} , en contraste, Shi et al., (2017) establece que AioR en *Agrobacterium tumefaciens* GW4 también está involucrado en la represión de la motilidad, es decir, hay una correlación entre la quimiotaxis de As^{3+} y la oxidación bacteriana, la quimiotaxis positiva permite a las bacterias moverse hacia el As^{3+} , de modo que puedan obtener energía y transformar el As^{3+} mejorando la supervivencia (Shi et al., 2017: pp.3-7).

3.2.2.2. Oxidación por el arsenito oxidasa

Pacheco et al., (2013) propone un mecanismo de oxidación por el arsenito oxidasa: El As^{3+} ingresa a través de un orificio cónico en la superficie de la enzima, entrando en contacto con el Mo^{6+} embebido en la misma (AioA); después se da una transferencia de dos electrones, el As^{5+} es liberado por el mismo orificio de entrada y el molibdeno es reducido a Mo^{4+} (Pacheco Gonzales et al., 2013: pp.93-94). En NT-26, se ha evidenciado que AioA presenta residuos conservados que controlan el reconocimiento y la orientación del arsenito entrante (Warelow et al., 2013).

3.2.3. Mecanismo de acción codificado por el determinante genético *mer*

3.2.3.1. Regulación transcripcional: *merR*

La regulación del determinante *mer* en las Gram negativas es llevada a cabo por el producto génico de *merR*, que es un represor activador del operón, sin embargo, el operón *mer* de las Gram

positivas codifica una segunda proteína reguladora de la transcripción, denominada MerR2 (Chang et al., 2015). La regulación llevada a cabo por MerR es la siguiente: En ausencia de Hg^{2+} , MerR (proteína homodimérica) se une al operador torsionándolo y reprimiendo la transcripción de los genes estructurales; la ARNPol interacciona solo con el elemento -35 formando un complejo cerrado transcripcionalmente inactivo. En presencia de Hg^{2+} , MerR se une a una secuencia de ADN palindrómico en las regiones -35 y -10 de su ADN promotor. Tras la unión de Hg^{2+} , los cambios de conformación de MerR inducen un desenrollamiento del ADN en la secuencia operadora, este cambio favorece el alineamiento y el acercamiento de las cajas -35 y -10 quedando las mismas espaciadas y permitiendo la interacción de la ARNPol y la formación de un complejo abierto. Las proteínas MerR tienen gran afinidad por Hg^{2+} , además, en el dominio N- terminal está presente el sitio de unión al ADN (Wang et al., 2016).

En el Tn501 de *P.aureginosa* y Tn21 de *Shigella flexneri*, MerR unido al Hg^{2+} muestra una geometría de coordinación trigonal plana con los átomos S de tres residuos de cisteína conservados en el dominio C-terminal (Cis82, Cis117 y Cis126); se ha evidenciado que esta configuración planar es única para bacterias Gram negativas y Gram positivas (Wang et al., 2016; Guo et al., 2011: p.319). Curiosamente, las propiedades de unión al ADN y al metal de MerR2 difieren sustancialmente de MerR (Chang et al., 2015). Corroborando este estudio, se ha identificado solo la Cis50 presente en el MerR2 del Tn *MER11* de *Bacillus megaterium* MB1, mientras que hay tres residuos de cisteína conservados en el dominio C-terminal de MerR en *Bacillus sp.* Por tal razón, se evidencia la función reguladora incompleta de *merR2* (Matsui et al., 2016: p.5)

3.2.3.2. Secuestro del mercurio y sistema de transportadores

El gen *merP* codifica para una proteína periplásmica MerP, la metalochaperona MerP elimina el Hg^{2+} o el CH_3Hg en el periplasma y lo transfiere a los diferentes transportadores transmembrana (MerF, MerT, MerC o MerE) (Sone et al., 2013a; Sone et al., 2017: p.1998). En el Tn501 de *Pseudomonas aeruginosa*, el Hg^{2+} en el espacio periplásmico es inicialmente secuestrado por el par de grupos tiol (Cis 33 y Cis 36) en MerP y posteriormente, transferido al par de grupos tiol (Cis 24 y Cis 25) ubicados en el primer dominio transmembrana de MerT. A continuación, el Hg^{2+} unido se pasa a través de la membrana hasta el par de cisteínas (Cis76 y Cis82) situados en la cara citoplasmática en MerT (Ly et al., 2014: pp.1-2). Desde MerT, el Hg^{2+} pasa a MerA, cuyo sitio de unión al sustrato está en el C-terminal (Cis 558 y Cis559) (Sone et al., 2017: p.1998). Acorde a este estudio (Sone et al., 2013a) identificaron un par de cisteínas localizadas en las primeras regiones transmembrana de MerT, presente en *Pseudomonas* K-62 expresada en *E. coli*.

En el transporte del CH_3-Hg está implicado el producto génico del gen *merE*. Sone et al., (2017) demostraron por primera vez que (Cis28 y Cis30) dentro del primer dominio transmembrana de

MerE y el residuo de histidina (His51) en la cara periplásmica, situado entre el primer y segundo dominio transmembrana de MerE, puede ser necesarios para el transporte de CH_3Hg a través de la membrana bacteriana mediado por MerE; sin embargo, evidencian que el residuo His 31 está involucrado en el transporte de Hg^{2+} (Sone et al., 2017: p.1997). De modo similar, *merF* y *merC* del Tn21 de *Shigella flexneri* fue clonado en *E. coli* e identificaron que sus productos génicos poseen un par de cisteínas en el primer dominio transmembrana: Cis-Pro-Cis y Cis-Ala-Ala-Cis respectivamente (Sone et al., 2013a). Por otro lado, usando simulaciones de dinámica molecular caracterizaron la dinámica de MerF unido al Hg^{2+} Hwang et al., (2020) plantean la siguiente hipótesis: al recibir el Hg^{2+} de MerP el par de cisteínas (Cis21 y Cis22) de MerF lo transfiere a Cis 71 y Cis 72. Tras recibir el ion Hg^{2+} , la Cis 71 y Cis 72 lo transfiere a MerA en el citoplasma. MerF presenta dos pares de cisteínas, casi universalmente conservadas, debido a su hipotética función en el transporte de Hg^{2+} (Sone et al., 2013a). Asimismo, residuos como la Pro (25, 49 y 4) están muy conservados en MerT (Hwang et al., 2020: pp.8-9; Sone et al., 2013a). De modo similar, las proteínas MerP, MerC y MerE presentan un residuo de prolina conservado en el sitio C-terminal (Sone et al., 2013a).

3.2.3.3. Reducción de Hg^{2+} a Hg^{0+} por *merA*

Para competir con otros tioles celulares por su sustrato (Hg^{2+}), cada cadena del dímero MerA contiene tres pares de cisteínas muy conservadas, que sirven como sitios de unión para la transferencia de Hg^{2+} y proporcionan una plataforma para su reducción. Muchas variantes de MerA poseen dominios N-terminales unidos al núcleo catalítico de la enzima (Hong et al., 2014: p.393). Matsui et al., (2016) demuestra que MerA del Tn 6294 de *Bacillus sp.*, presenta un solo dominio de unión a mercurio (N-terminal), mientras que MerA codificado por las cepas MB1 y RC607 presentan dos dominios N (Matsui et al., 2016). En consecuencia, la presencia de los dominios NmerA aumenta la accesibilidad de MerA al Hg^{2+} ; por lo tanto, cuando existen bajas concentraciones de tiol, resultan esenciales para la rápida adquisición, localización y transferencia de Hg^{2+} al sitio catalítico para su reducción y desintoxicación mejorando de este modo la supervivencia celular (Hong et al., 2014: pp.398-399).

Lian et al., (2014) conjuntamente con Johs et al., (2011) proponen un mecanismo de acción para la reducción de Hg^{2+} mediado por el producto génico de *merA* presente en el Tn 501 de la bacteria mesófila, *Pseudomonas aeruginosa*: Los residuos conservados Cis11 y Cis14 están presentes en el dominio N- terminal de MerA, NmerA se une y entrega el Hg^{2+} al par de cisteína C-terminal, Cis 558 y Cis 559 (Johs et al., 2011). Después de que el Hg^{2+} se une a este par de cisteínas, el extremo C-terminal cambia de conformación para mover el complejo desde la superficie al interior de la proteína, donde el Hg^{2+} se transfiere a dos cisteínas del sitio catalítico activo (Cis 136 y Cis 141),

localizadas contiguo a FAD (Flavín adenín dinucleótido). Posteriormente, el sustrato (NADPH) transfiere un hidruro a FAD, produciendo FADH⁻ reducido en 2 electrones y NADP⁺ oxidado. Luego, FADH⁻ reduce el complejo Cis141-S-Hg²⁺-S-Cis136 para producir Hg⁰ que finalmente es volatilizado (Lian et al., 2014: p.7212). De manera similar Sayed et al., (2013) han evidenciado que la enzima MerA de ATII-LCL aislada de un sitio con alto contenido de sal, mercurio, y elevadas temperaturas presenta los residuos esenciales Glu 15 y Glu 16 junto al sitio de unión al metal en el dominio NmerA, siendo estos esenciales para una máxima eficiencia de unión y entrega de Hg²⁺ al núcleo catalítico de la enzima para su reducción (Sayed et al., 2014).

3.2.3.4. Desmetilación de metilmercurio por *merB*

La resistencia a la forma orgánica (CH₃-Hg) se logra mediante el producto del gen *merB*, que codifica una liasa organomercurial (MerB) ubicada en el citoplasma. Cuando CH₃-Hg entra en el citoplasma por medio de porinas, MerB corta el enlace Hg²⁺-C y libera Hg²⁺ en el citoplasma (Yoshinaga y Rosen, 2014). El producto génico de *merB* del plásmido R831b presenta 4 residuos muy conservados en un gran número de proteínas *merB*: Cis96, Cis117, Cis159 y Cis160, sin embargo, solamente Cis96, Cis159 y Asp 99 son los residuos catalíticos clave para la actividad enzimática y la unión a metales (Guo et al., 2011: p.318; Wahba et al., 2016: p.3-17). Curiosamente, el Asp 99 puede ser remplazado por la serina, esto se ha documentado en la proteína MerB2 de *B megaterium* que conserva los residuos Cis 102, Cis 195 y Ser105. Generalmente, los operones *mer* que expresan variantes que contienen serina, también expresan una segunda proteína MerB con un ácido aspártico en el sitio activo (Wahba et al., 2016).

Guo et al., (2011) define dos mecanismo de acción llevado a cabo por *merB*: En el primer mecanismo, el CH₃-Hg se une primero a uno de los dos residuos de cisteína del sitio activo (Cis96 o Cis159) (Silva y Rodrigues, 2015: p.1). La otra cisteína dona un protón al grupo saliente (CH₃⁻), lo que resulta en la escisión del enlace Hg-C y la formación de metano. En el segundo mecanismo: El CH₃-Hg se une a una de las dos cisteínas del sitio activo, sin embargo, en lugar de protonar el grupo saliente directamente, la otra cisteína transfiere un protón a Asp 99. Este paso intermedio permite que ambas cisteínas se coordinen con el metilmercurio. Tras la coordinación, el Asp 99 protona el (CH₃⁻) saliente y produce los productos de ruptura, siendo Hg²⁺ y metano (Guo et al., 2011: p.319). Posteriormente, se da la transferencia secuencial del Hg²⁺ a las cisteínas vecinales de MerA, cuya función es la reducción del catión a su forma metálica (Silva y Rodrigues, 2015: p.2).

3.2.4. Mecanismo de acción codificado por el determinante genético *chr*

El gen *chrB* codifica para un regulador de la expresión del gen *chrA*, este codifica una supuesta

proteína de salida de cromato impulsada por el potencial de membrana (Viti et al., 2014: pp.636). En *Lysinibacillus sphaericus* Ot4b.31, el Cr^{6+} al ser análogo estructural del sulfato (SO_4)⁻² ingresa a las células a través de sistemas de absorción de sulfato (Rangel y Dussan, 2018: p.59). Si las bacterias poseen cromato reductasas intracelulares, el Cr^{6+} se reducirá a Cr^{3+} (Joutey et al., 2014). De lo contrario, el Cr^{6+} acumulado dentro de la célula induce el operón *chr* y activa la bomba de salida de cromato (Rangel y Dussan, 2018: p.59). Por lo tanto, la célula bacteriana se protege de la toxicidad, al expulsar el Cr^{6+} fuera de la célula (Joutey et al., 2014)

3.2.4.1. Regulación transcripcional: *chrB*

En *O. tritici* 5bv11 y *Lysinibacillus sphaericus* Ot4b.31; ChrB se induce por Cr^{6+} y esta interacción evita que ChrB se una a la región promotora, en consecuencia, hay una desrepresión del sistema que conduce a la expresión de los genes estructurales (Morais Vasconcelos et al., 2011; Rangel y Dussan, 2018: p.59). En contraste, la proteína ChrB de *C. metallidurans* CH34 activa el sistema *chr* en respuesta tanto al cromato como al sulfato (Morais Vasconcelos et al., 2011). Verduzo y Julia (2013) establecen que en *B. subtilis* 168, *chrS* regula negativamente la expresión del operón *chr3N-chr3C* mediante su unión específica a la región reguladora de su propio gen y sugieren que el Cr^{6+} actúa como un efector capaz de superar esta represión (Verduzo y Julia, 2013).

En *O. tritici* 5bv11 se detectó el residuo conservado Cis 213, sin embargo, se evidenció que no funciona como un sitio para la unión al Cr^{6+} ; los ensayos de fluorescencia revelaron que la Arg 180, Arg 187 e His 229 influye en la respuesta de ChrB al cromato, lo que sugiere que ChrB exhibe dos dominios funcionales con distintos roles; el N-terminal responsable de la unión al ADN y el C-terminal responsable de la unión al metal. Asimismo, Arg 18 y la Arg 23 en el extremo N terminal están implicados en la unión de la proteína al operador de ADN (Branco y Morais, 2013: pp.7-10). Por otro lado, en *S. oneidensis* al carecer del gen *chrB*, la regulación de la expresión de *chrA* depende de una proteína reguladora diferente a ChrB (Baaziz et al., 2017: p.13).

3.2.4.2. Sistema de expulsión: *chrA*

A diferencia de otros sistemas de resistencia a metales, los genes *chrA* proporcionan protección contra Cr^{6+} solo en el rango submilimolar. *P.aeruginosa*, *Alcaligenes eutrophus* y *Lysinibacillus sphaericus* Ot4b pueden expulsar Cr^{6+} por eflujo activo a través de la bomba ChrA (Joutey et al., 2014) (Cervantes, 2017, p.100; Rangel y Dussan, 2018: p.59). Al ser los iones sulfato y molibdato idénticos en estructura y tamaño al cromato, tienden a competir con este cuando se unen a la proteína transmembrana ChrA, esto reducirá la posibilidad de unión al cromato y la disminución de la salida de Cr^{6+} (Gupta et al., 2013). Por otro lado, una fuerte activación de la bomba de eflujo ChrA podría conducir a la coextrusión de sulfato, resultando en condiciones de carencia de azufre y,

por lo tanto, condiciones no aptas para el crecimiento (Viti et al., 2014: pp.636).

Usando vesículas membranales invertidas, se ha demostrado que la proteína CHR bidominio (ChrA) de *P.aeruginosa* funciona como una bomba quimiosmótica, que es impulsada por la fuerza protón motriz para expulsar el Cr^{6+} del citoplasma hacia el espacio periplásmico. PaChrA contiene la mayoría de los residuos esenciales en la mitad N-terminal de la proteína. Por otro lado, en las proteínas CHR monodominio: Chr3N-Chr3C de *B. subtilis*, el C-terminal de Chr3N está ubicado en el citoplasma, mientras que el C-terminal de Chr3C está ubicado en el periplasma (Martínez-Valencia et al., 2012: p.119). Esta disposición anti paralela es importante para el transporte, ya que permite la disposición de 2 estados conformacionales (hacia adentro y hacia afuera) de forma simétrica con respecto a ambos lados de la membrana (Radestock y Forrest, 2011: p.710).

3.2.5. Mecanismo de acción codificado por el determinante genético cad

3.2.5.1. Regulación transcripcional: cadC

El gen *cadC* codifica para un represor homodimérico, la proteína CadC, miembro de la familia ArsR/SmtB que se disocia del operador/promotor de *cad* tras la unión de Cd^{2+} ; este ion al ser análogo del manganeso, el sistema de transporte de manganeso lo transporta al interior de la célula de manera aún más eficiente que el manganeso mismo (Yu et al., 2020: p.8). CadC de *S. aureus* tiene un sitio de unión al Cd^{2+} , Pb^{2+} , Zn^{2+} compuesto por: Cis7, Cis11 en el dominio N-terminal de un monómero y Cis58 y Cis60 del otro monómero, además, contiene el sitio de tipo II, compuesto por el Asp101, His103, His114 y Glu117 (Prabaharan et al., 2020). De manera similar *B. vietnamsis* 151–6 y *B. marisflavi* 151–25 presentan 4 residuos de cisteína conservados similares a los de *S. aureus* (Yu et al., 2020: p.8). Paralelamente, la cepa ATCC12600 de *S. aureus* presenta tres residuos que conforman el sitio de unión al metal de tipo I, compuesto por Cis 6, Cis 57 y Cis 59 y también presenta tres de los cuatro residuos que conforman el sitio de tipo II, conformado por Asp 100, His 102 y Glu 116 (Hoogewerf et al., 2016: p.153). Por el contrario, CadC de *L. monocytogenes* EGDe carece del sitio de unión a metales de tipo II, pero presenta el sitio de tipo I, compuesto por Cis6, Cis10, Cis57 y Cis 59. Esta cepa permite una regulación diferencial de *cadA*, *cadC* y *lspB*, siendo la primera bacteria que usa un represor de la bomba de eflujo de Cd^{2+} para controlar genes no relacionados con la resistencia (Pombinho et al., 2017: p.1477). Además, presenta el sitio de unión al ADN (HTH).

