



Populasi bakteri pada tanah bekas buangan limbah merkuri tambang emas di Kabupaten Bolaang Mongondow: Penelitian Pendahuluan

Bacterial population isolated from the soil of former mercury waste disposal in gold mining area in district of Bolaang Mongondow: A Preliminary study

Fatimawali^{1,2}, Billy Kepel^{1,2}, Irawan Yusuf², Rosdiana Natsir², Fatmawaty Baharuddin²

¹Department of Chemistry, Faculty of Medicine, Sam Ratulangi University Manado

²Pascasarjana Hasanuddin University Makassar

KEYWORDS *Bacteria; soil; mercury*

ABSTRACT *Mercury is one of the most toxic heavy metals found in nature. Although adverse health effect of mercury have been known for a long time, exposure to mercury continues and is even increasing in some areas, for example, mercury is still used in gold mining in many parts of North Sulawesi Province. Most of the soil and aquatic bacteria that are continuously exposed to mercury usually develop a genetic adaptation to resist the toxicity of this compound. Bacteria have a specific operon called merOperon that functions to coordinate genes coding for proteins and enzymes involved in mercury disposal and detoxification.*

Therefore, this preliminary study aims to isolate and identify bacteria collected from gold mining area in the district of Bolaang Mongondow. Bacteria were isolated from soil samples collected from three locations of the gold mining waste disposal and the isolated bacteria were grown in agar media. Identification of the grown bacteria were then be performed using morphological, physiological and biochemical tests.

The results showed that 36 bacteria were successfully isolated, of which, 11 isolates were gram positive bacteria and the remainders were gram negative. All isolates showed motility and all could be grouped into 4 species i.e. Bacillus sp., Escherichia coli, Enterobacter cloacea, and Enterobacter aerogenes.

Merkuri adalah salah satu dari logam berat yang sangat toksik dan berada di lingkungan. Polusi merkuri pada suatu tempat, dapat disebabkan oleh proses geologik maupun aktifitas antropologik. Saat ini diperkirakan lebih dari 1500 ton limbah merkuri berbahaya dibuang ke lingkungan setiap tahun khususnya di Afrika dan Asia. Bakteri berperan penting dalam siklus global merkuri, dan mempunyai gen resisten merkuri yang

dapat digunakan untuk detoksifikasi beberapa bentuk dari merkuri (Barkay and Wagner-Doble, 2005; Diner, 2007).

Senyawa merkuri dalam bentuk Hg(II) dapat terikat pada residu sistein protein manusia sehingga protein akan ke-

Correspondence:
Fatimawali, Department of Chemistry, Faculty of Medicine,
Sam Ratulangi University, Manado, Jalan Kampus UNSRAT
Kleak, Manado 95115, E-mail: fatimawali_umar@yahoo.com

hilangan aktivitasnya. Selain Hg(II), senyawa merkuri yang paling berbahaya bagi kesehatan manusia adalah senyawa merkuri organik, khususnya metilmerkuri dan fenilmerkuri. Senyawa ini sangat reaktif dan mempunyai mobilitas tinggi dibandingkan Hg(0) dan Hg(II), dan juga dapat menyerang saraf manusia melalui peredaran darah (Huang *et. al.*, 2006).

Salah satu usaha untuk detoksifikasi merkuri dapat dilakukan dengan menggunakan mikroorganisme resisten merkuri, misalnya bakteri resisten merkuri. Detoksifikasi merkuri oleh bakteri resisten merkuri terjadi karena bakteri resisten merkuri memiliki gen resisten merkuri, merOperon (Silver and Phung, 1998). Struktur merOperon berbeda pada setiap jenis bakteri. Umumnya struktur merOperon terdiri dari gen metaloregulator (*merR*), gen transpor merkuri (*merT*, *merP*, *merC*), gen merkuri reduktase (*merA*) dan organomercuri liase (*merB*). Bakteri yang hanya memiliki gen merkuri reduktase (*merA*) disebut bakteri resisten merkuri spektrum sempit. Ada beberapa bakteri yang memiliki selain gen *merA*, juga gen *merB* maka bakteri tersebut disebut bakteri resisten merkuri spektrum luas. *MerA* mempunyai fungsi mereduksi ion merkuri yang toksik menjadi logam merkuri Hg(O) yang kurang toksik dan mudah menguap pada suhu kamar, sedangkan *merB* mempunyai fungsi mengkatalisis pemutusan ikatan merkuri-karbon sehingga dihasilkan senyawa organik dan ion Hg(II) (Silver and Phung, 1996; Barkay *et. al.*, 2003).

