



HAL
open science

The biogeochemical cycle of Hg in the high altitude and tropical hydrosystem of Lake Uru-Uru, Bolivian Altiplano

Lucia Alanoca

► **To cite this version:**

Lucia Alanoca. The biogeochemical cycle of Hg in the high altitude and tropical hydrosystem of Lake Uru-Uru, Bolivian Altiplano. Earth Sciences. Université Toulouse 3 Paul Sabatier (UT3 Paul Sabatier), 2016. Español. NNT: . tel-01587825

HAL Id: tel-01587825

<https://theses.hal.science/tel-01587825>

Submitted on 14 Sep 2017

HAL is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.



Université
de Toulouse

THÈSE

En vue de l'obtention du
DOCTORAT DE L'UNIVERSITÉ DE TOULOUSE

Delivré par :

Université Toulouse III Paul sabatier (UT3 Paul sabatier)

Discipline ou spécialité :

Sciences de la Terre et des Planètes Solides

Présentée et soutenue par :

Lucia Alanoca

Le 16 décembre 2016

Titre : *Cycle biogéochimique du Hg dans l'hydrosystème tropical d'altitude
lac Uru-Uru, Altiplano bolivien*

Ecole doctorale :

Sciences de l'Univers, de l'Environnement et de l'Espace (SDU2E)

Unité de recherche :

Géosciences Environnement Toulouse

Directeurs de Thèse :

Patrick Seyler, David Point

Rapporteurs :

Alberto de Diego Rodriguez - Université du pays Basque Sarriena auzoa z/g, Espagne
Rosa Carmen Rodríguez Martín-Doimeadios - Université de Castilla-La Mancha, Espagne

Jury :

David Amouroux

Alberto de Diego

David Point

Rosa Rodriguez

Patrick Seyler

Jeroen Sonke

Agradecimientos

El presente estudio fue financiado y enmarcado dentro del proyecto INSU ECCO CYTRIX “COMIBOL 2010-2012”, bajo la dirección científica de investigadores del Instituto de Investigación Francés (IRD) y del Centro Nacional de Investigación Científica (CNRS), Francia.

Agradezco de manera especial a mis directores de tesis David Point y PhD. Patrick Seyler por la oportunidad brindada para realizar este trabajo, por sus incomparables enseñanzas y por el apoyo moral a lo largo de estos años. Mis agradecimientos especiales van también para un gran científico, David Amouroux, por su enseñanza paciente para comprender este amplio tema del mercurio. Con mucho cariño muchas gracias a Stéphane Guedron por el apoyo y la confianza brindada para terminar esta tesis. No podía faltar nombrar a un gran equipo de trabajo científico técnico Mathilde Monperrus y Emmanuel Tessier quienes me apoyaron y enseñaron las metodologías analíticas y de campo y de laboratorio utilizadas en este estudio, muchas gracias por toda su enseñanza.

Un gran agradecimiento a la Universidad Paul Sabatier, a la Escuela doctoral de Toulouse, al Laboratorio de Géosciences Environnement Toulouse (GET), a su director Michel Gregoire, así como al personal técnico Manuel Henry, Jonathan Prunier, Stephanie Mounic, Carole Causserand y a todas aquellas personas que gentilmente me ayudaron. Al Instituto de Investigaciones para el Desarrollo (IRD) y al señor Representante del IRD en Francia Dominique Cavet muchas gracias por la confianza al otorgarme la beca de doctorado. A todo el personal del IRD muchas gracias por toda su colaboración para la realización de diferentes actividades académicas y de laboratorio. Mis agradecimientos especiales son también para el director del IRD en Bolivia, Jacques Gardon muchas gracias doctor por su valioso e incondicional apoyo para la realización y finalización de este trabajo. Agradezco también a Laurence Maurice con quien empezó mi formación en el campo de la geoquímica del mercurio, por su enseñanza, apoyo y colaboración. A Marc Roulet mis agradecimientos gratos por su gran enseñanza desprendida mientras estuvo con nosotros. A mi querido amigo y jefe Jean Loup Guyot muchas gracias por todo el apoyo dado en este largo camino de mi formación académica.

Del mismo modo agradezco a la Universidad Mayor de San Andrés, al señor Rector Waldo Albarracin, al Director de la carrera de Ciencias Químicas Luís Morales, a la Vicedecana de la Facultad de Ciencias Puras y Naturales María Eugenia Garcia y al director

del área de Hidroquímica Jorge Quintanilla, por su grata acogida académica dentro de los ambientes del Instituto de Ciencias Químicas de la UMSA.

Mis agradecimientos especiales son también para mis queridos amigos Tereza, Jean y Luc Bourel por todo el apoyo brindado, en los buenos y malos momentos de mi estadia en Francia y en Bolivia. Mis agradecimientos especiales también son para Vincent Perrot por su invaluable ayuda en los últimos momentos de la culminación de la tesis, gracias Vincent. A mis amigos Sylvaine, Georgia, Andrea, María Eliana y Ana muchas gracias por todo su apoyo.

Agradezco infinitamente a mis queridos padres Mateo Alanoca y Francisca Chura, a mis queridos hermanos Fely, José y Lidia Alanoca por todo su apoyo y cariño incondicional que me han dado en diferentes circunstancias de estos últimos años. Finalmente agradezco a mi amada hija Lucia Marcela por su paciente espera en Bolivia, por su fehaciente y firme apoyo durante la redacción de esta tesis, gracias hijita!!

*Con todo cariño
a mi hija
Lucía Marcela*

Resumen

En el lago Uru-Uru, ubicado sobre la planicie altiplánica boliviana a más de 3700 m de altitud, se ha estudiado por primera vez el ciclo biogeoquímico del mercurio. La región del Altiplano boliviano presenta condiciones ambientales extremas, donde las concentraciones de oxígeno son poco disponibles (60% de presión parcial de oxígeno a 4000 m en comparación a nivel del mar) e intensas las incidencias de la radiación UV (entre un 7 y 19% más alto por cada 1000 metros de elevación (Blumthaler et al., 1997; Zaratti et al., 2003). La temperatura ambiental promedio anual oscila entre 8 y 10°C; las temperaturas diarias fluctúan de -2 a 25°C durante el verano y de -15 a 14°C en invierno. Existen variaciones de hasta 20 y 25°C entre el día y la noche.

Los recursos hídricos son escasos, las precipitaciones anuales promedio varían según el año desde 300 hasta 500 mm, con una evaporación muy elevada (1800 mm) (Pillco Zolá and Bengtsson, 2006), llegando a experimentar sequías y hasta la desaparición de lagos, como es el caso del lago Poopó, probablemente como producto de la fuerte presión antropogénica y el cambio climático global. Además de los cambios climáticos adversos, el recurso hídrico es cada vez menos disponible, debido a que existe el uso indiscriminado del agua por las actividades mineras de la zona.

En Bolivia las intensas actividades mineras ubicadas en la Cordillera Oriental y Occidental de los Andes, se vienen desarrollando desde los tiempos de la colonia hasta nuestros días. Las mismas se encuentran dedicadas a la recuperación de metales de gran interés económico tales como Sn, Sb, Pb, Ag, Zn y Au. Durante los años 1950, Bolivia de enormes reservas estanníferas, se convirtió en uno de los grandes productores mundiales de Sn, ocupando en la actualidad el 4^{to} lugar. La minería, después de recursos hidrocarburíferos, continúa siendo la base de la economía boliviana; pero a la vez viene siendo responsable de la liberación directa de enormes cantidades de desechos sólidos y aguas ácidas de minas sobre los suelos circundantes a las operaciones mineras y sobre los lechos de los ríos afluentes del lago Uru-Uru y Poopó. La mezcla de estos residuos ha dado lugar a la liberación de un gran número de metales pesados y en altas concentraciones en la fase acuosa, los cuales son biodisponibles para los organismos presentes en diferentes compartimientos del medio ambiente.