En contraste, se ha evidenciado la función reguladora de CadR, miembro de la familia Mer, que presenta el sitio de unión al ADN en el dominio N-terminal y tiene 2 sitios de unión a metales en el extremo C-terminal. CadR de *P.aeruginosa* BC15 reprime su propia expresión y la de *cadA* en

ausencia de Cd^{2+} , pero se induce en su presencia. El sitio de unión de tipo I está compuesto por Cys (77, 112 y 119) y Asn 8 encontrados en el C- terminal, y el sitio de tipo II está formado por (His87, His90 y Glu). Los residuos de cisteína son importantes para iniciar la expresión de CadR, este se une a una secuencia similar a un palindromo entre la caja -35 y -10, CadR se altera al unirse el cadmio y permite a la ARNPol acceder al sitio completo del promotor para la transcripción (Prabhakaran et al., 2018). Al unirse el Cd^{2+} al sitio I, desencadena la orientación del dominio C-terminal, cambiando el promotor de un estado represor a un estado parcialmente distorsionado. Así, con una mayor unión de Cd^{2+} al sitio II, CadR se estabiliza en una conformación de unión de ADN óptima y se transforma en un activador estable. Usando este mecanismo de unión cooperativo CadR distingue el ion Cd^{2+} del Zn^{2+} y Pb^{2+} (Liu et al., 2019).

3.2.5.2. Sistema de expulsión

El gen *cadA* expulsa el cadmio para evitar la acumulación de este en el citoplasma, se ha demostrado mediante vesículas membranales invertidas que *cadA* de *S. aureus* acumula el cadmio en un proceso dependiente de ATP, la proteína CadA en la región N-terminal presenta los residuos conservados (Cis 23 y Cis 26) que se sugieren son los sitios de unión al Cd^{2+} (Yu et al., 2020: p.2). De manera similar, CadA de *L. monocytogenes* EGDe presenta 2 residuos Cis 14 y 17 para la unión al Cd^{2+} y alternativamente al Zn^{2+} (Pombinho et al., 2017: p.1477). Por otro lado, se ha identificado que CadA de *S. aureus*, *B. vietamensis* 151–6 y *B. marisflavi* 151–25 presentan un tripeptido conservado (Cis-Pro-Cis), que intervienen en la translocación de cationes, es decir, la Pro está involucrada en el movimiento conformacional asociado con la apertura y cierre del canal de la membrana (Yu et al., 2020: p.8).

CadA presenta 8 dominios transmembrana que se mueven entre sí durante el ciclo de reacción (Pombinho et al., 2017: p.1470), además, presenta los dominios citoplasmáticos, de unión a nucleótidos (N), fosforilación (P) y activador/fosfatasa. Por su parte, Schmidt et al., (2012) establece que en el mecanismo de CadA solo se requiere de ATP. Durante el ciclo de transporte, CadA de *S. aureus* es fosforilada por ATP probablemente en el residuo conservado Asp 415. Dicha fosforilación ocurre por la unión de ATP al sitio de unión a nucleótidos, permitiendo una proximidad del gamma fosfato de ATP con el aspartato, en consecuencia, el ADP abandona la enzima. Posteriormente, la fosforilación induce cambios en la conformación de la proteína, de modo que permite que el cadmio sea liberado al exterior. Finalmente, la liberación del Cd^{2+} induce la defosforilación del resto de aspartato, siendo la forma desfosforilada más estable y generando un cambio conformacional al estado inicial (Schmidt, 2012). Por el contrario, Tynecka et al., (2016) propone un mecanismo para la cepa *S. aureus* 17810R en el cual la cual CadA utiliza energía celular: ATP, potencial electroquímico de protones y protones respiratorios, para extruir el Cd^{2+}

y proponen el siguiente mecanismo: dos Cd^{2+} ingresan a través del uniportador de Mn^{2+} , la unión de Cd^{2+} a CadA provoca la fosforilación de la proteína por ATP, y un cambio de conformación de la cara citoplasmática al periplasma. En consecuencia, un mayor número de protones bombeados a través de la cadena respiratoria compiten con el Cd^{2+} externo y se unen a sitios de superficie de baja afinidad en CadA. Finalmente, los protones contratransportados hacia abajo (potencial de membrana) a través del canal, extruyen dos Cd^{2+} a través del intercambio Cd^{2+} / H^+ .

3.3. Potencial biotecnológico de los determinantes genéticos.

La tabla 2-3, detalla los avances más actuales en el desarrollo de biosensores mediante el uso de genes reguladores: *arsR*, *merR*, *cadC*, y *chrB*

Tabla 2-3: Biosensores basados en diferentes genes de resistencia a metales pesados

Biosensor	Rango de detección	Bacteria Modificada	Gen bacteriano	Referencia
Biorreportador bioluminiscente para la evaluación de la contaminación por arsénico en muestras de agua de la India	0,74 a 60 $\mu\text{g/L}$ As^{3+}	<i>E.coli</i> DH5 α	<i>arsR-lux</i>	(Sharma et al., 2013)
Biosensor bacteriano a base de color de bajo costo para medir el arsénico en el agua subterránea.	10 a 500 $\mu\text{g/L}$ As^{3+}	<i>E. coli</i> DH5 α	<i>arsR-lacZ</i>	(Huang et al., 2015)
Biosensor bacteriano para la detección de mercurio en soluciones líquidas.	10^{-4} y 10^{-8} M Hg^{2+}	<i>E. coli</i> BL21 (DE3).	<i>merR-gfp</i>	(Roointan et al., 2015)
Biosensor de quimera de proteína fluorescente MerR para una detección rápida y sensible de Hg^{2+} en el agua potable	0.5 a 40 nM de Hg^{2+}	<i>E. coli</i> T7-Rosetta	<i>merR-YFP</i>	(Özyurt et al., 2019)
Biosensor bacteriano de células completas para la detección de cadmio.	1 mM 1 μM 10nM Cd^{2+}	<i>E. coli</i> BL21 (DE3).	<i>cadC-gfp</i>	(Wu et al., 2018)
Bioinformadores de células enteras altamente sensibles y altamente específicos para la detección de cromato en muestras ambientales	1 μM a 50 μM Cr^{6+} 0.1- >50 μM Cr^{6+}	<i>O. tritici</i> <i>E. coli</i>	 <i>chrB-gfp</i>	 (Branco et al., 2013)

Realizado por: Iza Joana, 2021.

Una mayor familiaridad con el circuito regulador de los determinantes, como *ars*, *mer*, *chr* y *cad*, se ha aprovechado y utilizado para desarrollar biosensores. Sharma et al., (2013) enfocan su investigación en la elaboración de un biosensor para evaluar la contaminación por arsénico en muestras de agua; *Escherichia coli* DH5 α fue alterada para producir luz cuando entra en contacto con iones de As^{3+} . La parte sensitiva del sensor es *arsR* aislado de *E. coli* de tipo salvaje. Unieron el gen *arsR* con su operador/promotor, el sitio de unión para la proteína de ArsR y el gen

informador *lux* (sin promotor) que codifica la bioluminiscencia. El biosensor mostro un rango de detección de 0,74 a 60 $\mu\text{g/L As}^{3+}$, la luz fue emitida a los 30 minutos de exposición célula-arsénico, y a las 2 h se obtuvo resultados estables y confiables. Este biosensor detecta rangos más bajo que el límite permitido por la OMS (10 $\mu\text{g/L}$); sin embargo, solo ha sido probado a nivel de laboratorio, por lo tanto, su uso in situ requiere de pruebas, ya que el mantenimiento del cultivo bacteriano es difícil de controlar fuera del laboratorio (Sharma et al., 2013; OMS, 2006).

En contraste, generaron un biosensor con mayor capacidad de detección de arsénico; este biosensor basado en color se construyó usando el operador/promotor de *ars*, el gen *arsR* de *S. aureus*, y el gen *lacZ*; para su construcción el casete del gen recombinante *arsR-lacZ* fue insertado en la cepa de *E. coli* DH5. A diferencia del primer biosensor, su rango cuantitativo de detección fue de 10 a 500 $\mu\text{g/L}$ de As^{3+} y en un tiempo de reacción de 3 h se evidenció el color azul visible. Este biosensor provee una señal de color confiable, siendo útil para la detección rápida del As^{3+} , es de fácil uso y económico, además, su actividad de respuesta al As^{3+} se pierde totalmente en el día 10. Sin embargo, es necesario considerar que el análisis cuantitativo de muestras ambientales y la aplicabilidad de la detección de As^{3+} mediante biosensores basados en colores aún no se han estudiado ampliamente, limitando su uso in situ (Huang et al., 2015).

Paralelamente, el desarrollo de bioinformadores para la detección de cromato, se basan en la expresión de *gfp* bajo el control del promotor *chr* y el gen regulador *chrB* de *Ochrobactrum tritici* 5bv11. *Escherichia coli* y *Ochrobactrum tritici* fueron diseñados para emitir fluorescencia en presencia de Cr^{6+} . El biosensor de *Escherichia coli* demostró ser específico y sensible, su rango de detección fue de 0.1 μM a 50 μM y la máxima fluorescencia se alcanzó a las 5 horas, pero a las 3 h la señal de la fluorescencia fue lo suficientemente alta. En *Ochrobactrum tritici* el rango de detección fue de 1 μM a >50 μM , en este rango se dio la saturación de la señal de fluorescencia. Los 2 biosensor resultaron ser específicos y proporcionan usabilidad en campo, pudiendo ser una herramienta poderosa para la identificación de sitios contaminados con Cr^{6+} , además es económico en comparación de los métodos tradicionales, otra ventaja a considerar es su insensibilidad a grandes concentraciones (μM o mM) de otros metales, que podrían ser tóxicos o inferir con las células enteras (Branco et al., 2013).

A continuación, en la tabla 3-3 se detalla los microorganismos o plantas modificados genéticamente para expresar determinantes de resistencia.

Tabla 3-3: Plantas y bacterias transgénicas que expresan genes de resistencia a metales

Planta o microorganismos modificado	Gen bacteriano	Nivel de resistencia	Referencia
<i>P.putida</i> KT2440	<i>arsM</i>	10 mM As ³⁺	(Chen et al., 2014)
<i>A. thaliana</i>	<i>arsB</i>	10 μM As ³⁺	(Deromachi et al., 2020)
<i>Escherichia coli</i> BL21 (DE3).	<i>chrB</i>	100 μM Cr ⁶⁺	(Zhou et al., 2020)
<i>A. thaliana</i>	<i>merE</i>	5 μM HgCl ₂ 0,3 μM CH ₃ HgCl	(Sone et al., 2013b)
<i>A. thaliana</i>	<i>merT</i>	10 mmol/L HgCl ₂	(Xu et al., 2017)
<i>A. thaliana</i> y <i>N. tabacum</i>	<i>merAB</i>	10.000 μg/kg HgCl ₂ 100 μg/kg CH ₃ HgCl	(Li et al., 2020)
<i>O. sativa</i> y <i>S. lycopersicum</i>	<i>merAB</i>	4000 μg/kg HgCl ₂ 4000 μg/kg CH ₃ HgCl	(Li et al., 2020)
<i>A. thaliana</i>	<i>merC</i>	10 uM HgCl ₂	(Kiyono et al., 2013)
<i>N. tabacum</i>	<i>czcABC</i>	75 mM CdSO ₄	(Nesler et al., 2017)

Realizado por: Iza Joana, 2021.

La comprensión integral de los determinantes de resistencia y las funciones que codifican ha facilitado la bioingeniería de moléculas, células y plantas eficientes para absorber o transformar los metales pesados (Boyd y Barkay, 2012). Chen et al., (2014) uso el gen *arsM* del operón *ars* de *R. palustris* para diseñar genéticamente *P.putida* KT2440 con expresión estable de un gen de fusión *arsM-gfp*. La cepa crece a concentraciones de As³⁺ de hasta 10 mM a diferencia de los controles, además, mostró una alta actividad de metilación y volatilización cuando se expuso a As³⁺ o As⁵⁺ 25 μM, después de 48 h la mayor parte del arsénico inorgánico fue metilado a 62 % DMA⁵⁺, 25 % MA⁵⁺ y 10% TMA⁵⁺. Se atraparon arsenicales volatilizados, como la dimetilarsina (21 %) y trimetilarsina (10%). Esta capacidad de resistir al As³⁺, le hace una candidata esencial para la remediación in situ de suelos contaminados con arsénico. Por otro lado, se debe considerar el destino final de los TMA³⁺ y su riesgo de volatilización en el medio (Andres y Bertin, 2016: p.302).

Construyeron diferentes cepas de *E. coli* BL21 (DE3) que expresan el gen *chrB* de *Ochrobactrum tritici* 5bv11. La expresión de *chrB* la realizaron intracelular y en superficie y compararon la capacidad de adsorción de Cr⁶⁺. Un nivel bajo de Cr⁶⁺ (<10 μM) en el medio, no inhibió el crecimiento de ninguna de las cepas. A concentraciones por encima de 100 μM Cr⁶⁺, las células que expresan ChrB eran más resistentes a la toxicidad que las células de control. *ChrB* expuesto en superficie elimino velozmente el 99,1% del Cr⁶⁺ total (concentración inicial 0,5 mM) en 2 h. La capacidad máxima de adsorción de células de *E. coli* BL21 que expresan *chrB* intracelular fue de aproximadamente 235 μmol/g de peso seco de Cr⁶⁺. Las células de *E. coli* BL21 (DE3) que expresan ChrB de superficie eliminaron casi todo el Cr⁶⁺ de las aguas residuales en 2 h. Mediante un ensayo de fluorescencia determinaron que el pH y la salinidad influyen en la capacidad de

adsorción de Cr^{6+} en *E. coli* BL21 (DE3) que expresa *chrB* (Zhou et al., 2020).

Entre los trabajos enfocados en la generación de plantas transgénicas capaces de resistir a iones metálicos es el de Deromachi et al., (2020) donde generaron *A. thaliana* capaz de acumular As^{3+} en la vacuola, para su construcción fusionaron la proteína SNARE de la membrana vacuolar, y GFP-ArsB para desarrollar plantas transgénicas. La planta que expresa *arsB* exhibe el doble de acumulación de As^{3+} en las raíces a diferencia de los controles, sin embargo, no presenta resistencia a concentraciones $> 10 \mu\text{M}$ de As^{3+} ; *arsB* se localizó en la membrana de la vacuola central en el tejido diferenciado de hojas y raíces (Deromachi et al., 2020:p.5). De modo similar, Kiyono et al., (2013) diseñaron *A. thaliana* que expresaba el gen *merC*, obteniendo plantas resistentes al Hg^{2+} y con mayor capacidad para acumularlo. El crecimiento de brotes y raíces de las plántulas transgénicas fue mejor que en las plantas silvestres en concentraciones de 2 a $10 \mu\text{M}$ HgCl_2 . La expresión de *merC* mejora el transporte y la acumulación de Hg^{2+} en *A. thaliana*, lo que sugiere ser un método útil para mejorar plantas a usarse en la fitorremediación de Hg^{2+} (Kiyono et al., 2013).

De modo similar, Xu et al., (2017) generaron plantas transgénicas de *A. thaliana* que expresan ectópicamente el gen *merT* de *P.alcaligenes*. *A. thaliana* mejora la formación de la raíz lateral y la longitud total de la raíz bajo 10 mmol/L de HgCl_2 ; después de 5 días de estrés, los controles mostraron disminución del contenido de clorofila, en contraste con las plantas que expresan *merT* (18,65% y 22,43%). Se evidenció menor contenido de TBARS y de ROS, debido a la expresión mejorada de enzimas antioxidantes SOD y CAT. Esta capacidad de disminuir la producción de ROS, le hace una candidata para la remediación in situ de Hg^{2+} . Se debe considerar que la aceleración de la absorción de Hg^{2+} por sobreexpresión de *merT* y la compartimentación vacuolar podría afectar la generación de ROS inducida por Hg^{2+} y la homeostasis del metal (Xu et al., 2017)

Por su parte, Sone et al., (2013b) diseñó genéticamente *A. thaliana* para expresar *merE* y evaluaron el impacto de la expresión de este gen en la acumulación de CH_3Hg . El crecimiento de brotes y raíces de las plántulas transgénicas con *merE* indica una alta tolerancia en comparación con *A. thaliana* de tipo silvestre en presencia de $5 \mu\text{M}$ HgCl_2 y $0,3 \mu\text{M}$ CH_3HgCl . Después de 2 semanas de exposición a $10 \mu\text{M}$ HgCl_2 , *A. thaliana* transgénica mostró mayor acumulación que los controles, asimismo, después del tratamiento con CH_3HgCl $0,3 \mu\text{M}$, la cantidad de mercurio acumulado en las plantas transgénicas de *merE* fue 2 veces mayor que en las plantas de tipo silvestre. El gen *merE* promovió el transporte y acumulación de iones mercúricos y metilmercurio en *A. thaliana* transgénica, por lo tanto, puede ser un método útil para facilitar la mejora de plantas a usarse en la fitorremediación de mercurio y metilmercurio (Sone et al., 2013b).