Beberapa penelitian telah mengungkapkan bahwa mikroorganisme pada daerah tercemar merkuri berperan utama pada detoksifikasi merkuri, oleh karena itu mikroorganisme pada daerah tercemar merkuri merupakan sumber untuk isolasi bakteri resisten merkuri (Simbahan *et al.*, 2005; Vetriani *et. al.*, 2005; Poulin *et. al.*, 2007; Rasmussen *et. al.*, 2008).

Salah satu masalah di Sulawesi Utara adalah kontaminasi tanah atau air

oleh logam merkuri dari hasil buangan limbah tambang emas rakyat yang menggunakan merkuri sebagai bahan peng-ekstrak emas. Dalam air dan tanah, logam merkuri akan mengalami perubahan spesies menjadi ion merkuri yang larut dalam air dan mencemari perairan (Ijong, 2003).

Penelitian pendahuluan ini akan mengisolasi bakteri dari daerah tercemar merkuri yaitu beberapa daerah pertambangan emas yang terdapat di Kabupaten Bolaang Mongondow. Selanjutnya terhadap bakteri yang telah diisolasi dilakukan identifikasi terhadap morfologisnya (pewarnaan Gram), fisiologisnya (motilitas), dan uji biokimia, untuk menentukan jenis bakterinya.

BAHAN DAN CARA KERJA

Pengambilan Sampel

Sampel sedimen diambil dari tiga lokasi (L-1, L-2 dan L-3) bekas pertambangan emas rakyat yang menggunakan merkuri di Desa Tanoyan Utara Kecamatan Laloyan Kabupaten Bolaang Mongondow. Sebagai kontrol, diambil tanah dari lokasi sekitar tambang yang bukan merupakan tempat pembuangan limbah merkuri (L-4). Setiap lokasi diambil pada tiga titik. Setiap titik pada lokasi L-1 disuspensikan ke dalam larutan NaCl 0,9% yang telah dibuffer. Selanjutnya diinokulasi pada media *nutrient broth* dan diinkubasikan pada suhu 30°C selama 24 jam. Tehnik perbanyakan kultur bakteri L-1 digunakan juga untuk perbanyakan kultur bakteri L-2, L-3 dan L-4. Kultur bakteri L-1, L-2, L-3 dan L-4 digunakan untuk tahap identifikasi bakteri.

Identifikasi Bakteri

Tahap awal, dilakukan uji morfologi dan fisiologi terhadap koloni bakteri. Uji morfologi dilakukan dengan pewarnaan Gram, sedangkan uji fisiologi dilakukan untuk menentukan ada tidaknya pergerakan (motilitas) bakteri menggunakan media semi padat/semisolid (Holt *et. al.*, 1994).

Selanjutnya dilakukan tes biokimia meliputi tes oksidase, uji fermentasi karbohidrat, uji metil red, uji voges Proskauer, uji penggunaan sitrat, tes pembentukan indol, dan tes produksi H₂S sesuai dengan prosedur yang telah dipublikasikan sebelumnya (Nofiani dan Gusrizal, 2004).

HASIL

Hasil isolasi, Uji morfologi dan Fisiologi Bakteri

Hasil isolasi bakteri dengan *nutrien broth*, terlihat bahwa ketiga lokasi pembuangan limbah merkuri dapat ditumbuhi oleh bakteri, dengan uji morfologi menunjukkan bakteri positif Gram dan negatif Gram berbentuk batang, serta semuanya memperlihatkan motilitas. Hasil isolasi, uji morfologi dan fisiologi bakteri dapat terlihat pada Tabel 1.