El lago Uru-Uru fué originado el año 1952, debido al desborde de las aguas del Río Desaguadero (drenaje del lago Titicaca) a la altura de la mina La Joya cuya actividad es la

explotación de oro. Estas aguas se depositaron sobre la planicie de Santo Tomas, constituyéndose en el actual lago Uru-Uru. Desde su formación hasta la actualidad este lago viene siendo contaminado por desechos generados durante las actividades mineras, muy intentas de la región. A esta contaminación se añade los desechos de origen urbano provenientes de la ciudad de Oruro (localizada al Norte del lago) a partir del año 2005 hasta la actualidad. El lago Uru-Uru actúa como un sumidero de desechos inorgánicos y orgánicos pero a la vez desempeña el rol de un gran reactor para la metilación del mercurio (Hg) en combinación con las condiciones medioambientales extremas. El origen del Hg en este lago, como veremos más adelante, probablemente es de origen minero. Diferentes especies endémicas de aves y peces de este ecosistema presentaron elevadas concentraciones de Hg (Molina et al., 2012), reflejando la bioacumulación y posterior biomagnificación del monometilmercurio (MMHg), un compuesto altamente tóxico de efectos adversos graves para el hombre y la fauna silvestre, los cuales se encuentran al final de la cadena trófica.

El estudio de la biogeoquímica del Hg en ecosistemas a nivel del mar o a bajas altitudes, está bastante bien documentada, pero son escasos los estudios realizados a elevadas altitudes en las zonas intertropicales y hasta ahora son desconocidos los estudios que muestren los mecanismos de transformación del mercurio en un medio extremo altamente contaminado por metales pesados y por materia orgánica de origen urbano.

En el presente trabajo se estudia, por primera vez, el ciclo biogeoquímico del mercurio en un medio de condiciones ambientales extremas, a través del estudio de su reactividad para la transformación en las diferentes especies de Hg en la columna de agua y la dinámica de la transferencia de las diferentes especies de Hg como el Hg inorgánico (iHg) y el MMHg entre compartimientos. Por otro lado se estudia y determina las capacidades de metilación y/o demetilación que tienen estos compartimientos, procesos que son determinantes y además regulan la producción neta de MMHg. Los objetivos de este trabajo son: i) documentar los niveles de concentración, la especiación y el origen del Hg en un medio ambiente extremo respecto a cambios temporales y espaciales y ii) documentar la reactividad, la transformación de las especies de Hg y su flujo entre los diferentes compartimientos (agua/sedimentos/material particulado/agregados bio-orgánicos flotantes/perifiton de totora).

Para dar respuesta al primer objetivo fueron determinadas las concentraciones de diferentes especies químicas en muestras de aguas, sedimentos y aguas intersticiales colectadas en las épocas seca y húmeda (octubre, 2010 y mayo 2011), a lo largo del transecto Norte-Sur del lago Uru-Uru. Los parámetros medidos en las muestras de aguas fueron metales

y metaloides (Fe, Mn, Sb, Ti y W), elementos mayoritarios y especies de Hg (mercurio total y monometilmercurio en la fracción filtrada (THg_F, MMHg_F) y mercurio total y monometilmercurio en la fracción no filtrada (THg_{UNF}, MMHg_{UNF}), mercurio vapor (Hg⁰) y dimetilmercurio (DMHg) en las fracciones no filtradas. En los sedimentos se determinaron MMHg y THg y en las aguas intersticiales las formas disueltas de monometilmercurio y mercurio inorgánico (iMMHg_{FPW} y iHg_{FPW} respectivamente).

Para dar respuesta al estudio de la reactividad y transformación de las diferentes especies de Hg, fueron determinados los potenciales de metilación (M) y demetilación (D) en muestras de sedimentos, aguas, perifiton y agregados bio-orgánicos flotantes, colectadas en los sitios norte (NS) y sur (SS) del lago Uru-Uru. Para este experimento se utilizaron trazadores isotópicos estables enriquecidos en ¹⁹⁹IHg y MM²⁰¹Hg.

En el transecto Norte-Sur del lago Uru-Uru, se han encontrado elevadas concentraciones de boro (B) (1581-9911 μ L⁻¹), manganeso (Mn) (23,4-493 μ L⁻¹), hierro (Fe) (36,1-195 μ L⁻¹), arsénico (As) (46,4-93,4 μ L⁻¹), estroncio (Sr) (1210-5475 μ L⁻¹), bario (Ba) (5-176 μ L⁻¹), antimonio (Sb) (1,3-19,5 μ L⁻¹) y MMHg_F (0,2-2,0 ng L⁻¹). El porcentaje promedio de MMHg_F, para las épocas seca y húmeda, fue de 49 ± 11% con respecto al THg_F. Los análisis de los coeficientes de correlación encontrados entre el iHg y el estaño (Sn), plomo (Pb) y Sb en los sedimentos, indican que la fuente principal del Hg es probablemente de origen minero. La evaluación de los cálculos de los coeficientes de partición en base a las concentraciones de MMHg y iHg en los sedimentos, aguas intersticiales y en la columna de agua, muestra que los sedimentos son los mayores contribuidores de MMHg en el lago durante la época seca, cuyo flujo difusivo alcanza hasta 227 ng m⁻² day⁻¹ de MMHg. Esta aseveración es sustentada con la medición de los potenciales de M/D en los sedimentos.

En esta región de elevadas radiaciones solares y UV, se ha evidenciado que el proceso de fotoreducción del Hg en el agua es limitado, probablemente por las elevadas concentraciones de materia orgánica disuelta (~16,5 mg L⁻¹), más aún si se trata de materia orgánica de naturaleza húmica, esta última aún no identificada.

Las altas concentraciones de MMHg en el agua, podría ser explicadas 1) que se debe a la formación de complejos estables entre la materia orgánica húmica y el Hg, formas químicas que disminuyen el proceso de fotoreducción y 2) que el MMHg probablemente se encuentra asociado a FeS o materia orgánica en la fase coloidal.

El estudio de la reactividad del Hg, cuyo comportamiento fue observado en un ciclo de 24 horas en los sitio Norte (contaminado) y Sur (sitio no contaminado), en las épocas seca y húmeda, indica que la producción de MMHg está atribuida de manera prioritaria a los procesos bióticos bacterianos de las sulfatoredutoras, favorecida durante la noche con el decrecimiento en la concentración de oxígeno. Las diferentes concentraciones de MMHg medidos en la columna de agua se podrían explicar que se deben a las diferentes interacciones entre sedimento/agua/material particulado suspendido. El promedio de las concentraciones de MMHg_F (o disuelto), a lo largo del transecto Norte-Sur del lago correspondiente a las dos épocas, fue de $0,69 \pm 0,47 \text{ ng L}^{-1}$, representando alrededor del ~50% del iHg_F. Mientras que las concentraciones de mercurio total (THg) (forma disuelta y particulada) en el lago, variaron de 0,9 a 38,5 ng L^{-1} . Las concentraciones de THg en el lago Uru-Uru se encuentran en el rango superior de las concentraciones reportadas para THg en lagos prístinos de todo el mundo. Mientras que las concentraciones de MMHg en la fracción filtrada, son hasta ahora los más altos reportados en lagos de diferente altitud (lago oligotrófico Moreno de la Patagonia (0,002 a 0,01 ng L^{-1}), lago hiper eutrófico contaminado Dianchi del Tibet (0,07-0,19 ng L^{-1}) y lagos de los Alpes franceses (1,9-9,2 pg L^{-1})). Por lo que probablemente esta región se trate de una zona *hotspot* mundial, con una gama de concentraciones muy elevadas de Hg, registradas para aguas óxicas de ecosistemas lacustres.