Las plantas no poseen la capacidad de desintoxicar el CH_3Hg , por tal razón, varias investigaciones se han enfocado en generar plantas que expresen el gen *merB*, confiriéndoles la capacidad de desintoxicar por sí mismas este elemento (Paisio et al. 2012: p.124). Li et al., (2020) expresaron los genes *merA* y *merB* en *A. thaliana*, *N. tabacum*, *O. satyva* y *S. lycopersicum*. Demostraron que *N. tabacum* y *A. thaliana* transgénicas muestran resistencia a 10.000 $\mu\text{g}/\text{kg}$ de HgCl_2 y 100 $\mu\text{g}/\text{kg}$ de CH_3HgCl . El crecimiento de *S. lycopersicum* y *O. satyva* se inhibió a 4000 $\mu\text{g}/\text{kg}$ de mercurio. Las plantas transgénicas redujeron 4 veces más la concentración de mercurio del suelo a diferencia de los controles. La expresión de estos genes permite la construcción de plantas útiles para procesos de fitorremediación (Li et al., 2020). La desventaja de esta técnica radica en la acumulación del Hg^0 , el cual rápidamente puede ser convertido en metilmercurio (Sone et al., 2013b).

Del mismo modo, generaron plantas de tabaco transgénicas que expresan componentes del sistema de salida de *Pseudomonas putida* CzcCBA. Las líneas transgénicas crecieron a concentraciones de hasta 75 mM CdSO_4 . Asimismo, en concentraciones de 0.7 μM de CdSO_4 se estableció que las líneas que expresan *czcA* y *czcB* acumularon 30% y 23% menos cadmio en sus brotes, pero más cadmio en las raíces, en comparación con los controles. Las plantas que expresan *czcBA* acumularon 23% menos de Cd^{2+} en los brotes y 20% menos de Cd^{2+} en las raíces. Por otro lado, las plantas que expresan *czcA*, *czcB* y *czcC* mostraron una reducción significativa en los niveles de cadmio solo en los brotes. Cualquiera de estos genes puede ayudar a contrarrestar la translocación de cadmio de la raíz al brote, quizás induciendo alguna forma de capacidad de almacenamiento de metal en las raíces; por el contrario, la pérdida de las funciones de *czcA* o *czcB* reduce la resistencia al Co^{2+} , Zn^{2+} y Cd^{2+} (Nesler et al., 2017).

Tomando en cuenta todos estos antecedentes, resulta evidente la importancia de los organismos para reducir el riesgo y la contaminación por iones metálicos. Gracias a la ingeniería genética, estos resultados cada vez más se van ampliando; sin embargo, es necesario considerar que la aplicación de los organismos modificados genéticamente requiere de la regulación y el monitoreo de organismos regulatorios que aseguren su empleo, hasta el momento no existe ningún organismo modificado genéticamente que ya esté en uso, solamente, su estudio se limita a nivel de laboratorio. Muchos microorganismos que portan múltiples copias de genes extraños o expresan esos genes a un alto nivel a menudo compiten mal con las bacterias autóctonas en su entorno natural.

CONCLUSIONES

Los determinantes genéticos de resistencia a metales pesados, como el arsénico, mercurio, cromo y cadmio son respectivamente: *ars*, *aio*, *mer*, *chr*, *cad*, *czc*, estos elementos se encuentran distribuidos en el genoma de una amplia gama de bacterias aisladas de entornos altamente contaminados con metales pesados. En estos sitios, se ha identificado genes de resistencia que muestran una gran especificidad para los iones metálicos o sus derivados orgánicos. La presencia de determinantes genéticos de resistencia proporciona una ventaja competitiva a las bacterias permitiéndole sobrevivir y colonizar ambientes contaminados.

Se describe el mecanismo de regulación llevado a cabo por *arsR*, *merR*, *chrB*, *cadC* y *cadR*, del mismo modo, se define el mecanismo de reducción, metilación, desmetilación y oxidación de los iones de metales pesados y sus derivados llevados a cabo por el producto génico de los determinantes *merA*, *merB*, *arsC*, *arsI*, *arsM* y *arsH*. Adicionalmente, los determinantes *chrA*, *cadA*, *arsB* y *acr3* permiten la expulsión de los iones metálicos desde el citoplasma hacia el periplasma. Para el caso de los iones mercurio y sus derivados, los determinantes *merE*, *merT*, *merF* y *merC* están implicados en el proceso de transporte de estos iones desde el periplasma hacia el citoplasma para su posterior reducción.

Las diferentes aplicaciones de los determinantes genéticos varían desde su uso en biosensores usando genes reguladores, como *arsR*, *merR*, *cadC*, *chrB* y genes reporteros, como *gfp* o *lux* para la detección de metales pesados en agua y suelo, siendo un método económico y eficaz en comparación con los métodos tradicionales que resultan más costosos y requieren un mayor tiempo de análisis. Otra de las posibles aplicaciones que se le otorga a los determinantes de resistencia es la generación de organismos modificados genéticamente, como plantas que expresen genes de interés y que pueden ser usadas para la fitorremediación de los metales pesados in situ; del mismo modo, la generación de microorganismos modificados que puedan ser usados para la bioacumulación o la remediación de sitios contaminados.

RECOMENDACIONES

Seguir con estudios de carácter similar con el fin de ampliar información acerca de los determinantes genéticos de resistencia a otros metales pesados, tales como el cobre, níquel y zinc, que también son considerados elementos tóxicos para los seres vivos, además, resulta importante continuar con la revisión de trabajos investigativos más actuales en cuanto a las posibles aplicaciones biotecnológicas atribuidas a los determinantes genéticos de resistencia a metales pesados, con la finalidad de proporcionar bases para el desarrollo de herramientas biotecnológicas novedosas para el control de la contaminación

GLOSARIO

Acuagliceroporinas: subfamilia de las acuaporinas que transporta agua y solutos más pequeños, como el glicerol (Coppo, 2019).

Desrepresión: Proceso que activa la expresión de un gen o conjunto de genes que anteriormente había estado reprimida. Generalmente se inicia al separarse la molécula represora del promotor, ya que, cuando el represor está unido al ADN, la transcripción está detenida (REA, 2021).

Facilitador del glicerol: Proteína de membrana selectiva que deja pasar moléculas pequeñas, neutras y lineales (Egoburo, 2019: p.62).

Histidina quinasa: Proteínas transmembranales que actúan como transferasas de grupos fosfatos (Galicía-Jiménez et al., 2017: p.414).

Hg (SR)₂: mercaptido de mercurio donde R es una proteína (Lian et al., 2014: p.7212).

Metalochaperona: Proteínas que se unen a iones metálicos con gran afinidad y selectividad para entregarlos a proteínas diana, actúa en el tráfico intracelular de estos guiándolos y protegiéndolos hacia su destino final; protegiendo a la célula contra su toxicidad (Bravo-Gómez et al., 2015: p.26).

Monómero: Molécula de pequeña masa molecular que unida covalentemente a otros monómeros forman macromoléculas. El monómero de las proteínas son los aminoácidos (Pacheco Gonzales, 2013: p.93).

MSH/Mrx: micotiol/microrredoxina, la primera corresponde a una enzima con una cisteína en el centro activo (Villadangos, 2011: p.1009).

Quimiotaxis: Mecanismo por el cual la bacteria responde eficientemente y rápidamente a cambios en la composición química en su ambiente. Consiste en un movimiento activo y dirigido de la bacteria a través de un gradiente químico (Galicía-Jiménez et al., 2011: p.895).

Secuencia palindrómica: Secuencia de ADN o ARN que se lee igual en ambas direcciones 5`-3` o viceversa (Izquierdo, 2007: p.69).

Trx/TrxR: tiorredoxina/ tiorredoxina reductasa; la TrxR puede reducir la tiorredoxina usando NADPH como agente reductor (Villadangos, 2011: p.1009).

BIBLIOGRAFÍA

ACOSTA-NAVARRETE, Y; et al. "Expression of the six chromate ion transporter homologues of *Burkholderia xenovorans* LB400". *Microbiology* [en línea], 2014, (United State of America) 160(2), pp.287-295. [Consulta: 20 enero 2021]. ISSN 13500872. DOI 10.1099/mic.0.073783-0. Disponible en: <https://www.microbiologyresearch.org/content/journal/micro/10.1099/mic.0.073783-0>

ADEKANMBI, A; et al. "Metal-resistance encoding gene-fingerprints in some bacteria isolated from wastewaters of selected printerries in Ibadan, South-western Nigeria". *Journal of Taibah University for Science* [en línea], 2019, (Netherlands) 13(1), pp.266-273. [Consulta: 01 enero 2021]. ISSN 1658-3655. DOI 10.1080/16583655.2018.1561968. Disponible en: <https://doi.org/10.1080/16583655.2018.1561968>

ALI, H; et al. "Phytoremediation of heavy metals. Concepts and applications". *Chemosphere* [en línea], 2013, (United Kingdom) 91(7), pp.869-881. [Consulta: 20 enero 2021]. ISSN 0045-6535. DOI 10.1016/j.chemosphere.2013.01.075. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1016/j.chemosphere.2013.01.075>.

ANDRES, J; et al. "Life in an arsenic-containing gold mine: Genome and physiology of the autotrophic arsenite-oxidizing bacterium *Rhizobium sp.*NT-26". *Genome Biology and Evolution* [en línea], 2013, (United Kingdom) 5(5), pp.934-953. [Consulta: 10 diciembre 2020]. ISSN 17596653. DOI 10.1093/gbe/evt061. Disponible en: <https://academic.oup.com/gbe/article/5/5/934/610482>

ANDRES, J; & BERTIN, P. "The microbial genomics of arsenic". *FEMS Microbiology Reviews* [en línea], 2016, (United Kingdom) 40(2), pp.299-322. [Consulta: 25 diciembre 2020]. ISSN 15746976. DOI 10.1093/femsre/fuv050. Disponible en: <https://academic.oup.com/femsre/article/40/2/299/2570226>

ANTONUCCI, I; et al. "An ArsR/SmtB family member regulates arsenic resistance genes unusually arranged in *Thermus thermophilus* HB27". *Microbial Biotechnology* [en línea], 2017, (United Kingdom) 10(6), pp.1690-1701. [Consulta: 4 diciembre 2020]. ISSN 17517915. DOI 10.1111/1751-7915.12761. Disponible en: <https://sfamjournals.onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1111/1751-7915.12761>

BADILLA, C; et al. "A new family of periplasmic-binding proteins that sense arsenic

oxyanions". *Scientific Reports* [en línea], 2018, (United Kingdom) 10(1), pp.1-12. [Consulta: 13 marzo 2021]. ISSN 2045-2322. DOI 10.1038/s41598-018-24591-w. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1038/s41598-018-24591-w>.

ARGUDÍN, M; et al. "Heavy metal resistance in bacteria from animals". *Research in Veterinary Science* [en línea], 2019, (Netherlands) 122(1), pp.1-57. [Consulta: 10 diciembre 2020]. ISSN 15322661. DOI 10.1016/j.rvsc.2018.11.007. Disponible en: <https://doi.org/10.1016/j.rvsc.2018.11.007>.

BAAZIZ, H; et al. "ChrA SO, the chromate efflux pump of *Shewanella oneidensis* , improves chromate survival and reduction. *PLoS ONE* [en línea], 2017, (United State of America) 12(11), pp.1-15. [Consulta: 01 febrero 2021]. Disponible en: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0188516>

BAAZIZ, H. Isolation of *Shewanella sp . from Algeria and characterization of a system involved in detoxification of chromate* [en línea] (Trabajo de Titulación). (Doctorado) Freres Mentouri Constantine 1 University, Argelia. 2018. pp.28-29. [Consulta: 02 diciembre 2020] Disponible en: file:///C:/Users/Pc/Downloads/180710_BAAZIZ_691ugnxxb63htjv95rem699icgg_TH.pdf.

BAZZI, W; et al. "Heavy Metal Toxicity in Armed Conflicts Potentiates AMR in *A. baumannii* by Selecting for Antibiotic and Heavy Metal Co-resistance Mechanisms". *Frontiers in Microbiology* [en línea], 2020, (Switzerland) 11(2), pp.1-12. [Consulta: 20 diciembre 2020]. ISSN 1664302X. Disponible en: <https://doi.org/10.3389/fmicb.2020.00068>.

BELTRÁN-PINEDA, M; & GÓMEZ-RODRÍGUEZ, A. "Biorremediación de metales pesados cadmio (Cd), cromo (Cr) y mercurio (Hg), mecanismos bioquímicos e ingeniería genética: una revisión". *Revista Facultad de Ciencias Básicas* [en línea], 2016, (Nueva Granada) 12(2), pp.172-197. [Consulta: 11 diciembre 2020]. ISSN 1900-4699. DOI 10.18359/rfcb.2027. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.18359/rfcb.2027>

BERVOETS, I; & CHARLIER, D."Diversity, versatility and complexity of bacterial gene regulation mechanisms: Opportunities and drawbacks for applications in synthetic biology". *FEMS Microbiology Reviews* [en línea], 2019, (United Kingdom) 43(3), pp.304-339. [Consulta: 06 enero 2021]. ISSN 15746976. DOI 10.1093/femsre/fuz001. Disponible en: <https://academic.oup.com/femsre/article/43/3/304/5306444>

BETANCOR, L; et al. "Genetica Bacteriana". [en línea], 2010, pp.1-15. [Consulta: 1 febrero 2021]. Disponible en: <http://higiene.edu.uy/cefa/Libro2002/Cap 12.pdf>.

BOUZAT, J; & HOOSTAL, M. "Evolutionary Analysis and Lateral Gene Transfer of Two-Component Regulatory Systems Associated with Heavy-Metal Tolerance in Bacteria". *Journal of Molecular Evolution* [en línea], 2013, (United State of America) 76(1), pp.267-279. [Consulta: 01 enero 2021]. DOI 10.1007/s00239-013-9558-z. Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/23588684/>.

BOYD, E; & BARKAY, T. "The mercury resistance operon : from an origin in a geothermal environment to an efficient detoxification machine". *Frontiers in Microbiology* [en línea], 2012, (Switzerland) 3(10), pp.1-13. [Consulta: 10 enero 2021]. DOI 10.3389/fmicb.2012.00349. Disponible en: <https://www.readcube.com/articles/10.3389/fmicb.2012.00349>

BRANCO, R; et al. "Highly Sensitive, Highly Specific Whole-Cell Bioreporters for the Detection of Chromate in Environmental Samples". *PLoS ONE* [en línea], 2013, (United State of America) 8(1), pp.13-17. [Consulta: 02 enero 2021]. ISSN 19326203. DOI 10.3389/fmicb.2012.00349 Disponible en: <https://journals.plos.org/plosone/article?id=10.1371/journal.pone.0054005>

BRANCO, R; & MORAIS, P.V. "Identification and characterization of the transcriptional regulator ChrB in the chromate resistance determinant of *Ochrobactrum tritici* 5bv11". *PLoS ONE* [en línea], 2013,(United State of America) 8(11), pp.1-12. [Consulta: 22 enero 2021]. ISSN 19326203. DOI 10.1371/journal.pone.0077987. Disponible en: <https://journals.plos.org/plosone/article?id=10.1371/journal.pone.0077987>

BRANCO, R; & MORAIS, P.V. "Two superoxide dismutases from TnOchr are involved in detoxification of reactive oxygen species induced by chromate". *BMC Microbiology* [en línea], 2016, (United Kingdom) 16(1), pp.1-10. [Consulta: 23 enero 2021]. ISSN 14712180. DOI 10.1186/s12866-016-0648-0. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1186/s12866-016-0648-0>.

BRAVO-GÓMEZ, M; et al. "Metallochaperones: Personal escorts on intracellular trafficking of metal ions". *Educacion Quimica* [en línea], 2015, (México) 26(1), pp.26-37. [Consulta: 03 enero 2021]. ISSN 18708404. DOI 10.1016/S0187-893X(15)72095-1. Disponible en: [http://dx.doi.org/10.1016/S0187-893X\(15\)72095-1](http://dx.doi.org/10.1016/S0187-893X(15)72095-1).