Hasil pewarnaan Gram dari jumlah 36 isolat yang diperiksa dengan mikroskop menunjukkan sel bakteri bewarna ungu dan merah, sehingga semua sel bakteri dikategorikan bakteri positif Gram dan negatif (Tabel 1). Ditemukan 11 isolat yang merupakan positif Gram dan 25 isolat lainnya merupakan bakteri negative Gram serta kesemua isolat berbentuk sel batang (Gambar 1 dan 2).

Hasil uji motilitas yang dilakukan, didapatkan 36 isolat bakteri yang motil

(terjadi pergerakan) dengan menggunakan media semipadat SIM (Tabel 1).

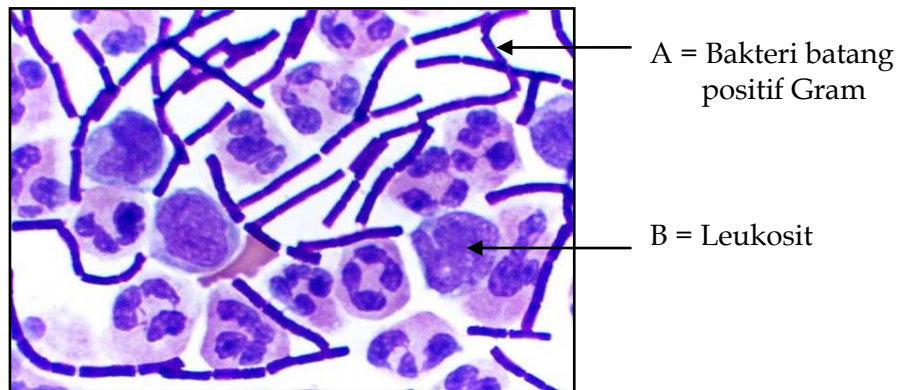
Hasil Uji Biokimia dan Identifikasi Jenis Bakteri

Uji biokimia menunjukkan bahwa sebagian besar isolat menghasilkan asam gas (AG) pada uji fermentasi karbohidrat. Uji pembentukan indol menunjukkan adanya 10 isolat yang negatif dan 26 isolat lainnya positif (Tabel 2). Uji *metyl red* menunjukkan adanya 7 isolat positif dan 29 isolat lainnya negatif. Uji oksidase menunjukkan 5 isolat positif, sedangkan 31 isolat lainnya negatif. Hasil pengujian pembentukan H₂S didapatkan 11 isolat bakteri yang negatif dan 25 isolat lainnya positif. Hasil uji penggunaan sitrat menunjukkan adanya 15 isolat bakteri yang bersifat positif dan 21 isolat bakteri lainnya bersifat negatif. Pada pengujian *voges proskauer* didapatkan 9 isolat bakteri bersifat negatif dan 27 isolat bakteri lainnya bersifat positif.

Identifikasi spesies dari 36 bakteri dilakukan dengan cara mencocokkan hasil uji morfologi, uji fisiologi dan uji biokimia dengan Tabel uji morfologi, uji fisiologi dan uji biokimia spesies yang terdapat pada *Bergey's Manual of Determinative Bacteriology*. Hasil menunjukkan bahwa 24 bakteri adalah jenis *Bacillus sp.*, 8 bakteri adalah jenis *Escherichia coli*, 2 bakteri adalah jenis *Enterobacter cloacae*, serta 2 bakteri adalah jenis *Enterobacter aerogenes* (Tabel 2).