El estudio de los procesos de transformación del Hg, espaciales y estacionales demostraron que las producciones de MMHg en los sedimentos ($3,4 \pm 1,2 \text{ ng g}^{-1} \text{ día}^{-1}$ para la época seca), fueron favorecidas en el sitio más contaminado. De las diferentes matrices ensayadas, fueron los agregados bio-orgánicos flotantes, observados durante el periodo seco, los mayores metiladores de Hg ($5,8 \text{ ng MMHg g}^{-1} \text{ día}^{-1}$, en la época seca), seguido de los sedimentos. Mientras que el perifiton de las totoras ha demostrado tener una gran capacidad para descomponer MMHg ($2,1 \text{ ng MMHg g}^{-1} \text{ day}^{-1}$). Tomando en cuenta las masas de los agregados bio-orgánicos flotantes y el de las capas superficiales de los sedimentos, en el lago Uru-Uru, probablemente son los sedimentos los mayores metiladores de Hg y productores de MMHg a nivel anual. En los sedimentos y en los agregados bio-orgánicos flotantes se han evidenciado las mismas comunidades de bacterianas sulfatoredutoras (promotoras de la metilación del Hg), mientras que en la columna de agua estas comunidades fueron distintas.

El conjunto del estudio nos muestra que el lago Uru-Uru es un ambiente muy dinámico, donde las transformaciones del Hg en diferentes especies de Hg están regidas principalmente por las características fisicoquímicas del ecosistema acuático y mediadas por las poblaciones de bacterias sulfatoredutoras y muy probablemente por otras poblaciones

bacterianas propias de ambientes oxigenados. Dichas características son fuertemente influenciadas por la combinación de contaminantes de origen minero y urbano.

Las elevadas concentraciones de MMHg en forma disuelta en la columna de agua, y las bajas concentraciones de Hg^0 , indican que este ecosistema tiene una escasa capacidad de autodepuración respecto al Hg y una mayor disponibilidad de MMHg para su bioacumulación y posterior biomagnificación en los organismos acuáticos. En este contexto la población consumidora de pescado podría estar en riesgo de ser contaminada por MMHg.

La tesis desglosada en tres capítulos, en el primer capítulo de introducción se describe el ciclo biogeoquímico del Hg en el medio ambiente, según diferentes estudios realizados a poca altitud, a nivel del mar y a gran altitud; el segundo y tercer capítulo describe el estudio del ciclo biogeoquímico del Hg en el ecosistema acuático del Altiplano boliviano, la reactividad y los factores que gobiernan a este proceso. Este estudio se ha realizado en base a las cuantificaciones de las concentraciones de las diferentes especies de Hg, de metales pesados y elementos mayoritarios, además de las tasas de metilación de Hg, en los diferentes compartimientos de lago Uru-Uru. Finalmente se realiza una conclusión general de todo el estudio, perspectivas científicas y recomendaciones.

Résumé étendu

Le cycle biogéochimique du Hg dans le lac Uru-Uru, situé à plus de 3700 mètres d'altitude sur l'Altiplano bolivien, fait l'objet de ce travail de thèse. Cette région de l'Altiplano bolivien a été choisie en raison de conditions environnementales particulières : l'altitude (la masse totale de l'oxygène à 4000 m d'altitude représente 60% de la masse totale au niveau de la mer) et l'intensité du rayonnement solaire. La température annuelle moyenne oscille entre 8 et 10°C; la température du jour varie très fortement, de -2 à 25°C pendant l'été et de -15 à 14°C en hiver et les variations diurnes peuvent atteindre 20 à 25°C. Les précipitations annuelles moyennes varient selon les années de 300 à 500 mm et l'évaporation mesurée est de 1800 mm (Pillco Zolá and Bengtsson, 2006). Dans ce contexte aride, les périodes de sécheresses peuvent provoquer la disparition transitoire de lac, comme c'est le cas du lac Poopó, probablement lié à la fois à une forte pression anthropique et aux variations climatiques globales. La ressource hydrique, qui est rare dans la région, est d'autant plus limitée pour la population locale, essentiellement agricole, que les activités minières utilisent aujourd'hui de façon indiscriminée de grandes quantités de cette ressource pour ses activités.

En Bolivie, l'importante activité minière liée à l'extraction de métaux d'intérêt économique comme Sn, Sb, Pb, Ag, Zn et Au s'est développée depuis l'époque coloniale dans les Cordillères Orientale et Occidentale. Depuis les années 1850, la Bolivie, est devenue un des principaux producteurs mondiaux, d'étain, occupant actuellement la quatrième position en terme de production. Cette activité est à l'origine de la dissémination d'énormes quantités de déchets solides et de la production d'eaux acides de drainages de mines non traités qui rejoignent le réseau hydrologique des lacs. Le mélange de ces résidus provoque la libération de grandes quantités de métaux lourds qui sont à l'origine des fortes concentrations dissoutes rencontrées, dont une fraction importante est biodisponible pour les organismes présents dans les différents compartiments de l'environnement.

Le lac Uru-Uru reçoit les eaux du río Desaguadero, exutoire du lac Titicaca qui traverse la plaine de Santo Tomas sur laquelle a été déposée les rejets de la mine de La Joya depuis 1952 et qui reçoit également depuis 2005 les rejets urbains et industriels non traités de la ville d'Oruro.

L'objectif de ce travail est de documenter le cycle biogéochimique du Hg dans les eaux du lac Uru-Uru, à travers l'étude de sa spéciation et de la dynamique spatiale et temporelle des différentes espèces chimiques (iHg et MMHg) dans la colonne d'eau et les différents compartiments du lac. La capacité de méthylation et/ou déméthylation qui sont les processus qui déterminent et régulent la production de MMHg ont également été étudiés. Enfin, les flux de iHg y MMHg entre les différents compartiments (eau / sédiments / matériel particulaire / agrégats bio-organiques flottants / périphyton de totoras) ont été estimés.

Pour répondre au premier objectif, nous avons déterminé les concentrations des différentes espèces chimiques dans les échantillons d'eau, de sédiments et d'eau interstitielles prélevées en saison sèche et humide (octobre 2010 et mai 2011), tout au long d'un transect nord-sud du lac Uru-Uru. Les paramètres mesurés dans les échantillons d'eaux ont été les métaux et métalloïdes (Fe, Mn, Sb, Ti et W), les éléments majeurs et différentes espèces chimiques du Hg, Hg inorganique (iHg), monométhylHg (MMHg), Hg vapeur (Hg^0) et diméthylHg (DMHg). Dans les sédiments le MMHgT et le Hg total (THg) a été déterminés alors que dans les eaux interstitielles nous avons mesuré les concentrations des formes dissoutes de MMHg et iHg (MMHg_{FPW} et iHg_{FPW} respectivement).