BRAVO, L. Resistencia antibiótica en *pseudomonas aeruginosa*: situación epidemiológica en España y alternativas [en línea] (Trabajo de Titulación). (Maestría) Universidad Complutense de Madrid, Madrid. 2018, pp.1-23. [Consulta: 30 diciembre 2020]. Disponible en: <https://eprints.ucm.es/id/eprint/62479/>

BRETON-DEVAL, L; et al. "Functional analysis of a polluted river microbiome reveals a metabolic potential for bioremediation". *Microorganisms* [en línea], 2020, 8(4), pp.1-14. [Consulta: 12 diciembre 2020]. ISSN 20762607. DOI 10.3390/microorganisms8040554. Disponible en: <https://www.mdpi.com/2076-2607/8/4/554>

BUSTOS, K; & CACUANGO, J. "Identificación molecular de bacterias resistentes a cadmio y cromo aisladas de aguas contaminadas de la zona de Papallacta canton Quijos de la provincia de Napo". (Trabajo de Titulación). (Pregrado) *Universidad Politécnica Salesiana* [en línea], Ecuador, 2017. pp.1-91. [Consulta: 15 diciembre 2020]. Disponible en: <https://dspace.ups.edu.ec/handle/123456789/13535>

CABALLERO-FLORES, G; et al. "Chromate-resistance genes in plasmids from antibiotic-resistant nosocomial *enterobacterial* isolates". *FEMS Microbiology Letters* [en línea], 2012, (United Kingdom) 327(2), pp.148-154. [Consulta: 17 diciembre 2020]. ISSN 03781097. DOI 10.1111/j.1574-6968.2011.02473.x. Disponible en: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1111/j.1574-6968.2011.02473.x>

CÁRDENAS J; et al. "Remoción de Cromo (VI) por una cepa de *paecilomyces* sp resistente a cromato". *Informacion Tecnologica* [en línea], 2011, 22(4), pp.43-50. [Consulta: 21 diciembre 2020]. ISSN 07168756. Disponible en: https://scielo.conicyt.cl/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0718-07642011000400006.

CASTRO, F; & MARÍN, J. "Comparison of Heavy Metal Ecotoxicity on Heterotrophic Bacteria From Two Contrasted Sites At the Lake Maracaibo (Venezuela)". *Universidad Militar Nueva Granada*, 2018, (Nueva Granada) 14(1), pp.1-9. [Consulta: 01 enero 2021] ISSN 1900-4699. Disponible en: <https://dialnet.unirioja.es/servlet/articulo?codigo=6600813>

CERVANTES, C. "Las proteínas CHR: una estrategia ancestral de las bacterias para tolerar la toxicidad del cromato". *Ciencia Nicolaita* [en línea], 2017, (México) 71(2), pp.95-112. [Consulta: 22 diciembre 2020]. Disponible en: <https://www.cic.cn.umich.mx/cn/article/view/384>

CHANG, C; et al. "Structural basis of the mercury(II)-mediated conformational switching of the dual-function transcriptional regulator MerR". *Nucleic Acids Research* [en línea], 2015, (United Kingdom) 43(15), pp.7612-7623. [Consulta: 04 diciembre 2020]. ISSN 13624962. Disponible en: <https://academic.oup.com/nar/article/43/15/7612/2414364>

CHEN, J; et al. "ArsH is an organoarsenical oxidase that confers resistance to trivalent forms of

the herbicide monosodium methylarsenate and the poultry growth promoter roxarsone". *Molecular Microbiology* [en línea], 2015a, (United Kingdom) 96(5), pp.1042-1052. [Consulta: 10 enero 2021]. ISSN 13652958. DOI 10.1111/mmi.12988. Disponible en: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1111/mmi.12988>

CHEN, J; et al. "ArsP: A methylarsenite efflux permease". *Molecular Microbiology* [en línea], 2015b, (United Kingdom) 98(4), pp.625-635. [Consulta: 15 febrero 2021]. ISSN 13652958. DOI 10.1111/mmi.13145. Disponible en: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1111/mmi.13145>

CHEN, J; et al. "Aquaglyceroporin AqpS from *Sinorhizobium meliloti* conducts both trivalent and pentavalent methylarsenicals". *Chemosphere* [en línea], 2021, (United Kingdom) 98(5), pp.1-10. [Consulta: 01 febrero 2021]. ISSN 33418223. Disponible en: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0045653520335773>

CHEN, M; et al. "Analysis of gene expression provides insights into the mechanism of cadmium tolerance in *Acidithiobacillus ferrooxidans*". *Current Microbiology* [en línea], 2015c, (United State of America) 70(2), pp.290-297. [Consulta: 28 febrero 2021]. ISSN 14320991. DOI 10.1007/s00284-014-0710-9. Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/25344309/>

CHEN, J; et al. "A novel MAs(III)-selective ArsR transcriptional repressor". *Molecular Microbiology* [en línea], 2017, (United Kingdom) 106(3), pp.469-478. [Consulta: 3 enero 2021]. ISSN 13652958. DOI 10.1111/mmi.13826. Disponible en: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1111/mmi.13826>

CHEN, J; et al. "Volatilization of arsenic from polluted soil by *Pseudomonas putida* engineered for expression of the *arsM* arsenic(III) S-adenosine methyltransferase gene". *Environmental Science and Technology* [en línea], 2014, vol 48, no. 17, pp.10337-10344. [Consulta: 6 enero 2021]. ISSN 15205851. DOI 10.1021/es502230b. Disponible en: <https://pubs.acs.org/doi/10.1021/es502230b>

CHEN, J; et al. "Synergistic interaction of glyceraldehydes-3-phosphate dehydrogenase and ArsJ, a novel organoarsenical efflux permease, confers arsenate resistance". *Molecular Microbiology* [en línea], 2016, (United Kingdom) 100(6), pp.945-953. ISSN 13652958. DOI 10.1111/mmi.13371. Disponible en: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1111/mmi.13371>

CHENIA, H; & JACOBS, A. "Antimicrobial resistance, heavy metal resistance and integron content in bacteria isolated from a South African tilapia aquaculture system". *Diseases of Aquatic*

Organisms [en línea], 2017, (Germany) 126(3), pp.199-209. [Consulta: 3 enero 2021]. ISSN 16161580. DOI 10.3354/dao03173. Disponible en: <https://doi.org/10.3354/dao03173>

CHUDOBOVA, D; et al. "The effect of metal ions on *Staphylococcus aureus* revealed by biochemical and mass spectrometric analyses". *Microbiological Research* [en línea], 2015, (Germany) 170(1), pp.147-156. [Consulta: 8 enero 2021]. ISSN 09445013. DOI 10.1016/j.micres.2014.08.003. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1016/j.micres.2014.08.003>.

CLARAMUNT, R; et al. *Química bioorgánica y productos naturales* [en línea]. Madrid: Editorial UNED, 2013. [Consulta: 29 enero 2021]. Disponible en: https://books.google.com.ec/books?id=wUdGAgAAQBAJ&pg=PT134&dq=Isoaloxazina:&hl=es&sa=X&ved=2ahUKEwi7IN6zsODuAhVLiFkKHep_BuoQ6AEwAXoECAgQAQ#v=onepage&q=Isoaloxazina%3A&f=false

CLARK, D; et al. *Regulation of Transcription in Prokaryotes* [en línea]. Elsevier, 2019. [Consulta: 13 enero 2021]. Disponible en: <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-813288-3.00016-1>.

COPPO, J. *Fisiología comparada del medio interno* [en línea]. 2da Edición. Buenos Aires: Universidad Católica de Salto, 2019. [Consulta: 1 enero 2021]. Disponible en: https://books.google.com.ec/books?id=3bapDwAAQBAJ&printsec=frontcover&hl=es&source=gbs_ge_summary_r&cad=0#v=onepage&q&f=false

CORELLA, D; & ORDOVAS, J. "Conceptos básicos en biología molecular relacionados con la genética". *Revista Española de Cardiología* [en línea], 2017, (España) 70(1), pp.744-753. [Consulta: 4 enero 2021]. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1016/j.recesp.2017.02.034>.

COVARRUBIAS, S.A; & PEÑA CABRIALES, J. "Contaminación ambiental por metales pesados en México: Problemática y estrategias de fitorremediación". *Revista Internacional de Contaminacion Ambiental* [en línea], 2017, (México) 33(1), pp.7-21. [Consulta: 16 enero 2021]. ISSN 01884999. DOI 10.20937/RICA.2017.33.esp01.01. Disponible en: <https://www.revistascca.unam.mx/rica/index.php/rica/article/view/RICA.2017.33.esp01.01>.

DAS, S; et al. "Genetic basis and importance of metal resistant genes in bacteria for bioremediation of contaminated environments with toxic metal pollutants". *Applied Microbiology and Biotechnology* [en línea], 2016, (Germany) 100(7), pp.2967-2984. [Consulta: 01 enero 2021]. ISSN 14320614. DOI 10.1007/s00253-016-7364-4. Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/26860944/>.

DASH, H; et al. "Evidence of mercury trapping in biofilm - EPS and mer operon - based volatilization of inorganic mercury in a marine bacterium *Bacillus cereus* BW - 201B". *Archives of Microbiology* [en línea], 2016. [Consulta: 01 enero 2021]. ISSN 1432-072X. Disponible en: <https://link.springer.com/article/10.1007%2Fs00203-016-1317-2>.

DASH, H; et al. "Characterization and potential application in mercury bioremediation of highly mercury-resistant marine bacterium *Bacillus thuringiensis* PW-05". *Investigación en ciencias ambientales y contaminación* [en línea], 2013, pp.1-12. [Consulta: 5 enero 2021]. Disponible en: <https://link.springer.com/article/10.1007/s11356-013-2206-8>

DENG, P; et al. "Cloning and sequence analysis demonstrate the chromate reduction ability of a novel chromate reductase gene from *Serratia sp*" . *Experimental and Therapeutic Medicine* [en línea], 2015, (Greece) 9(1), pp.795-800. [Consulta: 07 enero 2021]. DOI 10.3892/etm.2014.2148. Disponible en: <https://doi.org/10.3892/etm.2014.2148>

DEROMACHI, Y; et al. "Stable expression of bacterial transporter ArsB attached to SNARE molecule enhances arsenic accumulation in *Arabidopsis*". *Plant Signaling & Behavior* [en línea], 2020, (United States of America) 00(00). [Consulta: 02 febrero 2021]. DOI 10.1080/15592324.2020.1802553. Disponible en: <https://doi.org/10.1080/15592324.2020.1802553>.

DI, X; et al. "Microbial Arsenic Methylation in Soil and Uptake and Metabolism of Methylated Arsenic in Plants : A Review". *International Journal of environmental Research and Public Health* [en línea], 2019, (Switzerland) 16(3), pp.1-13. [Consulta: 19 febrero 2021]. Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31835448/>

DICKINSON, A; et al. "Heavy metal pollution and co-selection for antibiotic resistance: A microbial palaeontology approach". *Environment International* [en línea], 2019, (United Kingdom) 132(8), pp.1-10. [Consulta: 19 febrero 2021]. ISSN 18736750. DOI 10.1016/j.envint.2019.105117. Disponible en: <https://doi.org/10.1016/j.envint.2019.105117>.

DREWNIAK, L; et al. "Structural and functional genomics of plasmid pSinA of *Sinorhizobium sp.*M14 encoding genes for the arsenite oxidation and arsenic resistance". *Journal of Biotechnology* [en línea], 2013, (Netherlands) 164(4), pp.479-488. [Consulta: 14 febrero 2021]. ISSN 01681656. DOI 10.1016/j.jbiotec.2013.01.017. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1016/j.jbiotec.2013.01.017>.

DUCRET, V; et al. "The CzcCBA Efflux System Requires the CadA P-Type ATPase for Timely Expression Upon Zinc Excess in *Pseudomonas aeruginosa*". *Frontiers in Microbiology* [en línea], 2020, (Switzerland) 11(5), pp.1-13. [Consulta: 9 febrero 2021]. DOI 10.3389/fmicb.2020.00911/full. Disponible en: <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fmicb.2020.00911/full>

EGOBURO, D. Reguladores globales en *Escherichia coli*: su efecto en el metabolismo central y en la síntesis de compuestos de interés biotecnológico [en línea]. (Trabajo de Titulación). (Posgrado). Universidad de Buenos Aires, Argentina. 2019. pp.1-190. [Consulta: 6 febrero 2021]. Disponible en: https://bibliotecadigital.exactas.uba.ar/download/tesis/tesis_n6581_Egoburo.pdf.

FATIMAWALI, K; et al. "Comparison of Bacterial Community Structure and Diversity in Traditional Gold Mining Waste Disposal Site and Rice Field by Using a Metabarcoding Approach". *International Journal of Microbiology*, 2020, (Netherlands) 20(10). pp.1-9. [Consulta: 02 enero 2021].ISSN 16879198. Disponible en: DOI 10.1155/2020/1858732. Disponible en: <https://www.hindawi.com/journals/ijmicro/2020/1858732/>

FEKIH, I; et al. "Distribution of arsenic resistance genes in prokaryotes. *Frontiers in Microbiology* [en línea], 2018, (Switzerland) 9(10), pp.1-11. [Consulta: 01 febrero 2021]. ISSN 1664302X. Disponible: DOI 10.3389/fmicb.2018.02473. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6205960/>.

FIRINCIELI, A; et al. "Identification of resistance genes and response to arsenic in *Rhodococcus aetherivorans* BCP1". *Frontiers in Microbiology* [en línea], 2019, (Switzerland) 10(5), pp.1-13. [Consulta: 22 enero 2021]. ISSN 1664302X. DOI 10.3389/fmicb.2019.00888. Disponible en: <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fmicb.2019.00888/full>

GABRIELIAN, A. V; et al. "Distribution and Identification of Sources of Heavy Metals in the Voghji River Basin Impacted by Mining Activities (Armenia)". *Journal of Chemistry* [en línea], 2018, 20(18), pp.1-9. [Consulta: 2 diciembre 2020]. ISSN 2090-9063. DOI 10.1155/2018/7172426. Disponible en: <https://www.hindawi.com/journals/jchem/2018/7172426/>

GALICIA-JIMÉNEZ, M.M; et al. "Sistema de dos Componentes: Un dialogo molecular entre las bacterias ruminales y partículas de alimento (Plantas Forrajeras)". *Tropical and Subtropical Agroecosystems* [en línea], 2017, (México) 20(3), pp.413-418. [Consulta: 9 diciembre 2020]. ISSN 18700462. Disponible en: <https://www.redalyc.org/pdf/939/93953814002.pdf>

GALICIA-JIMÉNEZ, M.M; et al. "Quimiotaxis bacteriana y flavonoides: perspectivas para el uso de probióticos". *Tropical and Subtropical Agroecosystems* [en línea], 2011, (México) 14(3), pp.891-900. ISSN 18700462. [Consulta: 13 diciembre 2020]. Disponible en: http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_abstract&pid=S187004622011000300002&lng=es&nrm=iso

GILLET, S; et al. "Functional Diversity of Bacterial Strategies to Cope With Metal Toxicity". *Microbial Diversity in the Genomic Era* [en línea], 2019, pp.409-426. [Consulta: 22 diciembre 2020]. DOI 10.1016/b978-0-12-814849-5.00023-x. Disponible en: <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-814849-5.00023-X>.

GÓMEZ-SANZ, E; et al. "Analysis of a novel erm (T) and *cadDX* - carrying plasmid from methicillin- susceptible *Staphylococcus aureus* ST398-t571 of human origin". *Journal of Antimicrobial Chemotherapy* [en línea], 2013, (United Kingdom) 68(10), pp.471-473. [Consulta: 2 febrero 2021]. DOI 10.1093/jac/dks411. Disponible en: <https://academic.oup.com/jac/article/68/2/471/676191>.

GONZÁLEZ, G, et al. "Integrones y cassettes genéticos de resistencia: Estructura y rol frente a los antibacterianos". *Revista Médica de Chile* [en línea], 2004, (Chile) 132(5), pp.619-626. [Consulta: 1 enero 2021]. ISSN 00349887. DOI 10.4067/s0034-98872004000500013. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.4067/S0034-98872004000500013> %0A.

GUALERZI, C.O. y PON, C.L. "Initiation of mRNA translation in bacteria: Structural and dynamic aspects". *Cellular and Molecular Life Sciences* [en línea], 2015, (Switzerland) 72(22), pp.4341-4367. [Consulta: 4 enero 2021]. ISSN 14209071. DOI 10.1007/s00018-015-2010-3. Disponible en: <https://link.springer.com/article/10.1007/s00018-015-2010-3>

GUO, S. y MAHILLON, J. "pGIAK1, a Heavy Metal Resistant Plasmid from an Obligate Alkaliphilic and Halotolerant Bacterium Isolated from the Antarctic Concordia Station Confined Environment". *PLoS ONE* [en línea], 2013, (United State of America) 8(8), pp.1-8. [Consulta: 12 enero 2021]. ISSN 19326203. DOI 10.1371/journal.pone.0072461. Disponible en: <https://journals.plos.org/plosone/article?id=10.1371/journal.pone.0072461>

GUO, H; et al. "Mercury Detoxification by Bacteria : Simulations of Transcription Activation and Mercury – Carbon Bond Cleavage". *PLoS ONE* [en línea], 2011, 7(10), pp.311-324. Disponible en: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1002/9783527636402.ch20>

HENSON, M.W; et al. "Metabolic and genomic analysis elucidates strain-level variation in

Microbacterium spp. Isolated from chromate contaminated sediment". *PeerJ* [en línea], 2015, (United States of America) 20(11), pp.1-17. [Consulta: 10 diciembre 2020]. ISSN 21678359. DOI 10.7717/peerj.1395. Disponible en: <https://peerj.com/articles/1395/>

HERNANDEZ, R; et al. *Metodología de la Investigación* [en línea], Sexta Edición. México: McGRAW-HILL / INTERAMERICANA EDITORES, 2014. [Consulta: 1 diciembre 2020] Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1016/j.jsames.2011.03.003%0A>

HOBMAN, J.L. y CROSSMAN, L.C. "Bacterial antimicrobial metal ion resistance". *Journal of Medical Microbiology* [en línea], 2015, (United Kingdom) 64(1), pp.1-79. [Consulta: 14 diciembre 2020]. ISSN 00222615. DOI 10.1099/jmm.0.023036-0. Disponible en: <https://www.microbiologyresearch.org/content/journal/jmm/10.1099/jmm.0.023036-0>

HOOGWERF, A.J; et al. "Functional characterization of a cadmium resistance operon in *Staphylococcus aureus* ATCC12600 : CadC does not function as a repressor". *Journal of Basic Microbiology* [en línea], 2015, (Germany) 55(1), pp.148-159. [Consulta: 17 diciembre 2020]. DOI 10.1002/jobm.201400498. Disponible en: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1002/jobm.201400498>

HONG, L; et al. "Structure and dynamics of a compact state of a multidomain protein, the mercuric ion reductase". *Biophysical Journal* [en línea], 2014, (United State of America) 107(2), pp.393-400. [Consulta: 20 diciembre 2020]. ISSN 15420086. DOI 10.1016/j.bpj.2014.06.013. Disponible en: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0006349514006201>

HUANG, C.W; et al. "A low cost color-based bacterial biosensor for measuring arsenic in groundwater". *Chemosphere* [en línea], 2015, (United Kingdom) 141(1), pp.44-49. [Consulta: 21 diciembre 2020]. ISSN 18791298. DOI 10.1016/j.chemosphere.2015.06.011. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1016/j.chemosphere.2015.06.011>.