Tabel 1. Hasil Isolasi, Uji Morfologi dan Fisiologi Bakteri

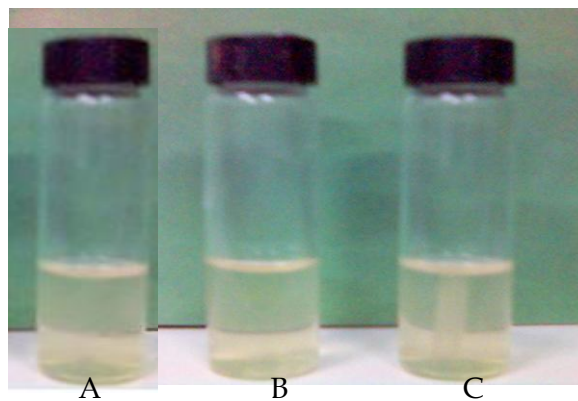
Kode isolat	Uji morfologi		Uji fisiologi
	Pewarnaan Gram	Bentuk sel	Motilitas
L1.1	Bakteri positif Gram	Batang	Motil
L1.2	Bakteri negatif Gram	Batang	Motil
L1.3	Bakteri negatif Gram	Batang	Motil
L1.4	Bakteri negatif Gram	Batang	Motil
L1.5	Bakteri negatif Gram	Batang	Motil
L1.6	Bakteri negatif Gram	Batang	Motil
L1.7	Bakteri negatif Gram	Batang	Motil
L1.8	Bakteri negatif Gram	Batang	Motil
L1.9	Bakteri negatif Gram	Batang	Motil
L1.10	Bakteri negatif Gram	Batang	Motil
L1.11	Bakteri negatif Gram	Batang	Motil
L1.12	Bakteri negatif Gram	Batang	Motil
L2.1	Bakteri negatif Gram	Batang	Motil
L2.2	Bakteri negatif Gram	Batang	Motil
L2.3	Bakteri positif Gram	Batang	Motil
L2.4	Bakteri positif Gram	Batang	Motil
L2.5	Bakteri positif Gram	Batang	Motil
L2.6	Bakteri negatif Gram	Batang	Motil
L2.7	Bakteri positif Gram	Batang	Motil
L2.8	Bakteri negatif Gram	Batang	Motil
L3.1	Bakteri negatif Gram	Batang	Motil
L3.2	Bakteri positif Gram	Batang	Motil
L3.3	Bakteri negatif Gram	Batang	Motil
L3.4	Bakteri negatif Gram	Batang	Motil
L3.5	Bakteri positif Gram	Batang	Motil
L3.6	Bakteri positif Gram	Batang	Motil
L3.7	Bakteri negatif Gram	Batang	Motil
L3.8	Bakteri negatif Gram	Batang	Motil
L3.9	Bakteri negatif Gram	Batang	Motil
L3.10	Bakteri negatif Gram	Batang	Motil
L3.11	Bakteri negatif Gram	Batang	Motil
L3.12	Bakteri positif Gram	Batang	Motil
L4.1	Bakteri positif Gram	Batang	Motil
L4.2	Bakteri positif Gram	Batang	Motil
L4.3	Bakteri negatif Gram	Batang	Motil
L4.4	Bakteri negatif Gram	Batang	Motil



Gambar 1. Hasil Pewarnaan Bakteri positif Gram
Ket.: A= Bakteri batang positif Gram, B= Leukosit



Gambar 2. Hasil Pewarnaan Bakteri negatif Gram
Ket.: A = Bakteri batang negatif Gram



Gambar 3. Hasil Uji Motilitas
Ket.: A. Kontrol B. Gerak negatif (non-motil) B. Gerak positif (motil)