Pour étudier la réactivité et la transformation des différentes espèces de Hg, nous avons déterminé les potentiels de méthylation (M) et déméthylation (D) dans les échantillons de sédiments, d'eaux, de périphyton et agrégats bio-organiques flottants, collectés sur les sites nord (NS) et sud (SS) du lac Uru-Uru. Les déterminations des potentiels de M et de D ont été réalisées au travers d'expérimentations réalisées in situ, consistant à l'incubation de traceurs isotopiques stables enrichis en ^{199}IHg et MM^{201}Hg , pendant 24 heures, dans différents types de prélèvements collectés dans le lac en saison sèche et humide des années 2010 et 2011.

L'étude de la réactivité du Hg, observée dans différents compartiments par cycles de 24 heures sur le site nord (contaminé) et sud (non contaminé) en saison sèche et saison des pluies, indique que la production de MMHg est à attribuer principalement aux processus biotiques des bactéries sulfatoréductrices, favorisé pendant la nuit par la diminution de la concentration en oxygène. Pour un cycle annuel, les différentes concentrations de MMHg mesurées dans la colonne d'eau pourraient être expliquées par les différentes interactions entre sédiment / eau / matériel particulaire en suspension. Les concentrations de MMHg total dans l'eau ont varié de 0,2 à 5,7 ng L^{-1} , avec une moyenne de $1,3 \pm 1,3 \text{ ng L}^{-1}$. Dans le même temps, les teneurs en MMHg dissout se situaient entre 0,2-2,0 ng L^{-1} avec en moyenne $0,69 \pm 0,47 \text{ ng L}^{-1}$, représentant autour de 50% du Hg total dissout ou filtré (THg_F: 0,4-3,5 ng L^{-1}).

Les concentrations de Hg total (THg) (formes dissoutes + particulières) dans le lac sont comprises entre 0,9 à 38,5 ng L⁻¹. Dans tous les cas les valeurs les plus élevées étaient retrouvées au nord du lac. Comparées aux concentrations de la littérature concernant les lacs non contaminés, les concentrations de THg mesurées dans le lac Uru-Uru sont parmi dans les valeurs les plus hautes observées. Pour le MMHg, les concentrations dans la fraction filtrée sont à ce jour les valeurs les plus élevées jamais rapportées dans la littérature (lacs oligotrophes Moreno de Patagonie (0,002 à 0,01 ng L⁻¹), lac hyper eutrophe contaminé Dianchi du Tibet (0,07- 0,19 ng L⁻¹) et lac des Alpes françaises (1,9-9,2 pg L⁻¹). L'étude des processus spatiaux-temporels de transformation du Hg démontre que la production de MMHg dans les sédiments (3,4±1,2 ng g⁻¹ j⁻¹ en saison sèche) est plus élevée dans le site le plus contaminé au nord du lac. Des différentes matrices étudiées, les agrégats bio-organiques flottants, observés pendant la saison sèche, est le compartiment où les taux de méthylation du Hg (5,8 ng MMHg g⁻¹ día⁻¹) sont les plus élevés, suivis des compartiments sédimentaires. Le périphyton de la « totora » (végétation endémique du lac) possède une forte capacité pour décomposer le MMHg (-2,1 ng MMHg g⁻¹ día⁻¹). Si on tient compte de la masse des agrégats bio-organiques flottants comparés à celle des couches superficielles des sédiments, le comportement sédimentaire est le site principal de méthylation de Hg et donc le plus producteurs de MMHg au niveau annuel (figure 36). Dans les sédiments comme dans les agrégats nous avons mis en évidence les mêmes communautés de bactéries sulfatoréductrices (promotrices de la méthylation du Hg), communautés qui sont distinctes de celles rencontrées dans la colonne d'eau. Les résultats du transect nord-sud du lac Uru-Uru, quelque soit la saison montrent des concentrations dissoutes élevées en métaux et métalloïdes (de 1581 à 9911 pour le B, de 23,4 à 493 pour le Mn, de 36,1 à 195 pour le Fe), de 46,4 à 93,4 pour l'As, de 1210 à 5475 pour le Sr, de 5 à 176 pour le Ba et de 1,3 à 19,5 µ L⁻¹ pour le Sb) alors que les concentrations de MMHg se situaient entre 0,2 et 2,0 ng L⁻¹. Les niveaux de concentrations dans les sédiments (Sn : 5-24, Sb: 3-25, Pb: 17-95, As: 41-86, Cu: 25-83, Zn: 195-60, W: 1,2-2,4 ng g⁻¹) et les concentrations de HgT et de MMHg variaient de 385 à 54 y de 0,04 à 7,84 ng g⁻¹ respectivement. Le pourcentage moyen de MMHg dissout dans les eaux, pendant la saison sèche et la saison des pluies a été de 49 ± 11% par rapport au Hg total dissout (THgd). L'analyse des coefficients de corrélation de Hg / Sb et de Hg / W (0,75 y 0,6 respectivement; p<0,01) (Sb et W sont deux métaux très exploités dans la région) dans les sédiments des sites de confluence des affluents miniers indique que la source de Hg est probablement d'origine minière. L'évaluation des coefficients de partition basés sur les concentrations de MMHg et de IHg dans les sédiments, eaux superficielles et colonne d'eau, montre que les sédiments sont les principaux contributeurs du MMHg de la colonne d'eau du

lac pendant la saison sèche avec un flux diffusif qui atteint des valeurs jusqu'à $227 \text{ ng m}^{-2} \text{ día}^{-1}$ de MMHg (figure 29). Ces déductions sont étayées par la détermination des potentiels de M / D des sédiments.

Dans cette région où le rayonnement solaire et UV est très élevé, on a mis en évidence que le processus de photoréduction du Hg dans l'eau est limité, probablement à cause des concentrations élevées en matériel organique dissous ($\sim 16,5 \text{ mg L}^{-1}$) même s'il s'agit de matière organique humique. Les fortes concentrations en MMHg dans les eaux pourraient avoir deux explications : 1) la formation de complexes stables entre la matière organique humique et le Hg, complexes fortement résistant à la photoréduction et 2) la formation de colloïdes entre MMHg, les sulfures de fer (FeS) et la matière organique.

L'ensemble de ces résultats montre que le lac Uru-Uru est un environnement très dynamique où les transformations du Hg en différentes formes chimiques sont contrôlées à la fois par les caractéristiques physicochimiques de l'écosystème et par la présence de populations de bactéries sulfatoréductrices (et probablement par d'autres populations bactériennes spécifiques d'un environnement très oxygéné). L'activité minière constitue la source principale du Hg. La présence de fortes concentrations de MMHg sous forme dissoute dans la colonne d'eau et les basses concentrations de Hg⁰ dans cet écosystème de type alcalin ($\text{pH} = 8,3 \pm 0,6$; concentrations en sulfates : $5,5 \pm 3,2 \text{ g L}^{-1}$; $\text{HCO}_3^{-1} = 197,9 \pm 50,2 \text{ mg L}^{-1}$) et impacté par les eaux usées d'origine urbaine, est le signe que cet écosystème a de faibles possibilités d'autoépuration en ce qui concerne le Hg. Cela induit une forte disponibilité du MMHg pour les processus de bioaccumulation et de bioamplification dans la chaîne trophique. Une contamination de la population locale, consommatrice de poissons, n'est donc pas à exclure.