HUANG, K; et al. "Arsenic methylation by a novel ArsM As(III) S-adenosylmethionine methyltransferase that requires only two conserved cysteine residues". *Molecular Microbiology* [en línea], 2018, (United Kingdom) 107(2), pp.265-276. [Consulta: 24 diciembre 2020]. ISSN 13652958. DOI 10.1111/mmi.13882. Disponible en: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1111/mmi.13882>

HWANG, H; et al. "A Minimal Membrane Metal Transport System: Dynamics and Energetics of mer Proteins". *Journal of Computational Chemistry* [en línea], 2020, (United State of America)

41(6), pp.528-537. [Consulta: 11 diciembre 2020]. ISSN 1096987X. DOI 10.1002/jcc.26098. Disponible en: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1002/jcc.26098>

IANEVA, O.D. "Mechanisms of bacteria resistance to heavy metals". *Mikrobiolohichnyi zhurnal (Kiev, Ukraine: 1993)* [en línea], 2009, (Ukraine) 71(6), pp.54-65. [Consulta: 09 diciembre 2020]. ISSN 10280987. Disponible en: https://www.researchgate.net/publication/44585414_Mechanisms_of_bacteria_resistance_to_heavy_metals

IZQUIERDO, A.R. Diseño y optimización de un sistema de diagnóstico molecular de *Sepsis Neonatal* mediante la técnica de PCR-Rflp a partir de cultivos bacterianos. [en línea]. (Trabajo de titulación), (Pregrado) Escuela Politécnica del Ejercito, Quito, Ecuador, 2007. pp.1-150. [Consulta: 03 enero 2021]. Disponible en http://repositorio.espe.edu.ec/xmlui/handle/21000/294/browse?order=ASC&rpp=20&sort_by=1&etal=-1&offset=118&type=title&locale-attribute=de.

JAIN, S; & BHATT, A. "Molecular and in situ characterization of cadmium resistant diversified extremophilic strains of *Pseudomonas* for their bioremediation potential". *Biotechnology* [en línea], 2014, pp.297-304. [Consulta: 04 enero 2021]. DOI 10.1007/s13205-013-0155-z. Disponible en: <https://link.springer.com/article/10.1007/s13205-013-0155-z>

JAN, A.T., et al. "Analysis for the presence of determinants involved in the transport of mercury across bacterial membrane from polluted water bodies of India". *Brazilian Journal of Microbiology* [en línea], 2016, (Brazil) 47(1), pp.55-62. ISSN 16784405. DOI 10.1016/j.bjm.2015.11.023. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1016/j.bjm.2015.11.023>.

JIA, M.R; et al. "Efficient arsenate reduction by As-resistant bacterium *Bacillus sp.* strain PVR-YHB1-1: Characterization and genome analysis". *Chemosphere* [en línea], 2019, (United Kingdom) 218(1), pp.1061-1070. [Consulta: 01 enero 2021]. ISSN 18791298. DOI 10.1016/j.chemosphere.2018.11.145. Disponible en: <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2018.11.145>.

JIANG, H; et al. "Effects of arsenite resistance on the growth and functional gene expression of *Leptospirillum ferriphilum* and *Acidithiobacillus thiooxidans* in pure culture and coculture". *BioMed Research International* [en línea], (United State of America) 20(10), pp.1-13. [Consulta: 3 enero 2021]. ISSN 23146141. DOI 10.1155/2015/203197. Disponible en: <https://www.hindawi.com/journals/bmri/2015/203197/>

JOHS, A; et al. "Structural characterization of intramolecular Hg²⁺ transfer between flexibly linked domains of mercuric ion reductase". *Journal of Molecular Biology* [en línea], 2011, (United State of America) 413(3), pp.639-656. [Consulta: 6 enero 2021]. ISSN 10898638. DOI 10.1016/j.jmb.2011.08.042. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1016/j.jmb.2011.08.042>

KANG, Y; et al. "Involvement of RpoN in Regulating Bacterial Arsenite Oxidation". *Journals ASM. org* [en línea], 2012, (United State of America) 78(16), pp.5638-5645. [Consulta: 3 marzo 2021]. DOI 10.1128/AEM.00238-12. Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/22660703/>

KHAN, Z; et al. "Cadmium resistance mechanism in *Escherichia coli* P4 and its potential use to bioremediate environmental cadmium". *Appl Microbiol Biotechnol* [en línea], 2015, pp.1-13. [Consulta: 1 marzo 2021]. DOI 10.1007/s00253-015-6901-x. Disponible en: <https://link.springer.com/article/10.1007/s00253-015-6901-x>

KIYONO, M; et al. "Bacterial heavy metal transporter MerC increases mercury accumulation in *Arabidopsis thaliana*". *Biochemical Engineering Journal* [en línea], 2013, (Netherlands) 71(1), pp.19-24. [Consulta: 1 marzo 2021]. ISSN 1369703X. DOI 10.1016/j.bej.2012.11.007. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1016/j.bej.2012.11.007>.

KLONOWSKA, A; et al. "Novel heavy metal resistance gene clusters are present in the genome of *Cupriavidus neocaledonicus* STM 6070, a new species of *Mimosa pudica* microsymbiont isolated from heavy-metal-rich mining site soil". *BMC Genomics* [en línea], 2020, (United Kingdom) 21(1), pp.1-18. [Consulta: 1 marzo 2021]. ISSN 14712164. DOI 10.1186/s12864-020-6623-z. Disponible en: <https://bmcgenomics.biomedcentral.com/articles/10.1186/s12864-020-6623-z>

KOECHLER, S; et al. "Constitutive arsenite oxidase expression detected in arsenic-hypertolerant *Pseudomonas xanthomarina* S11". *Research in Microbiology* [en línea], 2015, (France) 166(3), pp.205-214. [Consulta: 1 marzo 2021]. ISSN 17697123. DOI 10.1016/j.resmic.2015.02.010. Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/25753102/>

KOMINEK, J; et al. "Eukaryotic Acquisition of a Bacterial Operon". *Cell* [en línea], 2019, (United State of America) 176(6), pp.1-22. [Consulta: 4 marzo 2021]. ISSN 10974172. DOI 10.1016/j.cell.2019.01.034. Disponible en: <https://doi.org/10.1016/j.cell.2019.01.034>.

KRUGER, M.C; et al. "Bacterial metabolism of environmental arsenic - Mechanisms and biotechnological applications". *Applied Microbiology and Biotechnology* [en línea], 2013,

(Germany) 97(9), pp.3827-3841. [Consulta: 6 marzo 2021]. ISSN 14320614. DOI 10.1007/s00253-013-4838-5. Disponible en: <https://link.springer.com/article/10.1007/s00253-013-4838-5>

LETT, M.C; et al. "Unified nomenclature for genes involved in prokaryotic aerobic arsenite oxidation". *Journal of Bacteriology* [en línea], 2012, (United State of America) 194(2), pp.207-208. [Consulta: 9 marzo 2021]. ISSN 00219193. DOI 10.1128/JB.06391-11. Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/22056935/>

LI, H; et al. "In silico analysis of bacterial arsenic islands reveals remarkable synteny and functional relatedness between arsenate and phosphate". *Frontiers in Microbiology* [en línea], 2013, (Switzerland) 4(11), pp.1-10. [Consulta: 9 febrero 2021]. ISSN 1664302X. DOI 10.3389/fmicb.2013.00347. Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/24312089/>

LI, J; et al. "Expression of arsenic resistance genes in the obligate anaerobe *Bacteroides vulgatus* ATCC 8482, a gut microbiome bacterium". *Anaerobe* [en línea], 2016, (United State of America) 1(1), pp.1-10. [Consulta: 11 febrero 2021]. ISSN 1075-9964. DOI 10.1016/j.anaerobe.2016.03.012. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1016/j.anaerobe.2016.03.012>.

LI, R; et al. "Transgenic *merA* and *merB* expression reduces mercury contamination in vegetables and grains grown in mercury-contaminated soil". *Plant Cell Reports* [en línea], 2020, (Germany) 39(10), pp.1369-1380. [Consulta: 12 febrero 2021]. ISSN 1432203X. DOI 10.1007/s00299-020-02570-8. Disponible en: <https://link.springer.com/article/10.1007%2Fs00299-020-02570-8>

LI, X; et al. "Genome Sequence of the Moderately Halotolerant , Arsenite-Oxidizing Bacterium *Pseudomonas stutzeri* TS44". *Journal Bacteriology* [en línea], 2012, (United State of America) 194(16), pp.4473-4474. [Consulta: 10 marzo 2021]. DOI 10.1128/JB.00907-12. Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/?term=%22J+Bacteriol%22%5Bjour%5D>.

LI, X; et al. "Genomic evidence reveals the extreme diversity and wide distribution of the arsenic-related genes in *Burkholderiales*". *PLoS ONE* [en línea], 2014, (United State of America) 9(3), pp.1-11. [Consulta: 15 febrero 2021]. ISSN 19326203. DOI 10.1371/journal.pone.0092236. Disponible en: <https://journals.plos.org/plosone/article?id=10.1371/journal.pone.0092236>

LIAN, P; et al. "X-ray Structure of a Hg²⁺ Complex of Mercuric Reductase (MerA) and Quantum Mechanical/Molecular Mechanical Study of Hg²⁺ Transfer between the C-Terminal and Buried

Catalytic Site Cysteine Pairs". *Biochemistry* [en línea], 2014, (United State of America) 53(46), pp.7211-7222. [Consulta: 15 febrero 2021]. ISSN 15204995. DOI 10.1021/bi500608u. Disponible en: <https://pubs.acs.org/doi/10.1021/bi500608u>

LIS, R; et al. "Biochimica et Biophysica Acta Arsenics as bioenergetic substrates". *BBA - Bioenergetics* [en línea], 2013, (Netherlands) 1827(2), pp.176-188. [Consulta: 16 febrero 2021]. ISSN 0005-2728. DOI 10.1016/j.bbabi.2012.08.007. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1016/j.bbabi.2012.08.007>.

LIU, X; et al. "Selective cadmium regulation mediated by a cooperative binding mechanism in CadR". *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* [en línea], 2019, (United State of America) 116(41), pp. 20398-20403. [Consulta: 19 febrero 2021]. ISSN 10916490. DOI 10.1073/pnas.1908610116. Disponible en: <https://www.pnas.org/content/early/2019/09/17/1908610116/tab-article-info?versioned=true>

LONDOÑO FRANCO, L.F; et al. "Los Riesgos De Los Metales Pesados En La Salud Humana Y Animal". *Biotechnología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial* [en línea], 2016, Colombia 14(2), p. 145. [Consulta: 21 febrero 2021]. ISSN 1909-9959. DOI 10.18684/bsaa(14)145-153. Disponible en: http://www.scielo.org.co/scielo.php?pid=S1692-35612016000200017&script=sci_abstract&tlng=es.

LY, K; et al. "Overexpression, purification and biophysical characterisation of *E. coli* MerT". *Protein Expression and Purification* [en línea], 2014, (United State of America) (10), pp.1-5. [Consulta: 21 febrero 2021]. ISSN 1046-5928. DOI 10.1016/j.pep.2014.11.016. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1016/j.pep.2014.11.016>.

MARCHAL, M; et al. "Life in an Arsenic-Containing Gold Mine : Genome and Physiology of the Autotrophic Arsenite-Oxidizing Bacterium *Rhizobium* sp.NT-26". *GBE* [en línea], 2013, 5(5), pp.934-953. [Consulta: 2 febrero 2021]. DOI 10.1093/gbe/evt061. Disponible en: <https://academic.oup.com/gbe/article/5/5/934/610482>

MARRENO, J; et al. "Mecanismos moleculares de resistencia a metales pesados en las bacterias y sus aplicaciones en la biorremediación". *Revista CENIC Ciencias Biológicas* [en línea], 2010, (Cuba) 40(1), pp.67-78. [Consulta: 3 febrero 2021]. ISSN 0253-5688. Disponible en: <https://www.redalyc.org/pdf/1812/181221644010.pdf>.

MARTÍNEZ-VALENCIA, R; et al. "Antiparallel membrane topology of paired short-chain

chromate transport proteins in *Bacillus subtilis*". *FEMS Microbiology Letters* [en línea], 2012, (United Kingdom) 336(2), pp.113-121. [Consulta: 6 febrero 2021]. ISSN 03781097. DOI 10.1111/j.1574-6968.2012.02661.x. Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/22900751/>

MAZHAR, S.H; et al. "Comparative Insights Into the Complete Genome Sequence of Highly Metal Resistant *Cupriavidus metallidurans* Strain BS1 Isolated From a Gold – Copper Mine". *Frontiers in Microbiology* [en línea], 2020, (Switzerland) 11(2). [Consulta: 14 febrero 2021]. DOI 10.3389/fmicb.2020.00047. Disponible en: <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fmicb.2020.00047/full>

MATSUI, K; et al. "Mercury resistance transposons in *Bacilli* strains from different geographical regions". *FEMS Microbiology* [en línea], 2016, (United Kingdom) 10(12), pp.1-8. [Consulta: 10 febrero 2021]. DOI 10.1093/femsle/fnw013. Disponible en: <https://academic.oup.com/femsle/article/363/5/fnw013/2570163>

MERGEAY, M; & HOUDT, R. Van. "Metal Response in *Cupriavidus metallidurans*". *Biomaterials* [en línea], 2015, (Netherlands) (1), pp.1-97. [Consulta: 11 febrero 2021]. ISSN 2191-5415. DOI 10.1007/978-3-319-20594-6. Disponible en: <https://link.springer.com/book/10.1007/978-3-319-20594-6>

MERGEAY, M; & HOUDT, R. Van. "*Cupriavidus metallidurans* CH34, a historical perspective on its discovery, characterization and metal resistance". *Ecología de Microbiología FEMS*, 2020, pp.1-16. Disponible en: <https://academic.oup.com/femsec/advance-article/doi/10.1093/femsec/fiaa247/6019867>

MERO, M; et al. "Concentration of cadmium in water, sediments, eichhornia crassipes and pomacea canaliculata in the Guayas (Ecuador) river and tributaries". *Revista Internacional de Contaminacion Ambiental* [en línea], 2019, (México) 35(3), pp.623-640. [Consulta: 14 febrero 2021]. ISSN 01884999. DOI 10.20937/RICA.2019.35.03.09. Disponible en: <https://www.revistascca.unam.mx/rica/index.php/rica/article/view/RICA.2019.35.03.09/46875>

MINDLIN, S; et al. "Resistance of Permafrost and Modern *Acinetobacter lwoffii* Strains to Heavy Metals and Arsenic Revealed by Genome Analysis". *BioMed Research International* [en línea], 2016, (United State of America) 20(16), pp.1-10. [Consulta: 14 febrero 2021]. ISSN 23146141. DOI 10.1155/2016/3970831. Disponible en: <https://www.hindawi.com/journals/bmri/2016/3970831/>

MINDLIN, S; et al. "Chromium resistance genetic element flanked by XerC/XerD

recombination sites and its distribution in environmental and clinical *Acinetobacter* strains". *FEMS Microbiology Letters* [en línea], 2018, (United Kingdom) 365(8), pp.1-6. [Consulta: 1 febrero 2021]. ISSN 15746968. DOI 10.1093/femsle/fny047. Disponible: <https://academic.oup.com/femsle/article/365/8/fny047/4919725>

MITTAL, P; et al. "Metagenome of a polluted river reveals a reservoir of metabolic and antibiotic resistance genes". *Environmental Microbiomes* [en línea], 2019, (United Kingdom) 14(1), pp.1-12. [Consulta: 13 febrero 2021]. ISSN 25246372. DOI 10.1186/s40793-019-0345-3. Disponible en: <https://environmentalmicrobiome.biomedcentral.com/articles/10.1186/s40793-019-0345-3>

MØLLER, A.K; et al. "Mercuric reductase genes (*merA*) and mercury resistance plasmids in High Arctic snow, freshwater and sea-ice brine". *FEMS Microbiology Ecology* [en línea], 2013, (United Kingdom). pp.52-63. [Consulta: 10 febrero 2021]. DOI 10.1111/1574-6941.12189. Disponible en: <https://academic.oup.com/femsec/article/87/1/52/508980>

MONACHESE, M; et al. "Bioremediation and tolerance of humans to heavy metals through microbial processes: A potential role for probiotics". *Applied and Environmental Microbiology* [en línea], 2012, (United State of America) 78(18), pp.1-8. [Consulta: 22 febrero 2021]. ISSN 00992240. DOI 10.1128/AEM.01665-12. Disponible en: <https://aem.asm.org/content/78/18/6397>

MORAIS VASCONCELOS, P; et al. "Chromium resistance strategies and toxicity: what makes *Ochrobactrum tritici* 5bv11 a strain highly resistant". *Biometals (2011)* [en línea], 2011, (Netherlands) 24(1), pp.401-410. [Consulta: 2 enero 2021]. DOI 10.1007/s10534-011-9446-1. Disponible en: <https://link.springer.com/article/10.1007%2Fs10534-011-9446-1>.