Tabel 2. Hasil Uji Biokimia dan Identifikasi bakteri

Kode Isolat	Uji Biokimia									Identifikasi Jenis
	Fermentasi KH			Pembentukan Indol	Metil Red	Oksi dase	Produksi H ₂ S	Pengu- naan Sitrat	VP	
	Glu	Lak	Mal							
L1.1	AG	AG	AG	+	-	-	+	-	-	<i>Bacillus sp.</i>
L1.2	AG	AG	AG	+	-	-	+	-	-	<i>Bacillus sp.</i>
L1.3	AG	A	AG	+	-	-	+	-	+	<i>Bacillus sp.</i>
L1.4	AG	A	AG	+	-	-	+	-	+	<i>Bacillus sp.</i>
L1.5	AG	A	AG	+	-	-	+	-	+	<i>Bacillus sp.</i>
L1.6	AG	AG	AG	+	-	-	+	-	+	<i>Bacillus sp.</i>
L1.7	AG	A	AG	+	-	-	-	-	+	<i>Bacillus sp.</i>
L1.8	AG	A	AG	+	-	-	-	-	+	<i>Bacillus sp.</i>
L1.9	AG	AG	AG	+	-	-	+	-	+	<i>Bacillus sp.</i>
L1.10	A	A	AG	+	-	-	-	-	+	<i>Bacillus sp.</i>
L1.11	AG	AG	AG	+	+	-	+	-	+	<i>E. coli</i>
L1.12	AG	AG	AG	+	-	-	-	-	+	<i>Bacillus sp.</i>
L2.1	AG	AG	AG	+	+	-	+	+	+	<i>E. coli</i>
L2.2	AG	AG	AG	+	+	-	+	+	-	<i>E. coli</i>
L2.3	AG	AG	AG	+	-	-	+	-	+	<i>Bacillus sp.</i>
L2.4	AG	AG	AG	+	-	-	+	-	+	<i>Bacillus sp.</i>
L2.5	AG	A	AG	+	-	-	+	-	+	<i>Bacillus sp.</i>
L2.6	AG	A	AG	+	-	-	+	-	-	<i>Bacillus sp.</i>
L2.7	AG	AG	AG	+	-	+	+	+	+	<i>E. coli</i>
L2.8	AG	A	AG	+	-	-	+	+	+	<i>E. coli</i>
L3.1	AG	A	AG	+	+	+	+	-	-	<i>Bacillus sp.</i>
L3.2	AG	A	AG	+	-	-	+	+	+	<i>Bacillus sp.</i>
L3.3	AG	A	AG	+	-	-	+	-	+	<i>E. coli</i>
L3.4	AG	A	AG	+	+	-	+	+	-	<i>Bacillus sp.</i>
L3.5	A	-	AG	-	-	+	-	+	+	<i>Bacillus sp.</i>
L3.6	AG	-	AG	-	-	-	-	-	+	<i>E. cloacae</i>
L3.7	AG	AG	AG	-	+	-	+	+	-	<i>E. aerogenes</i>
L3.8	AG	A	AG	-	-	-	+	+	+	<i>E. aerogenes</i>
L3.9	AG	A	AG	+	-	-	-	+	+	<i>Bacillus sp.</i>
L3.10	AG	A	AG	+	-	-	+	+	+	<i>E. coli</i>
L3.11	A	-	A	-	-	-	-	-	-	<i>E. coli</i>
L3.12	A	A	A	-	+	-	-	-	-	<i>Bacillus sp.</i>
L4.1	AG	A	AG	-	-	-	+	+	+	<i>Bacillus sp.</i>
L4.2	AG	A	AG	-	-	-	+	+	+	<i>E. cloacae</i>
L4.3	AG	AG	AG	-	-	+	-	+	+	<i>Bacillus sp.</i>
L4.4	AG	A	AG	-	-	+	-	+	+	

Keterangan : A = positif asam AG = positif asam dan gas VP = Voges Proskaver
 Glu = Glukosa Lak = Laktosa Mal = Maltosa

PEMBAHASAN

Ketiga lokasi pembuangan limbah merkuri tambang emas rakyat, telah diisolasi 36 isolat bakteri dan hasil identifikasi menunjukkan bahwa dari ke 36 isolat, hanya terdiri atas empat jenis bakteri, yaitu *Bacillus sp.*, *Escherichia coli*, *Enterobacter cloacae*, dan *Enterobacter aerogenes*, sedangkan pada kontrol teridentifikasi dua jenis bakteri yaitu *Bacillus sp.* dan *Enterobacter cloacae* (Holt *et. al.*, 1994)