En conclusion, dans le lac d'altitude Uru-Uru, la réactivité du Hg se trouve déterminée par des conditions physicochimiques extrêmes, lesquelles fluctuent au cours de l'année (saison sèche et humide). Pendant la saison sèche, la forte radiation solaire associée à la sécheresse provoque l'évaporation des eaux, ce qui entraîne une augmentation de la salinité. Pendant la saison des pluies, un effet de dilution est observé pour les éléments majeurs sans effet significatif sur le Hg. Cet environnement alcalin fortement concentré en sulfates et en bicarbonates possède une grande capacité tampon favorisant la précipitation de carbonates et le stockage du Hg et de différents métaux et métalloïdes depuis la colonne d'eau vers les sédiments. Les stocks de Hg, métaux et métalloïdes et de matière organique dans le lac proviennent de l'activité minière et urbaine qui se développe dans la région. Ces conditions

favorisent la photosynthèse, la production primaire de matière organique et l'augmentation de la concentration d'oxygène dans la colonne d'eau pendant le jour. A l'inverse, pendant la nuit la consommation d'oxygène par la respiration des organismes aquatiques crée progressivement des conditions anoxiques, favorables à la production de MMHg par les populations de bactéries sulfatoréductrices. L'autoépuration ou la détoxification du Hg dans le lac, générée par la photodégradation du MMHg et la réduction du Hg^{2+} est probablement limitée par la formation de complexes stables avec des ligands organiques (humiques) difficiles à décomposer, mais aussi par la forte concentration de matière organique (d'origine humique) qui pourrait limiter la pénétration des radiations ultraviolettes. La forte concentration en MMHg et en THg dans la fraction filtrée des eaux du site situé au nord du lac ainsi qu'à la confluence entre les eaux du lac avec celles du río Huanuni, témoignent d'une même origine des apports en Hg depuis les régions minières pendant la saison des pluies. Ce résultat est confirmé par l'observation pendant la saison des pluies des différentes formes chimiques du Hg, des métaux et métalloïdes sous formes dissoutes qui ne subissent pas de dilution comme c'est observé pour les éléments majeurs. Les coefficients de corrélation observés entre THg et certains éléments métalliques exploités (Sb et W), confirment que les apports liés aux déchets produits à l'activité minière (matériel inerte et eaux acides), sont probablement la source principale de Hg pour le lac, en association avec les flux d'origine urbaine. La faible profondeur du lac pourrait influencer la contribution en MMHg depuis les sédiments vers la colonne d'eau. Les coefficients de partition et les flux diffusifs calculés en utilisant la loi de Fick à partir des concentrations de MMHg_F présents dans les eaux interstitielles et surnageantes indiquent qu'il existe un transfert important de MMHg des sédiments à la colonne d'eau pendant la saison sèche et un processus inverse pendant la saison des pluies. La production de MMHg dans la colonne d'eau est favorisée pendant la nuit en conditions anoxiques (créée par les processus de respiration), et par la présence de populations bactériennes sulfatoréductrices. Les potentiels de méthylation et déméthylation mesurés dans les différentes matrices nous montrent que ces compartiments sont, de façon variable, capables de méthyler le Hg à l'exception du périphyton associé à la végétation du lac (totora). Nous avons identifié des agrégats bio-organiques flottants (présents uniquement pendant la saison sèche) comme les principaux contributeurs à la méthylation du Hg avec une capacité de méthylation de $9,58 \pm 0,05 \text{ \% jour}^{-1}$.

De l'ensemble de ce travail, nous pouvons conclure que le lac Uru-Uru est un écosystème aquatique très réactif en ce qui concerne le Hg et la production de MMHg, production qui est contrôlée par des processus biotiques et abiotiques, régulés par des facteurs

environnementaux naturels et anthropiques. Il est probable que la forme la plus disponible du Hg (MMHg) soit incorporée aux différents organismes aquatiques, bioaccumulée et biomagnifiée tout au long de la chaîne alimentaire, ce qui expliquerait les concentrations élevées retrouvées dans les poissons et les oiseaux du lac Uru-Uru et Poopó (Molina et al., 2012). Face aux taux élevés de MMHg en forme dissoute dans les eaux et à sa possible bioaccumulation dans les organismes (poissons, oiseaux, humains consommateurs de poissons), favorisée par la forte concentration en matière organique, en métaux lourds et métalloïdes, dont la source est liée à l'activité minière et urbaine, il sera nécessaire de réaliser une évaluation de l'impact du Hg chez les communautés consommatrices de poissons du lac Uru-Uru. Il apparaît également nécessaire que les politiques publiques recherchent à mettre en œuvre des solutions efficaces pour réguler l'émission des contaminants issus des eaux usées, des eaux acides de drainage de mines, des résidus solides de mines et des résidus urbains.

Tabla de contenido

Agradecimientos	2
Resumen	5
Résumé étendu	10
Tabla de contenido	16
Lista de abreviaciones y símbolos	19
Lista de figuras	20
Lista de tablas	23
Anexos	24
Introducción	26
1. Capítulo I: Ciclo biogeoquímico del Hg	31
1.1 Características fisicoquímicas del Hg	31
1.2 Antecedentes históricos del Hg	33
1.3 Toxicidad y vías de exposición de las formas inorgánicas y orgánicas del Hg.	34
1.4 Mecanismos de absorción del MMHg en el organismo	36
1.5 Efectos debidos a la exposición crónica de MMHg	37
1.6 Niveles de exposición a Hg que causan riesgo	38
1.7 Fuentes y ciclo biogeoquímico global del Hg	41
1.7.1 Fuentes naturales y antropogénicas de Hg	41
1.7.1.1 Fuentes naturales	41
1.7.1.2 Re-emisión de Hg	43
1.7.1.3 Fuentes antropogénicas	45
1.7.2 Balance global del Hg	49
1.8 Ciclo biogeoquímico del Hg en los ecosistemas acuáticos	50
1.8.1 Transformación y especiación del Hg en el medio ambiente	51
1.8.1.1 Oxidación y reducción del Hg en la atmósfera	52
1.8.1.2 Oxidación y reducción del Hg en los suelos	53
1.8.1.3 Oxidación y reducción del Hg en las aguas	55
1.8.1.4 Oxidación y reducción en los sedimentos	58
1.9 Metilación y demetilación	59
1.9.1 Metilación en la atmósfera	59
1.9.2 Metilación en los ecosistemas acuáticos	59
1.10 Aspectos generales de la formación de MMHg y DMHg	61
1.10.1 Metilación abiótica	62
1.10.2 Metilación biótica	65
1.10.3 Demetilación abiótica	69
1.10.4 Demetilación biótica	69
1.11 Distribución y especiación de Hg en los diferentes ecosistemas terrestres	70
1.11.1 Ecosistemas acuáticos	70
1.11.2 Atmósfera	72
1.11.3 Suelos	73

1.11.4	Biota	74
1.12	Bioconcentración, bioacumulación y biomagnificación del MMHg en los ecosistemas acuáticos.	74
1.13	Hg en los ecosistemas de altitud	76
1.14	Métodos analíticos y experimentales utilizados para la determinación de Hg	81
1.14.1	Técnicas de análisis de HgT	81
1.15	Técnicas de análisis para la especiación de Hg	84
1.15.1	Métodos de especiación de Hg por dilución isotópica ID-GC-ICPMS	85
1.15.2	Método de la dilución isotópica clásica "Simple spike Isotope Dilution Mass Spectrometry, SS-IDMS"	87
1.15.3	Método de dilución isotópica de doble-spike (DSIDA)	88
1.15.4	Tratamiento de datos	89
1.16	Uso de trazadores isotópicos para investigaciones ambientales	91
1.16.1	Aproximaciones experimentales	91
1.16.2	Aplicaciones medioambientales	92
1.16.2.1	Método de la medición de Metilación/Demetilación y Reducción del Hg en los ecosistemas acuáticos.	92
2.	Sitio de estudio	95
2.1	El Altiplano boliviano	95
2.2	El lago Uru-Uru	96
2.3	Geología y distribución de los yacimientos metalíferos	98
2.4	Actividades mineras en el sitio de estudio	100
3.	Problemática	104
4.	Objetivos de la tesis	107
5.	Capítulo II: Synergistic effects of mining and urban effluents on the level and distribution of methylHg in a shallow aquatic ecosystem of the Bolivian Altiplano	108
	Introducción	109
	Abstract	112
5.1	Introduction	113
5.2	Materials and methods	114
5.2.1	Study area	114
5.2.1.2	The Bolivian Altiplano: general settings	114
5.2.1.2	Lake Uru-Uru	115
5.2.1.3	Historical and current anthropogenic (urban and mining) activities in the watershed	116
5.2.2	Sample strategy	117
5.2.2.1	Sampling Strategy	117
5.2.2.2	Sample conditioning	117
5.2.3	Analytical methods	117
5.2.3.1	Surface and pore water analysis	117
5.2.3.2	Sediment analysis	118
5.2.4	Statistical treatment and data presentation	119
5.3	Results and discussion	119