NADAR, V.S; et al. "Structure of the ArsI C-As Lyase: Insights into the Mechanism of Degradation of Organoarsenical Herbicides and Growth Promoters". *Journal of Molecular Biology* [en línea], 2016, (United State of America) 428(11), pp.1-32. [Consulta: 8 enero 2021]. ISSN 10898638. DOI 10.1016/j.jmb.2016.04.022. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1016/j.jmb.2016.04.022>.

NADAR, V.S; et al. "Arsinothricin, an arsenic-containing non-proteinogenic amino acid analog of glutamate, is a broad-spectrum antibiotic". *Communications Biology* [en línea], 2019, (United State of America) 2(1). [Consulta: 30 enero 2021]. ISSN 23993642. DOI 10.1038/s42003-019-0365-y. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1038/s42003-019-0365-y>.

NAGUIB, M.M; et al. "Microbial Diversity of Mer Operon Genes and Their Potential Roles in

Mercury Bioremediation and Resistance". *The Open Biotechnology Journal* [en línea], 2018, 12(1), pp.56-77. [Consulta: 10 enero 2021]. ISSN 1874-0707. DOI 10.2174/1874070701812010056.

NANDA, M; et al. "Multimetal tolerance mechanisms in bacteria: The resistance strategies acquired by bacteria that can be exploited to 'clean-up' heavy metal contaminants from water". *Aquatic Toxicology* [en línea], 2019, (Netherlands) 212(4), pp.1-10. [Consulta: 20 enero 2021]. ISSN 18791514. DOI 10.1016/j.aquatox.2019.04.011. Disponible en: <https://doi.org/10.1016/j.aquatox.2019.04.011>.

NESLER, A; et al. "Functional components of the bacterial CzcCBA efflux system reduce cadmium uptake and accumulation in transgenic tobacco plants". *New Biotechnology* [en línea], 2017, (Netherlands) 35(1), pp.54-61. [Consulta: 05 enero 2021]. ISSN 18764347. DOI 10.1016/j.nbt.2016.11.006. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1016/j.nbt.2016.11.006>.

NIES, D.H. "Transportome of *Cupriavidus metallidurans* Introduction : Cupriavidus". *Metallomics* [en línea], 2016, (United Kingdom) 8(1), pp.23-26. [Consulta: 17 enero 2021]. DOI 10.1039/c5mt00320b. Disponible en: <https://pubs.rsc.org/en/content/articlelanding/2016/mt/c5mt00320b#!divAbstract>

OMS. *Aspectos químicos. Guías para Calidad del Agua Potable* [en línea], 2006. pp. 127-171. [Consulta: 14 marzo 2021]. Disponible en: https://www.who.int/water_sanitation_health/dwq/gdwq3_es_8.pdf?ua=1

ORDOÑEZ, O.F; et al. "Genome comparison of two *Exiguobacterium* strains from high altitude andean lakes with different arsenic resistance : identification and 3D modeling of the Acr3 efflux pump". *Frontiers in Environmental Science* [en línea], 2015, (United State of America) 3(9), pp.1-12. [Consulta: 1 febrero 2021]. DOI 10.3389/fenvs.2015.00050. Disponible en: <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fenvs.2015.00050/full>

ÖZYURT, C; et al. "MerR-fluorescent protein chimera biosensor for fast and sensitive detection of Hg²⁺ in drinking water". *Biotechnology and Applied Biochemistry* [en línea], 2019, (United State America) 66(5), pp.731-737. [Consulta: 1 marzo 2021]. ISSN 14708744. DOI 10.1002/bab.1805. Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31411759/>

PÁEZ-ESPINO, A.D; et al. "ArsH protects *Pseudomonas putida* from oxidative damage caused by exposure to arsenic". *Environmental Microbiology* [en línea], 2020, (United Kingdom) 22,

pp.2230-2242. [Consulta: 6 marzo 2021]. DOI 10.1111/1462-2920.14991. Disponible en: <https://sfamjournals.onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1111/1462-2920.14991>

PAISIO, C.E; et al. "Remediación biológica de Mercurio: Recientes avances Resumen Biological remediation of Mercury : Recent advances Abstract". *Revista Latinoamericana de Biotecnología Ambiental* [en línea], 2012, 3(2), pp.119-146. [Consulta: 9 marzo 2021]. Disponible en: <http://eca-suelo.com.pe/wp-content/uploads/2018/08/32.-Remediaci%C3%B3n-biol%C3%B3gica-de-Mercurio-Recientes-avances.pdf>

PARSONS, C; et al. "Dissemination and conservation of cadmium and arsenic resistance determinants in *Listeria* and other Gram-positive bacteria". *Wiley on Library* [en línea], 2020, no. December 2019, pp.560-569. [Consulta: 20 marzo 2021]. DOI 10.1111/mmi.14470. Disponible en: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1111/mmi.14470>

POMBINHO, R; et al. "*Listeria monocytogenes* CadC regulates cadmium efflux and fine-tunes lipoprotein localization to escape the host immune response and promote infection". *Journal of Infectious Diseases* [en línea], 2017, (United Kingdom) 215(9), pp.1468-1479. [Consulta: 27 marzo 2021]. ISSN 15376613. DOI 10.1093/infdis/jix118. Disponible: <https://academic.oup.com/jid/article/215/9/1468/3079397>

PRABAHARAN, C; et al. "Structure of two ArsR As (III) responsive transcriptional repressors : implications for the mechanism of derepression". *Journal Structure Biology* [en línea], 2020, 207(2), pp.209-217. [Consulta: 22 enero 2021]. DOI 10.1016/j.jsb.2019.05.009.Structures. Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31136796/>

PRABHAKARAN, R; et al. "Identification of promoter P cadR, in silico characterization of cadmium resistant gene cadR and molecular cloning of promoter P cadR from *Pseudomonas aeruginosa* BC15". *Toxicology and Industrial Health* [en línea], 2018, (United Kingdom) 34(12), pp.819-833. [Consulta: 10 enero 2021]. ISSN 14770393. DOI 10.1177/0748233718795934. Disponible en: <https://journals.sagepub.com/doi/abs/10.1177/0748233718795934>

PRADHAN, S.K; et al. "Bacterial chromate reduction: A review of important genomic, proteomic, and bioinformatic analysis". *Critical Reviews in Environmental Science and Technology* [en línea], 2016, (United Kingdom) 46(21-22), pp.1-82. [Consulta: 8 enero 2021]. ISSN 15476537. DOI 10.1080/10643389.2016.1258912. Disponible en: <https://www.tandfonline.com/doi/abs/10.1080/10643389.2016.1258912?journalCode=best20>

PRIETO-BARAJAS, C.M; et al. "Identificación y análisis de genes ars en cepas de *Bacillus* hipertolerantes al arsénico, aisladas de pozas termales en Araró, México". *TIP Revista Especializada en Ciencias Químico-Biológicas* [en línea], 2018, 21(3), pp.22-29. [Consulta: 22 enero 2021]. ISSN 1405-888X. DOI 10.22201/fesz.23958723e.2018.0.145. Disponible en: <http://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/>).

QUISPE, E; et al. "Resistencia in vitro al plomo y mercurio por la comunidad bacteriana de las aguas del río ramispuno, Perú in vitro resistance to lead and mercury for the bacterial community in the waters of the river ramispuno Peru". *Revista de investigaciones de la escuela de posgrado. Universidad del Antiplano* [en línea], 2017, (Perú) 6(051), pp.202-212. [Consulta: 3 febrero 2021]. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.26788/riepg.2017.43>.

RADESTOCK, S; & FORREST, L.R. "The Alternating-Access Mechanism of MFS Transporters Arises from Inverted Topology Repeats". *Journal of Molecular Biology* [en línea], 2011, (United State of America) 407(5), pp.698-715. [Consulta: 6 febrero 2021]. ISSN 0022-2836. DOI 10.1016/j.jmb.2011.02.008. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1016/j.jmb.2011.02.008>.

RAHMAN, M.A; & HASSLER, C. "Is arsenic biotransformation a detoxification mechanism for microorganisms". *Aquatic Toxicology* [en línea], 2014, (Netherlands) 146(1), pp.212-219. [Consulta: 08 febrero 2021]. ISSN 0166-445X. DOI 10.1016/j.aquatox.2013.11.009. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1016/j.aquatox.2013.11.009>.

RANGEL, D; & DUSSAN, J. "Transcriptional analysis and molecular dynamics simulations reveal the mechanism of toxic metals removal and efflux pumps in *Lysinibacillus*". *International Biodeterioration and Biodegradation* [en línea], 2018, (Netherlands) 127(6), pp.46-61. [Consulta: 11 febrero 2021]. ISSN 0964-8305. DOI 10.1016/j.ibiod.2017.11.016. Disponible en: <https://doi.org/10.1016/j.ibiod.2017.11.016>.

REYES, Y; et al. "Contaminación por metales pesados: implicaciones en salud, ambiente y seguridad alimentaria". *The Indian Journal of Pediatrics* [en línea], 2016, (India) 16(1), pp.1-12. [Consulta: 12 febrero 2021]. ISSN 00195456. DOI 10.1007/BF02796157. Disponible en: <https://dialnet.unirioja.es/servlet/articulo?codigo=6096110>

RISO, J. Técnicas de investigación documental [en línea] (Trabajo de Titulación). (Pregrado) *Universidad Nacional Autónoma de Nicaragua, Nicaragua*. 2015. pp.1-131. [Consulta: 15 febrero 2021]. Disponible en: <https://repositorio.unan.edu.ni/12168/1/100795.pdf>.

ROBLES, A; & PEREZ, H. "Aspectos básicos de los mecanismos de resistencia bacteriana". *Revista Médica MD* [en línea], 2013, (Chile) 4(3), pp.186-191. [Consulta: 16 febrero 2021]. Disponible en: <https://www.medigraphic.com/cgi-bin/new/resumen.cgi?IDARTICULO=41421>.

RODRÍGUEZ, Lorena. Aislamiento y caracterización de bacterias resistentes a metales pesados obtenidas de ambientes contaminados con derivados de hidrocarburos en la ciudad de Riobamba [en línea] (Trabajo de titulación). (Pregrado) Escuela Superior Politécnica de Chimborazo, Riobamba, Ecuador. 2017. pp.1-100 [Consulta: 3 diciembre 2020]. Disponible en: <http://dspace.esPOCH.edu.ec/handle/123456789/6625>.

RODRÍGUEZ, P.A; & ARENAS, R. "Hans Christian Gram y su tinción". *Dermatología Cosmética, Medica y Quirúrgica* [en línea], 2018, (México) 16(2), pp.166-167. [Consulta: 8 diciembre 2020]. Disponible en: <https://www.medigraphic.com/cgibin/new/resumen.cgi?IDARTICULO=80715%0Ahttp://www.medigraphic.com/pdfs/cosmetica/dcm-2018/dcm182n.pdf>.

ROOINTAN, A; et al. "Designing a bacterial biosensor for detection of mercury in water solutions". *Turkish Journal of Biology* [en línea], 2015, (Turkey) 39(4), pp.550-555. [Consulta: 11 diciembre 2020]. ISSN 13036092. DOI 10.3906/biy-1411-49. Disponible en: <https://dergipark.org.tr/tr/pub/tbtkbiology/issue/11762/140545>

ROOSA, S; et al. "Bacterial metal resistance genes and metal bioavailability in contaminated sediments". *Environmental Pollution* [en línea], 2014, (United Kingdom) 189, pp.143-151. [Consulta: 13 diciembre 2020]. ISSN 18736424. DOI 10.1016/j.envpol.2014.02.031. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1016/j.envpol.2014.02.031>.

ROSAS ARANGO, S; et al. "Aplicaciones biotecnológicas de los microorganismos". *Nova* [en línea], 2019, vol. 17, (Colombia) (31), pp.129-163. [Consulta: 31 diciembre 2020]. Disponible en: <http://www.scielo.org.co/pdf/nova/v17n31/1794-2470-nova-17-31-129.pdf>

ROSSO, C; & DUSSAN, J. "Análisis de transferencia horizontal de genes en ensayos de biorremediación con grasas recalcitrantes Analysing horizontal gene transfer in bioremediation trials using recalcitrant grease". *Revista Colombiana de Biotecnología* [en línea], 2010, (Colombia) (12), pp.22-31. [Consulta: 1 diciembre 2020]. Disponible en: <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=77617786003%0ACómo>.

RUUSKANEN, M.O; & POULAIN, A.J. "Swift evolutionary response of microbes to a rise in

anthropogenic mercury in the Northern Hemisphere". *The ISME Journal* [en línea], 2020, 14(1), pp.788-800. [Consulta: 1 enero 2021]. ISSN 1751-7370. DOI 10.1038/s41396-019-0563-0. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1038/s41396-019-0563-0>.

SALUSSO, A; & RAIMUNDA, D. "Defining the roles of the cation diffusion facilitators in Fe²⁺/Zn²⁺ homeostasis and establishment of their participation in virulence in *Pseudomonas aeruginosa*". *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology* [en línea], 2017, (Switzerland) 7(3), pp.1-14. [Consulta: 29 diciembre 2020]. ISSN 22352988. DOI 10.3389/fcimb.2017.00084. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5357649/>.

SÁNCHEZ, L; et al. "Análisis estructural de la superóxido dismutasa ChrC de *Ochrobactrum tritici*". *Visum Mundi* [en línea], 2019, 3(1), pp.173-179. [Consulta: 17 diciembre 2020]. Disponible:https://www.researchgate.net/publication/342165088_Analisis_estructural_de_la_su_peroxido_dismutasa_ChrC_de_Ochrobactrum_tritici.

SAYED, A.; et al. "A novel mercuric reductase from the unique deep brine environment of atlantis II in the red sea". *Journal of Biological Chemistry* [en línea], 2014, (United State of America) 289(3), pp.1675-1687. [Consulta: 18 marzo 2021]. ISSN 00219258. DOI 10.1074/jbc.M113.493429. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3894346/>.

SCHMIDT, T. *Topics in Ecological and Environmental Microbiology* [en línea]. Elsevier, 2012. [Consulta: 18 marzo 2021]. Disponible en: https://books.google.com.ec/books?hl=es&lr=&id=PuQBAAAQBAJ&oi=fnd&pg=PP1&dq=Topics+in+Ecological+and+Environmental+Microbiology&ots=7BimqMrWEQ&sig=HI0PWA mawqOvtuqxmZN_gkAkt6A#v=onepage&q=Topics%20in%20Ecological%20and%20Environmental%20Microbiology&f=false

SHARMA, P; et al. "Construction of an *Escherichia coli* Biosensor for Cd²⁺ and Sensitivity Analysis by Low-temperature Induction". *Journal of Biosciences* [en línea], 2013, (India) 38(2), pp.251-258. [Consulta: 02 diciembre 2020]. ISSN 02505991. DOI 10.1007/s12038-013-9305-z. Disponible en: <https://link.springer.com/article/10.1007/s12038-013-9305-z>

SHEN, Z; et al. "The Contribution of ArsB to Arsenic Resistance in *Campylobacter jejuni*". *PLoS ONE* [en línea], 2013, (United State of America) 8(3), pp.1-8. [Consulta: 08 enero 2021]. ISSN 19326203. DOI 10.1371/journal.pone.0058894. Disponible en: <https://journals.plos.org/plosone/article?id=10.1371/journal.pone.0058894>

SHEN, Z; et al. "Identification of a novel membrane transporter mediating resistance to organic arsenic in *Campylobacter jejuni*". *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* [en línea], 2014, (United State of America) 58(4), pp.2021-2029. [Consulta: 27 diciembre 2020]. ISSN 10986596. DOI 10.1128/AAC.02137-13. Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/24419344/>

SHI, K; et al. "Arsenite oxidation regulator AioR regulates bacterial chemotaxis towards arsenite in *Agrobacterium tumefaciens* GW4". *Scientific Reports* [en línea], 2017, (United Kingdom) 7(1), pp.1-11. [Consulta: 31 diciembre 2020]. ISSN 20452322. DOI 10.1038/srep43252. Disponible en: <https://www.nature.com/articles/srep43252>

SHI, K; et al. "Efflux Transporter ArsK Is Responsible for Bacterial Resistance to Arsenite, Antimonite, Trivalent Roxarsone, and Methylarsenite". *Applied and Environmental Microbiology* [en línea], 2018, (United State of America) 84(24), pp.1-13. [Consulta: 29 diciembre 2020]. Disponible en: <https://aem.asm.org/content/84/24/e01842-18>

SHI, L.D; et al. "Metagenomic evidence for a Methylocystis species capable of bioremediation of diverse heavy metals". *Frontiers in Microbiology* [en línea], 2019, (Switzerland) 10(6), pp.1-10. [Consulta: 29 diciembre 2020]. ISSN 1664302X. DOI 10.3389/fmicb.2018.03297.