Bacillus adalah salah satu genus kelompok bakteri positif Gram bersifat aerobik, berbentuk batang berukuran antara 0.5-2.5 x 1.2-10µm. *Bacillus* merupakan spesies bakteri yang menghasilkan tes positif untuk enzim katalase, motil, mampu mendegradasi triptofan, dan dapat membentukpora. *E.coli* termasuk kelompok bakteri negatif Gram, bentuk batang, berukuran 2.4 x 0.4-0.7µm, tak bersimpai, bergerak aktif dan tidak berspora, bersifat anaerobik fakultatif, mempunyai flagel peritrik, dan dapat tumbuh pada suhu optimum 37°C dan pH maksimum 9,0. *E. coli* dibedakan atas sifat serologinya berdasarkan antigen O (*somatic*), K (kapsul) dan H (*flagella*). *Enterobacter aerogenes* dengan termasuk kelompok bakteri negatif Gram, bentuk batang, motil, oksidase dan indol negatif, katalase positif, dan menggunakan sitrat sebagai sumber karbon, dapat tumbuh di banyak media selektif yang sama seperti *Escherichia coli*, termasuk agar *MacConkey*, agar *EMB (Eosin Methylen Blue)* dan *Lauryl-Tryptose* kaldu, suhu pertumbuhan optimal 30^o-37^oC. *Enterobacter cloacae* termasuk kelompok bakteri negatif Gram, bentuk batang, ukuran koloni 0.3-0.6 x 0.8-2.0µm, katalase positif, oksidase negatif, respirasi anaerobik fakultatif, suhu pertumbuhan optimal 30^o-37^oC, motil (John dkk, 1994).

Hasil ini menunjukkan bahwa keempat jenis bakteri tersebut dapat hidup pada daerah yang terkontaminasi limbah

merkuri. Keempat jenis bakteri yang diperoleh dari sedimen terkontaminasi merkuri ini kemungkinan besar telah resisten terhadap merkuri. Bakteri resisten merkuri memiliki gen resisten merkuri merOperon (Silver and Phung, 1998). Nofiani dan Gusrizal (2004), menemukan 2 spesies bakteri resisten merkuri spektrum sempit dari daerah bekas penambangan rakyat Mandor di Kalimantan Barat yaitu *Enterobacter cloacae* dan *Enterobacter hafriiae*. Oleh karena itu dapat dilakukan penelitian lebih lanjut untuk mengetahui tingkat resistensi bakteri tersebut terhadap merkuri, dan dilakukan isolasi gen resistensi merkuri *merA* dan *merB* yang dapat digunakan untuk detoksifikasi limbah merkuri. Jika bakteri tersebut hanya memiliki gen *merA* maka bakteri tersebut merupakan bakteri resisten merkuri spektrum sempit yang hanya dapat mendetoksifikasi merkuri anorganik, dan jika memiliki gen *merA* dan *merB* maka bakteri tersebut merupakan bakteri resisten merkuri spektrum luas yang dapat mendetoksifikasi merkuri anorganik dan organik (Barkay and Wagner, 2005).

Bioremediasi dengan bakteri resisten merkuri diharapkan dapat menghilangkan kontaminan ataupun mengurangi konsentrasi limbah merkuri pada tempat-tempat tercemar merkuri. Mikroorganisme yang mampu hidup pada konsentrasi merkuri yang lebih tinggi dari nilai baku mutu lingkungan yang ditetapkan, dapat dijadikan rujukan dalam menggunakan mikroba tersebut dalam mereduksi pencemaran, baik di tanah maupun di badan perairan, sesuai dengan tingginya kandungan logam berat dalam lingkungan yang tercemar.

Hasil penelitian ini belum menggambarkan keberadaan semua jenis bakteri pada sampel, karena terdapat kemungkinan adanya bakteri yang resisten merkuri, tapi tidak bisa ditumbuhkan secara *in vitro*. Oleh karena itu studi lebih lanjut untuk mengisolasi gen resistensi merkuri *merA* dan

merB dengan menggunakan teknik metagenomik mungkin dapat dipertimbangkan.

SIMPULAN DAN SARAN

Simpulan

Dari hasil penelitian menunjukkan bahwa terdapat empat jenis bakteri yang dapat tumbuh pada sedimen terkontaminasi limbah merkuri tambang emas di Kabupaten Bolaang Mongondow. Keempat jenis bakteri tersebut adalah *Bacillus sp.*, *E. coli*, *E. cloacea* dan *E. aerogenes*. Keempat jenis bakteri tersebut merupakan sumber gen resistensi merkuri merOperon yang dapat digunakan untuk detoksifikasi limbah merkuri.