5.3.1 Geochemistry and MMHg content in Lake Uru-Uru	119
5.3.1.1 Eutrophication in high altitude ecosystem context	119
5.3.1.2 MMHg levels and distribution in the water compartment	121
5.3.1.3 Mining effluents: a source of Hg and dissolved colloidal carrier phase	123
5.3.2 Sediment of Lake Uru-Uru: a major source of MMHg for surface water	125
5.3.2.1 Source of THg in surface sediment	125
5.3.2.2 Seasonal contribution of MMHg from sediment to lake water	127
5.4 Conclusion	129
Conclusiones	131
6. Capítulo III: Diurnal variability and biogeochemical reactivity of Hg species in an extreme high-altitude lake ecosystem of the Bolivian Altiplano	132
Introducción	133
Abstract	135
6.1 Introduction	136
6.2 Materials and methods	137
6.2.1 Study area	137
6.2.2 Samples collection and processing	137
6.2.3 Hg transformations assays	139
6.2.4 Samples analyses methodologies	139
6.2.5 Bacterial communities characterization	139
6.2.6 Statistics	140
6.3 Results and discussion	140
6.3.1 Major biogeochemical characteristics	140
6.3.2 Sulfate reducing bacteria communities	143
6.3.3 Hg methylation and demethylation in surface sediments	144
6.3.3.1 Methylation	144
6.3.3.2 Demethylation	146
6.3.3.3 Net methylation assessment	147
6.3.4 Hg species distribution and transformation in the water column	148
6.3.4.1 Hg species seasonal and diurnal variations	148
6.3.4.2 Biogeochemical transformation of Hg species in water	150
6.3.5 Methylation and Demethylation in Bio-organic substrates	153
6.3.5.1 Net methylation assessment in Bio-organic substrates	153
6.4 Implications for MMHg contamination in Lake Uru-Uru	154
Conclusiones	156
7. Conclusiones finales de la tesis	157
8. Perspectivas científicas	161
Conclusions de la thèse	163
Perspectives scientifiques	167
9. Referencias bibliográficas	169

Lista de abreviaciones y símbolos

AMD	Drenajes ácidos mineros (sigla en inglés)
CNRS	Centro Nacional de Investigación Científica (sigla en francés)
COMIBOL	Corporación Minera de Bolivia
DMHg	Dimetilmercurio
FAO	Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura (sigla en inglés)
Hg ⁰	Mercurio vapor
HgT	Mercurio total
IHg	Mercurio inorgánico
INERIS	Instituto Nacional para el Medio Ambiente y Riesgos Industriales (sigla en francés)
IRD	Instituto de Investigación francés para el Desarrollo
MMAyA	Ministerio de Medio Ambiente y Aguas
MMHg	Monometilmercurio
PPO	Proyecto Piloto Oruro
RUV	Radiación ultravioleta
SNHN	Servicio Nacional de Hidrología
UNEP=PNUE	Programa de las Naciones Unidas para el Medio Ambiente
USEPA	Agencia de Protección Ambiental de Estados Unidos (sigla en inglés)
WHO=OMS	Organización Mundial de la Salud (sigla en inglés)
NRCC	Consejo Nacional de Investigación de Canadá (sigla en francés)

Lista de figuras

<i>Figura 1 : Abundancia natural de los isótopos estables de Hg.</i>	<i>31</i>
<i>Figura 2 : Diagrama conceptual del ciclo biogeoquímico del Hg en el medio ambiente (Harris et al., 2007. (Mercurio divalente (HgII), monometilmercurio (MeHg) dimetilmercurio (DMeHg), mercurio elemental en forma de vapor (Hg⁰), mercurio particular (Hg_p), mercurio gaseoso reactivo (RGM).</i>	<i>32</i>
<i>Figura 3: Cinabrio (HgS), principal mineral del Hg (UNEP, 2013).</i>	<i>33</i>
<i>Figura 4 : Cinturón y principales sitios mercuríferos en el mundo (Jonassen et Boyle, 1972).</i>	<i>42</i>
<i>Figura 5 : Reconstrucción de emisiones naturales y antropogénicas de Hg durante 270 años, a partir de testigos glaciares (97 muestras provenientes del glaciar “Upper Fremont”, en Wyoming) (Schuster et al., 2002).</i>	<i>43</i>
<i>Figura 6 : Distribución global de las emisiones antropogénicas de Hg en el aire durante el año 2010 (UNEP, 2013a).</i>	<i>49</i>
<i>Figura 7: Estimaciones mundiales de Hg a partir de modelos, la figura ilustra los principales compartimentos ambientales y las vías que son de importancia en el ciclo global del Hg, y las formas naturales y antropogénicas en que son liberadas en el aire, tierra y aguas y su movimiento entre estos compartimientos. Emisiones al aire desde fuentes naturales y antropogénicas, así como las re-emisiones de Hg previamente depositados desde el aire sobre los suelos, aguas superficiales, y la vegetación (UNEP, 2013).</i>	<i>50</i>
<i>Figura 8 : Principales procesos bióticos y abióticos del ciclo biogeoquímico del Hg.</i>	<i>51</i>
<i>Figura 9 : Transferencias y transformaciones de las especies químicas del mercurio en el ecosistema acuático (Stein et al., 1996).</i>	<i>52</i>
<i>Figura 10 : Resumen de algunas transformaciones físicas y químicas importantes del Hg en la atmósfera, adaptado desde Shia et al., 1999 y Lin and Penhkonen, 1999.</i>	<i>53</i>
<i>Figura 11 : Mecanismos de reducción del Hg por las bacteria (Osborn et al., 1997, modificado a partir de Brown, 1985).</i>	<i>57</i>
<i>Figura 12 : Mecanismos principales de la metilación del Hg y demetilación del MMHg (Monperrus, 2014).</i>	<i>60</i>
<i>Figura 13 : Reacción de metilación del Hg²⁺ por la metilcobalamina (MeCo, CH₃B₁₂), estructura molecular y cambios de conformación de la MeCo en función del pH.</i>	<i>63</i>
<i>Figura 14 : Mecanismo de metilación del Hg en las bacterias sulfatoreductoras, Park et al., (2013).</i>	<i>67</i>
<i>Figura 15 : Gama de concentraciones de HgT salvo mención contraria (ng L⁻¹ o ng Kg⁻¹ de peso fresco) en el medio ambiente y proporciones de Hg orgánico (Tessier, 2004; Fitzgerald and Lamborg, 2003, Bouffard and Amyot, 2009).</i>	<i>71</i>
<i>Figura 16 : Ciclo biogeoquímico del Hg en el océano (Fitzgerald et al., 2007b)</i>	<i>71</i>