SILVA, P.J; & RODRIGUES, V. "Mechanistic pathways of mercury removal from the organomercurial lyase active site". *PeerJ* [en línea], 2015, (United State of America) 2015(7), pp.1-18. [Consulta: 04 enero 2021]. ISSN 21678359. DOI 10.7717/peerj.1127. Disponible en: <https://peerj.com/articles/1127/>

SONE, Y; et al. "Role of MerC , MerE , MerF , MerT , and / or MerP in Resistance to Mercurials and the Transport of Mercurials in *Escherichia coli*". *Biol. Pharm. Bull* [en línea], 2013a, (Japan) 36(11), pp.1835-1841. [Consulta: 07 enero 2021]. DOI 10.1248/bpb.b13-00554. Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/23985830/>

SONE, Y; et al. "Increase methylmercury accumulation in *Arabidopsis Thaliana* expressing bacterial broad-spectrum mercury transporter MerE". *AMB Express* [en línea], 2013b, (Germany) 3(1), pp.1-8. [Consulta: 22 enero 2021]. ISSN 21910855. DOI 10.1186/2191-0855-3-52. Disponible en: <https://amb-express.springeropen.com/articles/10.1186/2191-0855-3-52>

SONE, Y; et al. "Cysteine and histidine residues are involved in *Escherichia coli* Tn 21 MerE methylmercury transport". *Frontiers in Microbiology*, 2017, (Switzerland) 7(1), pp.1994-1999. [Consulta: 6 febrero 2021]. DOI 10.1002/2211-5463.12341. Disponible en:

<https://febs.onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1002/2211-5463.12341>

SOUSA, T; et al. "Hyper Accumulation of Arsenic in Mutants of *Ochrobactrum tritici* Silenced for Arsenite Efflux Pumps". *PLos One* [en línea], 2015, (United State of America) 10(8), pp.1-14. [Consulta: 3 enero 2021]. DOI 10.1371/journal.pone.0131317. Disponible en: <https://journals.plos.org/plosone/article?id=10.1371/journal.pone.0131317>

SRIVASTAVA, P; & KOWSHIK, M. "Mechanisms of metal resistance and homeostasis in Haloarchaea". *Archaea* [en línea], 2013, (Egypt) 2013(1), pp.1-16. [Consulta: 29 enero 2021]. ISSN 14723646. DOI 10.1155/2013/732864. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1155/2013/732864%0AReview>.

STAHL, A; et al. "*Marinobacter adhaerens* HP15 harbors two CzcCBA efflux pumps involved in zinc detoxification". *Antonie van Leeuwenhoek* [en línea], 2015, (Netherlands) 8(1). [Consulta: 28 febrero 2021]. ISSN 1572-9699. DOI 10.1007/s10482-015-0520-5. Disponible en: <https://link.springer.com/article/10.1007/s10482-015-0520-5>

STANINSKA-PIĘTA, J; et al. "Heavy metals as a factor increasing the functional genetic potential of bacterial community for polycyclic aromatic hydrocarbon biodegradation". *Molecules* [en línea], 2020, (Switzerland) 25(2), pp.1-15. [Consulta: 25 febrero 2021]. ISSN 14203049. DOI 10.3390/molecules25020319. Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31941126/>.

SUHADOLNIK, M; et al. "Comprehensive insights into arsenic- and iron-redox genes, their taxonomy and associated environmental drivers deciphered by a meta-analysis". *Environmental International* [en línea], 2021, (United Kingdom) 146(106234), pp.1-11. [Consulta: 3 enero 2021]. ISSN 18736750. DOI 10.1016/j.envint.2020.106234. Disponible en:

TÁBORA SARMIENTO, S.D. Efecto del Cobre y Zinc en la Comunidad Microbiana del Río Arkansas, Leadville, Colorado, Estados Unidos [en línea] (Trabajo de Titulación). (Pregrado) Escuela Agrícola Panamericana, Zamorano, Honduras, 2017. pp.1-44. [Consulta: 16 enero 2021]. Disponible en: <https://bdigital.zamorano.edu/bitstream/11036/5977/1/IAD-2017-043.pdf%0A>.

TAGHAVI, S; et al. "Comparative genomics and functional analysis of niche-specie". *FEMS Microbiology Reviews* [en línea], 2011, (United Kingdom) 35(1), pp.299-323. [Consulta: 30 enero 2021]. DOI 10.1111/j.1574-6976.2010.00249.x. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3056050/>.

TERRADAS, J. *Noticias sobre Evolución* [en línea]. Universidad Autonoma de Barcelona,

2015, Bellaterra: s.n. [Consulta: 1 enero 2021]. ISBN 9788460664024. Disponible en:

THATOI, H.N; & PRADHAN, S.K. "Detoxification and bioremediation of hexavalent chromium using microbes and their genes: An insight into genomic, proteomic and bioinformatics studies". *Microbial Biotechnology* [en línea], 2018, (Unites Kingdom) 1(1), pp.287-306. [Consulta: 11 enero 2021]. DOI 10.1007/978-981-10-6847-8_13. Disponible en: https://www.researchgate.net/publication/322999780_Detoxification_and_Bioremediation_of_Hexavalent_Chromium_Using_Microbes_and_Their_Genes_An_Insight_into_Genomic_Proteomic_and_Bioinformatics_Studies

TRONCOSO, C., et al. "Structural and physiological implications of bacterial cell in antibiotic resistance mechanisms (Chile)". *International Journal of Morphology* [en línea], 2017, (Chile) 35(4), pp.1214-1223. [Consulta: 04 marzo 2021]. ISSN 0717-9502. DOI 10.4067/S0717-95022017000401214. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.4067/S0717-95022017000401214>.

UHRYNOWSKI, W, et al. "Genomic analysis of *Shewanella* sp.O23s—the natural host of the pshb plasmid carrying genes for arsenic resistance and dissimilatory reduction". *International Journal of Molecular Sciences* [en línea], 2019, (Switzerland) 20(5). pp. 1-23. [Consulta: 02 enero 2021]. ISSN 14220067. DOI 10.3390/ijms20051018. Disponible en: <https://www.mdpi.com/1422-0067/20/5/1018>

VASCONEZ, L; & DURÁN, W. "Evaluación ambiental de lacuena del río gala del cantón camilo ponce enríquez ” [en línea] (Trabajo de Titulación). (Pregrado) Universidad Politécnica Salesiana, Quito, Ecuador, 2015. pp.8-10. [Consulta: 04 marzo 2021]. Disponible en: <https://dspace.ups.edu.ec/bitstream/123456789/8809/1/UPS-CT005022.pdf>.

VERA, O. "Como Escribir Artículos de Revisión". *Revista Med. La Paz* [en línea], 2009, 15(02), pp.63-69. [Consulta: 06 diciembre 2020]. ISSN 0716-4548. DOI 10.1055/s-0037-1606585. Disponible en: http://www.scielo.org.bo/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1726-89582009000100010

VERDUZCO-ROSAS; et al. "An Lrp-type transcriptional regulator controls expression of the *Bacillus subtilis* chromate transporter". *Antonie van Leeuwenhoek* [en línea], 2013, vol. 104, (Netherlands) (941–948), pp.1-8. [Consulta: 01 marzo 2021]. DOI 10.1007/s10482-013-0013-3. Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/23989926/>

VILLADANGOS, A.F; et al. "Efflux permease CgAcr3-1 of *Corynebacterium glutamicum* is an

arsenite-specific antiporter". *Journal of Biological Chemistry* [en línea], 2012, (United State of America) 287(1), pp.723-735. [Consulta: 01 marzo 2021] ISSN 00219258. DOI 10.1074/jbc.M111.263335. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1074/jbc.M111.263335>.

VILLADANGOS, A.F et al. "*Corynebacterium glutamicum* survives arsenic stress with arsenate reductases coupled to two distinct redox mechanisms". *Molecular Microbiology* [en línea], 2011, (United Kingdom) 82(4), pp.998-1014. [Consulta: 25 febrero 2021]. ISSN 0950382X. DOI 10.1111/j.1365-2958.2011.07882.x. Disponible en: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1111/j.1365-2958.2011.07882.x>

VITI, C; et al. "Molecular mechanisms of Cr (VI) resistance in bacteria and fungi". *FEMS Microbiology Review* [en línea], 2014, (United Kingdom) 38(6), pp.633-659. [Consulta: 19 febrero 2021]. DOI 10.1111/1574-6976.12051. Disponible en: <https://academic.oup.com/femsre/article/38/4/633/756702>

VITORINO, L.C; & BESSA, L.A. "Technological microbiology: Development and applications". *Frontiers in Microbiology* [en línea], 2017, (Switzerland) 8(5), pp.1-23. [Consulta: 1 febrero 2021]. ISSN 1664302X. DOI 10.3389/fmicb.2017.00827. Disponible en: <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fmicb.2017.00827/full>

WAHBA, H.M; et al. "Structural and Biochemical Characterization of a Copper-Binding Mutant of the Organomercurial Lyase MerB: Insight into the Key Role of the Active Site Aspartic Acid in Hg-Carbon Bond Cleavage and Metal Binding Specificity". *Biochemistry* [en línea], 2016, (United State of America) 55(7), pp.1070-1081. [Consulta: 3 febrero 2021]. ISSN 15204995. DOI 10.1021/acs.biochem.5b01298. Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/26820485/>

WANG, D; et al. "Structural basis of Zn (II) induced metal detoxification and antibiotic resistance by histidine kinase CzcS in *Pseudomonas aeruginosa*". *PLOS PATHOGENS* [en línea], 2017, (United State of America) (2), pp.1-21. [Consulta: 13 enero 2021]. DOI 10.1371/journal.ppat.1006533. Disponible en: <https://journals.plos.org/plospathogens/article?id=10.1371/journal.ppat.1006533>

WARELOW, T.P; et al. "The Respiratory Arsenite Oxidase: Structure and the Role of Residues Surrounding the Rieske Cluster". *PLoS ONE* [en línea], 2013, (United State of America) 8(8), pp.1-10. [Consulta: 10 marzo 2021] ISSN 19326203. DOI 10.1371/journal.pone.0072535. Disponible en: <https://journals.plos.org/plosone/article?id=10.1371/journal.pone.0072535>.

WU, X; et al. "Construction of an *Escherichia coli* Biosensor for Cd²⁺ and Sensitivity Analysis by Low-temperature Induction WU". *Revista de biociencias* [en línea], 2018, 26(1501020), pp.2176-2184. [Consulta: 1 enero 2021]. DOI 10.3969/j.issn.1674-7968.2018.12.019. Disponible en: <https://link.springer.com/article/10.1007%2Fs12038-013-9305-z>.

XIAO, K.Q; et al. "Metagenomic analysis revealed highly diverse microbial arsenic metabolism genes in paddy soils with low-arsenic contents". *Environmental Pollution* [en línea], 2016, (United Kingdom) 211(1), pp.1-8. [Consulta: 24 enero 2021]. ISSN 18736424. DOI 10.1016/j.envpol.2015.12.023. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1016/j.envpol.2015.12.023>.

XU, S; et al. "Overexpression of a bacterial mercury transporter MerT in *Arabidopsis* enhances mercury tolerance". *Biochemical and Biophysical Research Communications* [en línea], 2017, (United State of America) 490(2), pp.528-534. [Consulta: 3 febrero 2021]. ISSN 10902104. DOI 10.1016/j.bbrc.2017.06.073. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1016/j.bbrc.2017.06.073>.

XUE, X; et al. "ArsH from *Synechocystis* sp.PCC 6803 reduces chromate and ferric iron". *FEMS Microbiology Letters* [en línea], 2014, (United Kingdom) 32(6), pp.1-8. [Consulta: 10 febrero 2021]. DOI 10.1111/1574-6968.12481. Disponible en: <https://academic.oup.com/femsle/article/356/1/105/637128>

YAN, G; et al. "Genetic mechanisms of arsenic detoxification and metabolism in bacteria". *Current Genetics* [en línea], 2019, (Germany) 65(2), pp.329-338. [Consulta: 27 febrero 2021]. ISSN 1432-0983. DOI 10.1007/s00294-018-0894-9. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1007/s00294-018-0894-9>.

YANG, J; et al. "Genetic mapping of the interface between the ArsD metallochaperone and the ArsA ATPase". *Molecular Microbiology* [en línea], 2011, (United Kingdom) 79(4), pp.872-881. [Consulta: 7 enero 2021]. ISSN 0950382X. DOI 10.1111/j.1365-2958.2010.07494.x. Disponible en: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1111/j.1365-2958.2010.07494.x>.

YAN, Y; et al. "Arsenic Demethylation by a C · As Lyase in *Cyanobacterium Nostoc* sp. PCC 7120". *Environmental Science Technology* [en línea], 2015, (United State of America) 49(24), pp.14350-14358. [Consulta: 11 enero 2021]. DOI 10.1021/acs.est.5b03357. Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/26544154/>

YANG, H.C; & ROSEN, B.P. "New mechanisms of bacterial arsenic resistance". *Biomedical Journal* [en línea], 39(1), pp.5-13. [Consulta: 15 febrero 2021]. ISSN 23194170. DOI

10.1016/j.bj.2015.08.003. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1016/j.bj.2015.08.003>.

YING, X; et al. "Biotransformation and Volatilization of Arsenic by Three". *Plant Physiology* [en línea], 2011, 156(7), pp.1631-1638. [Consulta: 30 enero 2021]. DOI 10.1104/pp.111.178947. Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/21562336/>.

YOSHINAGA, M; & ROSEN, B.P. "A C-As lyase for degradation of environmental organoarsenical herbicides and animal husbandry growth promoters". *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* [en línea], 2014, (United State of America) 111(21), pp.7701-7706. [Consulta: 2 enero 2021]. ISSN 10916490. DOI 10.1073/pnas.1403057111. Disponible en: www.pnas.org/lookup/suppl/doi:10.1073/pnas.1403057111/-/DCSupplemental.

YU, X; et al. "An operon consisting of a p-type atpase gene and a transcriptional regulator gene responsible for cadmium resistances in *Bacillus vietamensis* 151-6 and *Bacillus marisflavi* 151-25". *BMC Microbiology* [en línea], 2020, (United Kingdom) 20(1), pp.1-13. [Consulta: 19 enero 2021]. ISSN 14712180. DOI 10.1186/s12866-020-1705-2. Disponible en: <https://bmcmicrobiol.biomedcentral.com/articles/10.1186/s12866-020-1705-2>

YU, Z; et al. "Antimicrobial resistance and its association with tolerance to heavy metals in agriculture production". *Food Microbiology* [en línea], 2017, (United State of America) 64(23-32). [Consulta: 16 enero 2021]. ISSN 10959998. DOI 10.1016/j.fm.2016.12.009. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1016/j.fm.2016.12.009>.

YU, X; et al. "Transcriptional and posttranscriptional regulation of *Bacillus sp.*CDB3 arsenic-resistance operon *arsI*". *PeerJ* [en línea], 2015, (United State of America) 2015(9), pp.1-15. [Consulta: 07 enero 2021]. ISSN 21678359. DOI 10.7717/peerj.1230. Disponible en: <https://peerj.com/articles/1230/>.

ZHANG, Hui; et al. "Plasmid-borne cadmium resistant determinants are associated with the susceptibility of *Listeria monocytogenes* to bacteriophage". *Microbiological Research* [en línea], 2015, (Germany) 172(2), pp.1-6. [Consulta: 30 diciembre 2020]. ISSN 09445013. DOI 10.1016/j.micres.2015.01.008. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1016/j.micres.2015.01.008>.

ZHANG, J; et al. "Arsenic Methylation and Volatilization by Arsenite S -Adenosylmethionine Methyltransferase in *Pseudomonas alcaligenes* NBRC14159". *Applied and Environmental Microbiology* [en línea], 2015, 81(8), pp.2852-2860. [Consulta: 19 diciembre 2020]. DOI

10.1128/AEM.03804-14.

Disponible

en:

<https://aem.asm.org/content/early/2015/02/10/AEM.03804-14?versioned=true>

ZHANG, J; et al. "MerP/MerT-mediated mechanism: A different approach to mercury resistance and bioaccumulation by marine bacteria". *Journal of Hazardous Materials* [en línea], 2020, (Netherlands) 388(1), pp.122062. [Consulta: 07 febrero 2021]. ISSN 18733336. DOI 10.1016/j.jhazmat.2020.122062. Disponible en: <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2020.122062>.

ZHAO, C; et al. "Insights into arsenic multi-operons expression and resistance mechanisms in *Rhodopseudomonas palustris* CGA009". *Frontiers in Microbiology* [en línea], 2015, (Switzerland) 6(9), pp.1-8. [Consulta: 07 febrero 2021]. ISSN 1664302X. DOI 10.3389/fmicb.2015.00986.