Saran

Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut tentang untuk menentukan tingkat resisten bakteri tersebut terhadap merkuri dan isolasi gen resistensi merkuri merOperon yang dapat digunakan pada bioremediasi perairan atau tanah yang terkontaminasi limbah merkuri.

KEPUSTAKAAN

- Barkay T, and Wagner-Dobler I 2005. Microbial transformations of mercury: Potentials, challenges, and achievements in controlling mercury toxicity in the environment. *Adv Appl Microbiol* 57: 1-52.
- Barkay T, Miller SM, Summers AO 2003. Bacterial mercury resistance from atoms to Ecosystems. *FEMS Microbiol Rev* 27:355-384
- Diner MB, and Brenner EB 2007. Toxicology Mercury, Article Last Updated, Department of Emergency Medicine, Emory University School of Medicine; clinical researcher, Emergency Medicine Research Center.
- Holt JG, Krieg NR, Sneath PHA, Staley JT, Williams ST 1994. *Bergey's Manual of Determinative Bacteriology*, Ninth Edition. USA: Williams and Wilkins.
- Huang CC, Chen MW, Hsieh JL, Lin WH, Chen PC, and Chien LF 2006. Expression of mercuric reductase from *Bacillus megaterium* MB1 in eukaryotic microalga *Chlorella sp.* DT: an approach for mercury phytoremediation, *Appl Microbiol Biotechnol* (2006) 72: 197-205.
- Ijong FG 2003. Mikrobiologi Dasar. Laboratorium Mikrobiologi Hasil Perikanan, Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan UNSRAT, Manado.
- John K, Iiyama R, Nakamura K, Silver S, Sakai M, Takeshita M, Furukawa K 2004. The Mer operon of a mercury-resistant *Pseudoalteromonas* haloplanktis strain isolated from Minamata Bay, Japan, *Appl. Microbiol Biotechnol* 56: 736-741.
- Nofiani R, Gusrizal 2004. Bakteri Resistensi Merkuri Spektrum Senpit dari Daerah Bekas Penambangan Emas Tanpa Izin (PETI) Mandor Kalimantan Barat. *JNI*, 6(2): 67-74.
- Poulin AJ, Chadchain S, Ariya PA, Amot M, Garcia E, Campbell PGC, Zylstra GJ, and Barkay T 2007. Potential for mercury Reduction by Microbes in the High Arctic, *Appl Environ Microbiol*, 73(7): 2230-2238.
- Rasmussen LD, Zawadsky C, Binnerup SJ, Oregaard G, Sorensen SJ, and Kroer N 2008. Cultivation of Hard-To-Culture Subsurface Mercury-Resistant Bacteria and Discovery of New merA Gene Sequences, Department of Environmental Chemistry and Microbiology, National Environmental Research Institute, University of Aarhus, Frederiksborgvej 399, 4000 Roskilde, Denmark, Institute of Biology, University of Copenhagen, Solvgade 83H, 1307 Copenhagen K, Denmark, *Applied and Environmental Microbiology*, p.3795-3803, vol. 74, No.12.
- Silver S, & Phung LT 1998. Bacterial heavy metal resistance: new surprises. *Annu. Rev. Microbiol.* 50: 753-789.
- Simbahan JM, Kurth E, Schelert J, Dillman A, Moriyama E, Jovanovich S, and Blum P 2005. Mercury Hot Spring Supports Occurrence of Domain Specific Forms of Mercuric Reductase, *Appl Environ Microbio* 71(12):8836-8845.
- Vetriani C, Chew YS, Miller SM, Yagi J, Coombs J, Lutz RA, and Barkay T 2005. Mercury Adaptation among Bacteria from a Deep-sea Hydrothermal Vent, *Appl. Environ Microbiol*, 71(1):220-226.