<i>Figura 17 : Transformaciones físicas y químicas del Hg en la atmósfera. Estilo de la figura adaptado de Shia et al. (1999); reacciones de Shia et al. (1999), and Lin and Pehkonen (1999).</i>	<i>73</i>
<i>Figura 18 : ICP-MS acoplado a un cromatógrafo de gases (GC) (Bouchet, 2009).</i>	<i>85</i>
<i>Figura 19 : GC acoplado al ICPMS en el LCABIE (Thermo Focus-Thermo X-series), Pau, Francia. .</i>	<i>86</i>
<i>Figura 20 : Principio de la dilución isotópica del Hg.</i>	<i>87</i>
<i>Figura 21 : Transformaciones de las especies a través de los trazadores isotópicos durante el análisis por dilución isotópica multi-spike. F1, degradación de ²⁰¹MMHg o demetilación y F2: formación de MMHg a partir de ¹⁹⁹IHg (Bouchet, 2009).</i>	<i>88</i>
<i>Figura 22 : Cromatogramas GC-ICPMS para la especiación de Hg despues del doble dopage con ¹⁹⁹IHg and ²⁰¹MMHg y etilación/propilación derivatización en (a) agua de mar (W1), (b) tejido de ostra (CRM 710), (c) sedimentos de estuario (IAEA 405) Monperrus et al., 2008.</i>	<i>89</i>
<i>Figura 23: Principio de la utilización de trazadores isotópicos estables para la metilación/demetilación del Hg (Monperrus, 2004).</i>	<i>93</i>
<i>Figura 24 : Mapa del sitio de estudio mostrando el Sistema TPDS y el laago Uru-Uru.</i>	<i>97</i>
<i>Figura 25 : Lago Uru-Uru, sitio RAMSAR, sometido a fuertes presiones antrópicas mineras y urbanas. En la parte superior se observa al Canal de evacuación de aguas servidas de la ciudad de Oruro, Tagarete, que contiene altos contenidos de desechos orgánicos, materiales inertes (botellas pet, plásticos), desechos mineros sólidos y aguas ácidas. La figura contigua muestra a la mina San José, fuera de actividad, emitiendo aguas ácidas, las que llegan al lago Uru-Uru a través del Canal Tagarete. En la parte derecha superior se muestra la parte Norte del lago (contaminado) con la presencia de flamencos. En la parte inferior se observa las actividades mineras de la región; a continuación se observa a un habitante de la región portando especies de aves muertas a consecuencia de la contaminación del lago. Finalmente en la parte derecha inferior se muestra las diferentes especies de plantas acuáticas de la parte Sur del lago.</i>	<i>98</i>
<i>Figura 26 : Map of Lake Uru-Uru in the Bolivian Altiplano, with sampling locations (white circles) along the transect (presented as kilometeric points from the Tagarete wastewater channel). The main rivers affected by mining or urban effluents are also reported.</i>	<i>115</i>
<i>Figura 27 : pH, electrical conductivity and concentrations of dissolved organic carbon (DOC), sulfate (SO₄²⁻) in filtered surface water (upper 2 panels), filtered (F) and unfiltered (UNF) Hg (Hg) and monomethylHg (MMHg), dissolved gaseous Hg (DGM) and dimethylHg (DMHg) concentrations in surface waters (lower 6 panels) along the Lake Uru-Uru transect during the late dry season (left) and the late wet season (right). Additional data of pH and electric conductivity are also given for Rio Huanuni (HU) in the first panel.</i>	<i>121</i>
<i>Figura 28 : Linear regressions for filtered (F) and unfiltered (UNF) total Hg (THg) vs. monomethylHg (MMHg) concentrations (upper 2 panels), filtered vs. unfiltered monomethylHg concentrations (lower left panel) and filtered iron (Fe) vs. total Hg (THg) concentrations (lower right panel) in surface waters collected along the Lake Uru-Uru transect (empty symbols) and downstream the confluence with mining effluents (crossed symbols) during the late dry season (white symbols) and the late wet season (blue symbols).</i>	<i>125</i>
<i>Figura 29 : Upper 4 panels: filtered (F) and unfiltered (UNF) inorganic Hg (iHg) and monomethylHg (MMHg) concentrations in surface sediment pore water and total Hg (THg) and monomethylHg (MMHg) concentrations in surface sediments of Lake Uru-Uru. Lower 4 panels: log partitioning coefficient (log Kd) and daily diffusive fluxes of THg (iHg) and MMHg in surface sediments (PW and solid) of Lake Uru-Uru for the end of the dry season (October 2010 – left panels) and of the</i>	

wet season (May 2011 – right panels). Dotted line refers to mean log K_d values of THg (black dotted line) and MMHg (blue dotted line). 127

Figura 30 : Map of Lake Uru-Uru and its location in the Bolivian Altiplano (Bolivia, South América), showing the investigated sites in the northern (NS) and southern (SS) part of the lake, during late dry and wet seasons (October 2010 and May 2011). The major sources of contamination are also indicated: urban effluent (north) and mining effluent (south). 138

Figura 31 : a–h Diurnal variability (24 h) of the different Hg species (iHg_{UNF} , iHg_F , $MMHg_{UNF}$, $MMHg_F$, Hg^0 , DMHg) in comparison with oxygen and temperature at the southern site (SS) of Lake Uru-Uru for late dry and wet seasons. UNF unfiltered, F filtered. 141

Figura 32: a–d Diurnal variability (24 h) of the different Hg species (iHg_{UNF} , iHg_F , $MMHg_{UNF}$, $MMHg_F$, Hg^0 , DMHg) in comparison with oxygen and temperature at the northern site (NS) of Lake Uru-Uru for the late wet season. 142

Figura 33 : Correspondence analysis based on T-RFLP results for the *dsrAB* genes in the samples collected during the late dry season at stations SS and NS and in different compartments (W water, Sed sediments, Agg floating bio-organic aggregates). The letters A, B, and C refer to triplicates for each sample..... 143

Figura 34 : Diurnal methylation potentials of Hg determined in the different compartments (bulk and filtered water, sediments, bioorganic substrates) at station SS and NS of Lake Uru-Uru for the dry (solid bars) and wet (striped bars)..... 146

Figura 35 : Diurnal demethylation potentials of Hg determined in the different compartments (bulk and filtered water, sediments, bioorganic substrates) at station SS and NS of Lake Uru-Uru for the dry (solid bars) and wet (striped bars) season 147

Figura 36 : Schematic representation of the potential net methylation of Hg occurring in different compartments of Lake Uru-Uru for a dry season and b wet season. Net methylation are expressed in nanograms per gram per day in order to compare water, sediment, and bio-organic substrate incubation measurements..... 155