Disponible

en:

<https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fmicb.2015.00986/full>

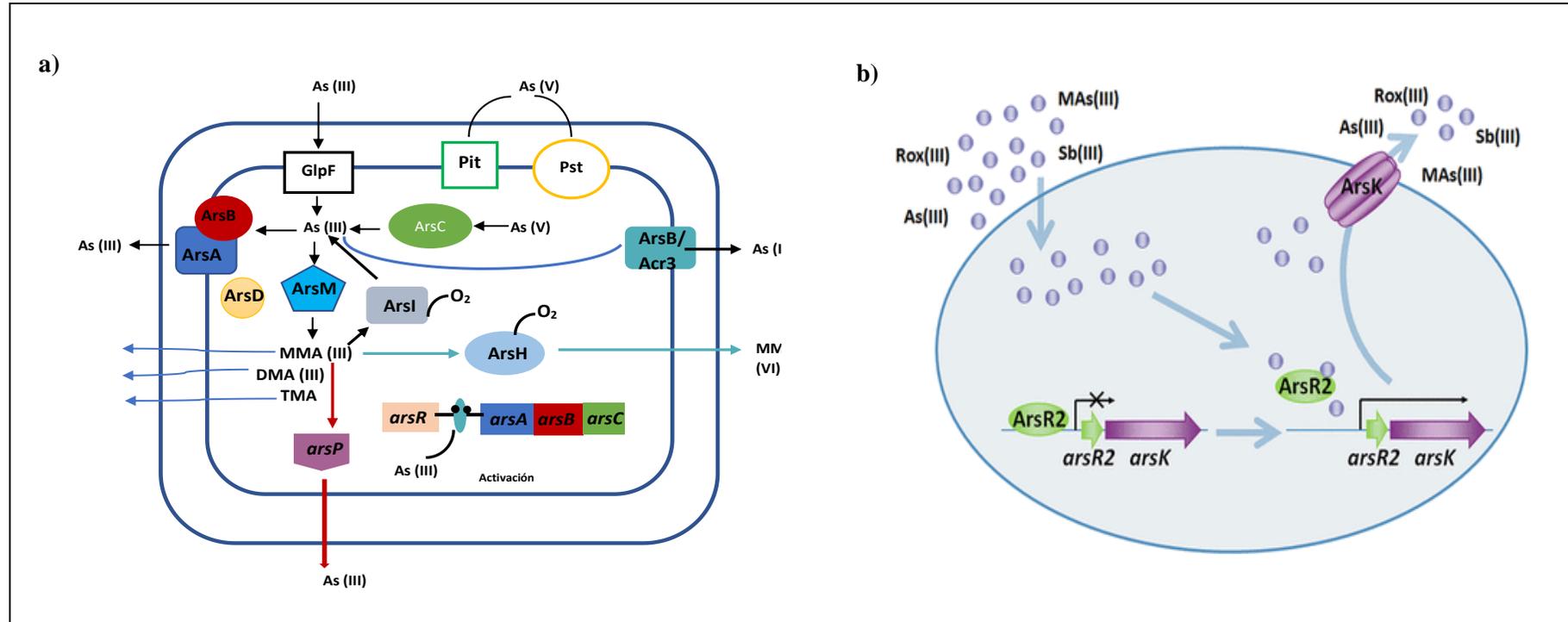
ZHENG, R; et al. "Genetic and Physiological Adaptations of Marine Bacterium *Pseudomonas stutzeri* 273 to Mercury Stress". *Frontiers in microbiology* [en línea], 2018, (Switzerland) 9(4), pp.1-14. [Consulta: 28 febrero 2021]. DOI 10.3389/fmicb.2018.00682. Disponible en: <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fmicb.2018.00682/full>

ZHOU, X; et al. "Removal of chromium (VI) by *Escherichia coli* cells expressing cytoplasmic or surface displayed *chrB*: A comparative study". *Journal of Microbiology and Biotechnology* [en línea], 2020, (South Korea) 30(7), pp.996-1004. [Consulta: 20 febrero 2021]. ISSN 17388872. DOI 10.4014/jmb.1912.12030. Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32238765/>

ZHU, Y.G; et al. "Earth abides arsenic biotransformations". *Annual Review of Earth and Planetary Sciences* [en línea], 2014, (United State of America) 42(1), pp.443-467. [Consulta: 25 enero 2021]. ISSN 00846597. DOI 10.1146/annurev-earth-060313-054942. Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/26778863/>

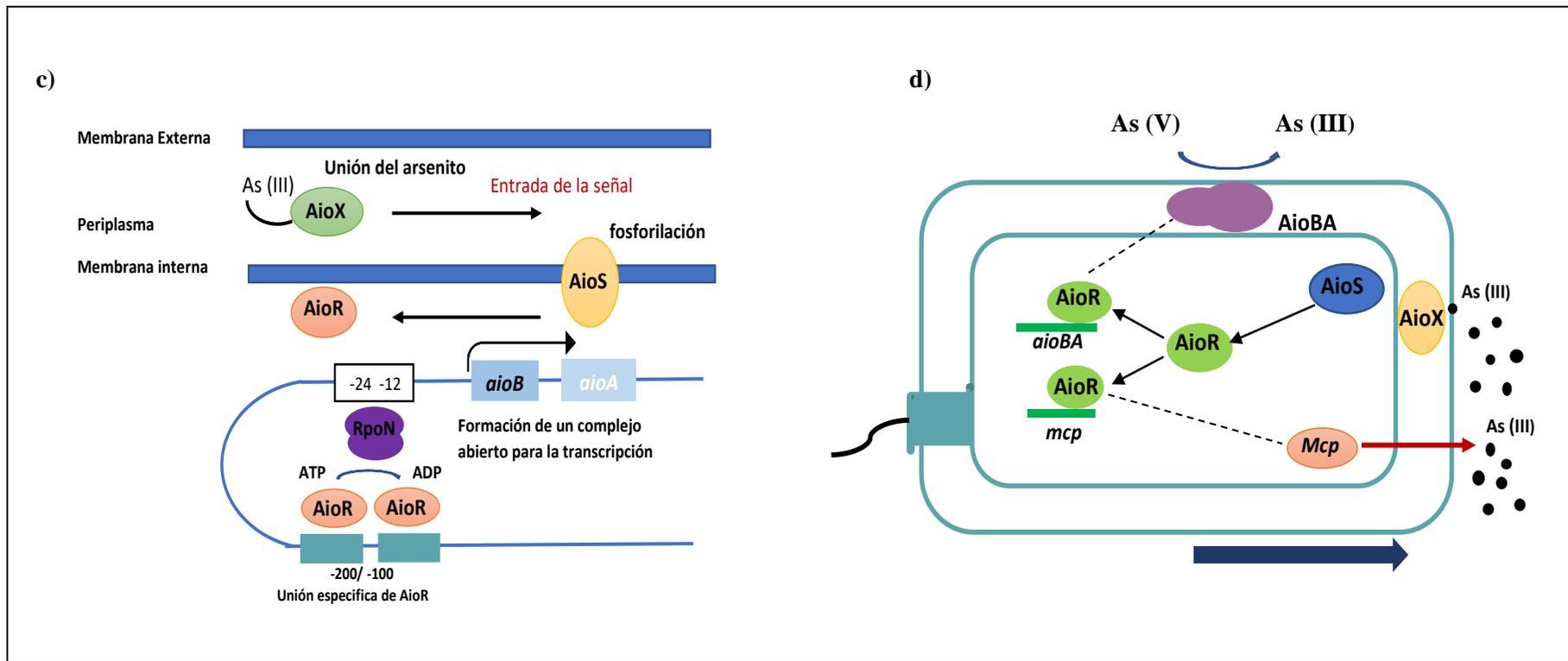
ANEXOS

ANEXO A: DETERMINANTES GENÉTICOS DE RESISTENCIA AL ARSÉNICO: *ars*



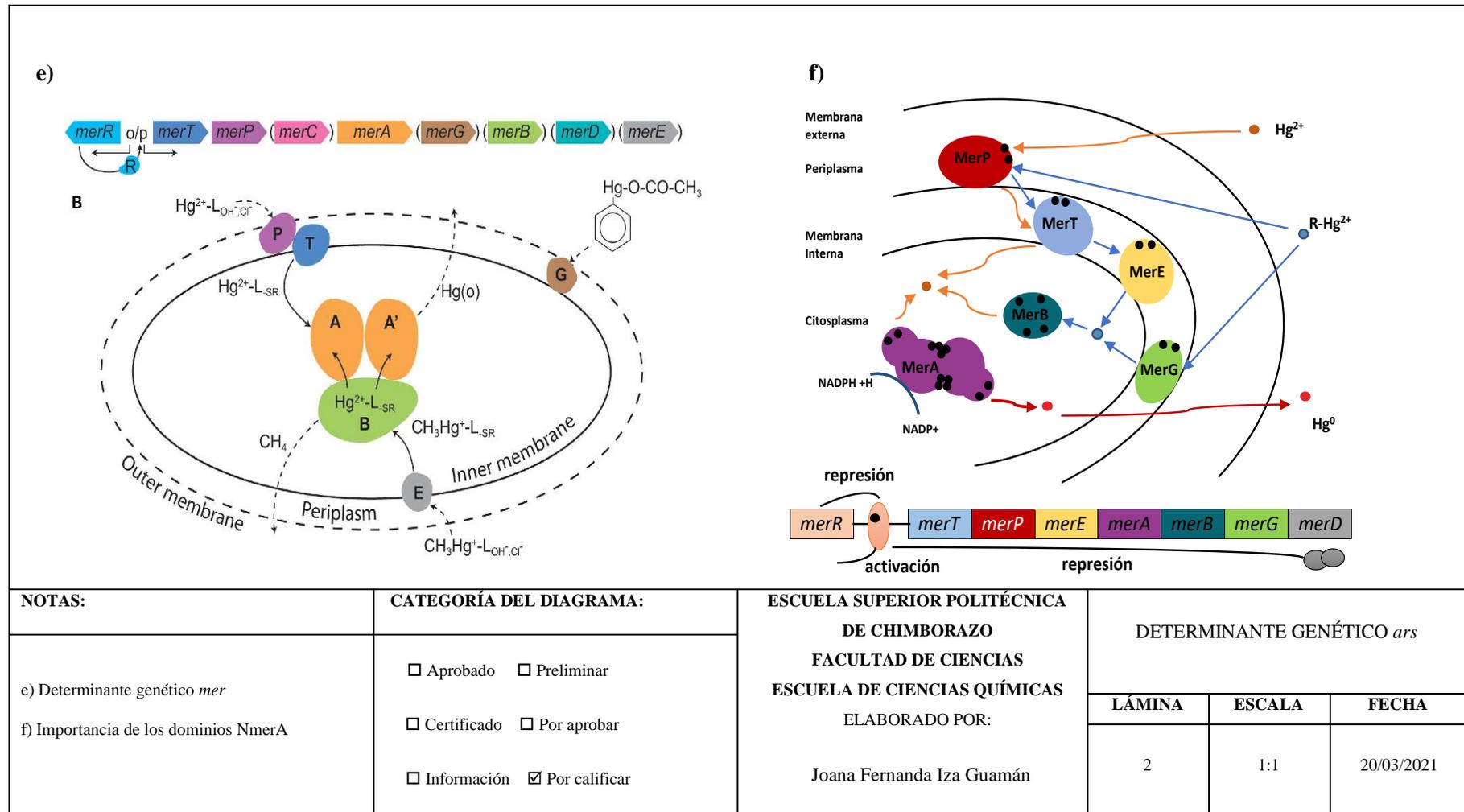
NOTAS:	CATEGORÍA DEL DIAGRAMA:	ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DE CHIMBORAZO FACULTAD DE CIENCIAS ESCUELA DE CIENCIAS QUÍMICAS ELABORADO POR: Joana Fernanda Iza Guamán	DETERMINANTE GENÉTICO <i>ars</i>		
a) Determinante genético <i>arsR, ars, arsB, arsC, arsH, arsI, arsM, arsI</i> b) Determinante genético <i>arsK</i>	<input type="checkbox"/> Aprobado <input type="checkbox"/> Preliminar <input type="checkbox"/> Certificado <input type="checkbox"/> Por aprobar <input type="checkbox"/> Información <input checked="" type="checkbox"/> Por calificar		LÁMINA	ESCALA	FECHA
			2	1:1	20/03/2021

ANEXO B: DETERMINANTES GENETICOS DE RESISTENCIA Y METABOLISMO AL ARSÉNICO: *aio*

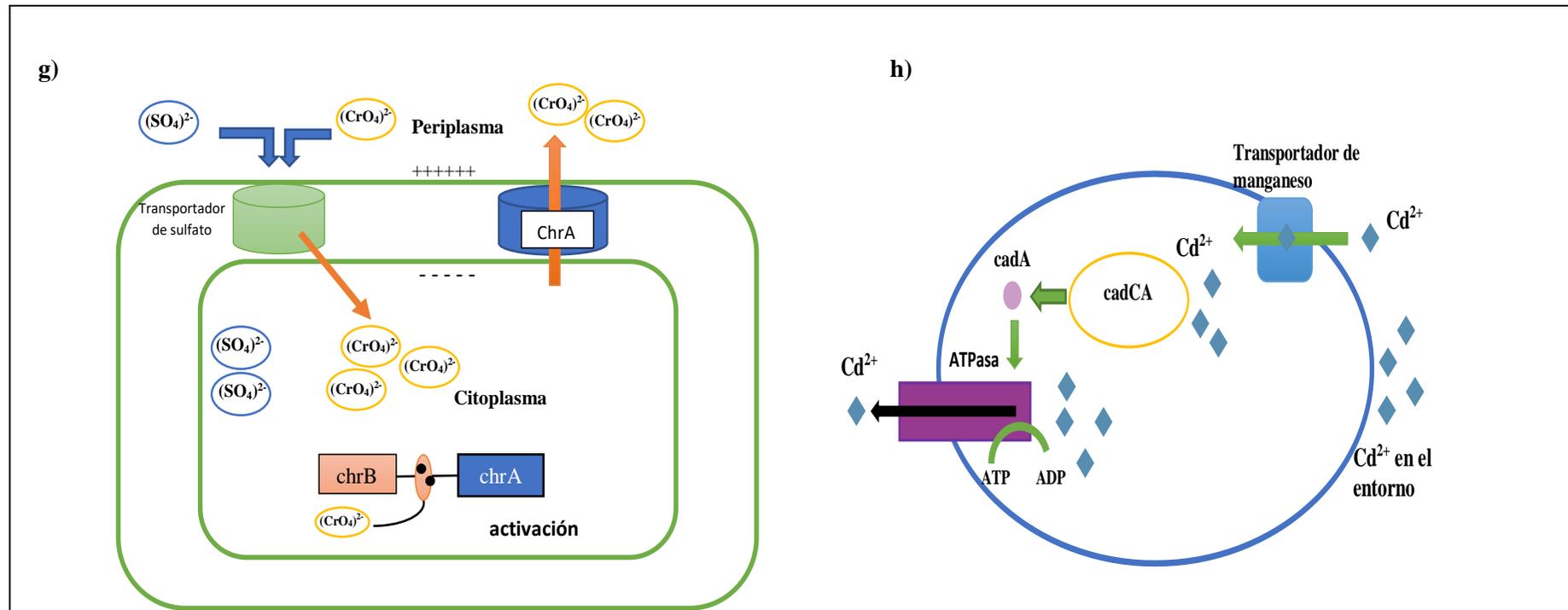


NOTAS:	CATEGORÍA DEL DIAGRAMA:	ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DE CHIMBORAZO FACULTAD DE CIENCIAS ESCUELA DE CIENCIAS QUÍMICAS ELABORADO POR: Joana Fernanda Iza Guamán	DETERMINANTE GENÉTICO <i>ars</i>						
acDeterminante genético <i>aio</i> d) Determinante genético y quimiotaxis por <i>aio</i>	<input type="checkbox"/> Aprobado <input type="checkbox"/> Preliminar <input type="checkbox"/> Certificado <input type="checkbox"/> Por aprobar <input type="checkbox"/> Información <input checked="" type="checkbox"/> Por calificar		<table border="1"> <thead> <tr> <th>LÁMINA</th> <th>ESCALA</th> <th>FECHA</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>2</td> <td>1:1</td> <td>20/03/2021</td> </tr> </tbody> </table>	LÁMINA	ESCALA	FECHA	2	1:1	20/03/2021
LÁMINA	ESCALA		FECHA						
2	1:1	20/03/2021							

ANEXO C: DETERMINANTES GENETICOS DE RESISTENCIA AL MERCURIO: *mer*



ANEXO D: DETERMINANTES GENETICOS DE RESISTENCIA AL CROMATO Y CADMIO: *chr* y *mer*



NOTAS:	CATEGORÍA DEL DIAGRAMA:	ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DE CHIMBORAZO FACULTAD DE CIENCIAS ESCUELA DE CIENCIAS QUÍMICAS ELABORADO POR: Joana Fernanda Iza Guamán	DETERMINANTE GENÉTICO <i>ars</i>		
a) Determinante genético <i>chr</i>	<input type="checkbox"/> Aprobado <input type="checkbox"/> Preliminar <input type="checkbox"/> Certificado <input type="checkbox"/> Por aprobar <input type="checkbox"/> Información <input checked="" type="checkbox"/> Por calificar		LÁMINA	ESCALA	FECHA
b) Determinante genético <i>cad</i>			2	1:1	20/03/2021