Lista de tablas

Tabla 1. Ejemplos de niveles máximos de Hg en peces recomendados o permitidos en diferentes países y la WHO/FAO (basado en reportes presentados a la UNEP, a menos que se indique lo contrario (UNEP, 2002).	39
Tabla 2. Ingesta diaria promedio y la retención de las diferentes formas de Hg estimada en el cuerpo, en un escenario relevante para la población en general no expuestos a Hg, valores en $\mu\text{g día}^{-1}$ (WHO/IPCS, 1991).	40
Tabla 3. Emisiones naturales de Hg a través de fuentes naturales,	45
Tabla 4. Emisiones de Hg antropogénico de diversos sectores, en toneladas por año, rango de estimación y porcentajes del total de las emisiones antropogénicas, (UNEP, 2013).	48
Tabla 5. Concentración de HgT en diferentes matrices de escenarios geográficos de altitud.....	80
Tabla 6. Técnicas de especiación de mercurio empleando trazadores isotópicos, en combinación con la dilución isotópica simple, (Bouchet, 2009).	90
Tabla 7. iHg methylation, methylHg demethylation, and Hg net methylation (mean \pm SD, $n=3$) estimates in surface sediments and bio-organic substrates (aggregates and periphyton) in the Lake Uru-Uru, under dark and diurnal conditions, during late dry and wet seasons (October 2010 and May 2011) at both southern and northern sites and Lake Titicaca and Popoo (sediments only).....	144
Tabla 8. Comparison of potential methylation of iHg and demethylation of MMHg obtained in water, sediment, and bio-organic substrates (e.g., macrophytic and rhizospheric periphyton, or aggregated biofilms) of Lake Uru-Uru with values obtained from incubations in different regions and ecosystems.	145
Tabla 9. iHg methylation, MMHg demethylation, iHg reduction, and Hg net methylation (mean \pm SD, $n=3$) estimates in the water column of the Lake Uru-Uru, under dark and diurnal conditions, during late dry and wet seasons (October 2010 and May 2011) at both southern and northern sites	151

Anexos

	<i>Pag.</i>
Información suplementaria 1 : Capítulo II	200
Información suplementaria 2 : Capítulo III	222
Artículo 1 : Synergistic effects of mining and urban effluents on the level and distribution of methylHg in a shallow aquatic ecosystem of the Bolivian Altiplano	233
Artículo 2 : Diurnal variability and biogeochemical reactivity of Hg species in an extreme high-altitude lake ecosystem of the Bolivian Altiplano	245

Introducción

Introducción

El Hg es un elemento ubiquista, considerado como metal pesado que transita entre los diferentes reservorios geoquímicos y biológicos vía los procesos biogeoquímicos naturales. El Hg es el único metal de coloración gris-plateado que se encuentra en forma líquida a temperatura ambiente (20°C), con punto de ebullición relativamente bajo (357°C) y con un punto de fusión de -38,8°C propiedad por la cual es utilizado en los termómetros. El Hg tiene una alta densidad específica (13,6 veces más que el agua) y es altamente volátil debido a su elevada presión de vapor (0,16 Pa). Estas propiedades físicas permiten un amplio uso del Hg en la industria para la fabricación de baterías, cables e interruptores eléctricos, aparatos de medida y lámparas, los mismos que derivan después de su uso en desechos para el medio ambiente (UNEP, 2013a). Muchos metales pueden disolverse en Hg (salvo el hierro y el platino) y formar amalgamas, esta propiedad es aprovechada para la elaboración de amalgamas dentarias y la recuperación de oro y plata en la minería (UNEP, 2013a).

El Hg tiene un peso atómico de 200,59 g mol⁻¹ y 80 electrones distribuidos en diferentes capas ([Xe] 4f¹⁴ 5d¹⁰ 6s²), de los cuales la última (6s²) contiene los electrones de valencia. Debido a las diferentes disposiciones de estos dos electrones el Hg puede presentarse en tres estados de oxidación: Hg⁰ (metálico), Hg¹⁺ (mercurioso) y Hg²⁺ (mercúrico).

Varios minerales contienen Hg, incluyendo al cinabrio (HgS) aprovechado para la producción de Hg. El Hg también está presente, en forma de impurezas en varios minerales de valor económico, en particular en metales no ferrosos, combustibles fósiles y en el carbón.

La mayoría de las elevadas emisiones de Hg se han producido desde 1800, asociado con la revolución industrial, basada en la combustión de carbón, fundido de minerales y la recuperación de oro en diversas partes del mundo (UNEP, 2013a). Dichas emisiones han incrementado la movilización de Hg en el medio ambiente, elevando su concentración en la atmósfera, suelos, aguas superficiales y en los océanos (Schuster et al., 2002; Sunderland et al., 2008; Dietz et al., 2009; Pirrone et al., 2010; UNEP, 2013a; Lamborg et al., 2014).

Se ha observado que en ciertas áreas geográficas del mundo los niveles de Hg han excedido los niveles de fondo o naturales, produciendo enfermedades crónicas en los seres humanos (UNEP, 2013a). La enfermedad de Minamata que presentaron los pobladores del entorno de la bahía de Minamata, en la prefectura de Kumamoto, Japón, fue reportada en

1956. Esta enfermedad fue el resultado de la exposición ambiental de los pobladores a MMHg, a través del consumo de pescado y mariscos contaminados (Murata and Sakamoto, 2013). El mercurio inorgánico (iHg) y el MMHg productos secundarios formados durante la síntesis de acetaldehído, fueron vertidos en esta bahía por la fábrica Chisso (Murata and Sakamoto, 2013).

Otra área geográfica donde se observó los efectos del Hg en la salud humana fue en Serra Pelada de la Amazonía sudamericana en 1980. Los efectos del Hg fueron observados en mineros expuestos a altas concentraciones de Hg⁰ en forma de vapor liberado durante la etapa de calentamiento de la amalgama de oro (Corbett et al., 2007). El Hg liberado durante estas actividades mineras también se acumuló en la cadena trófica (Akagi et al., 1996).

El impacto del Hg sobre la salud no solamente depende de su concentración sino sobre todo de su forma química. El Hg en forma de MMHg, a bajas concentraciones, afecta de manera irreversible el sistema nervioso (Grandjean and Landrigan, 2006; Debes et al., 2016). Esto se debe a que una vez formado el MMHg es asimilado y acumulado por los organismos vivos (Mason et al., 1996). En este caso se habla de procesos de bioacumulación porque ocurre dentro de un mismo organismo con una absorción mayor que la excreción (Mason et al., 1995b). Por otro lado tiene lugar el proceso de bioamplificación, esto ocurre cuando la concentración aumenta entre los niveles tróficos de la cadena alimentaria (Atwell et al., 1998). Estos procesos han permitido explicar la diferencia entre las concentraciones de Hg en los peces y crustáceos que fue cien a un millón de veces más alto que en las aguas del mismo medio (Mason et al., 1995b); y por otro lado las elevadas concentraciones que presentan ciertos predadores que se encuentran al final de la cadena alimentaria (WHO, 1990; Lailson-Brito et al., 2012). Por otro lado también explica el porqué en el hombre puede encontrarse elevadas concentraciones de Hg, siendo él mismo un predador terminal.

Varios estudios realizados en diferentes partes del mundo han revelado elevadas concentraciones de Hg en la sangre y en los cabellos, además de trastornos neurológicos en habitantes con un régimen alimentario a base de pescado como los ocurridos por ejemplo en la Amazonia (Malm, 1998; de Oliveira Corvelo et al., 2014), en Japón (Harada et al., 1998; Yorifuji et al., 2011), en China (Liu et al., 2014), en las islas Faeroe del Océano Atlántico Norte (Grandjean et al., 1997), en el Mediterráneo (Renzoni et al., 1998) y en Estados Unidos (Castaño et al., 2015; Dong et al., 2015) o bien por consumo elevado de numerosas especies de mamíferos marinos cuyas concentraciones de Hg fueron superiores a los recomendados por

la Organización Mundial de la salud (UNEP, 2002; Egeland et al., 2009; Endo and Haraguchi, 2010; Tian et al., 2011).

En la actualidad las concentraciones de Hg en los habitantes de la región del Altiplano son desconocidos, sí se encontraron concentraciones de Hg en peces y macroinvertebrados de los lagos Uru-Uru y Poopó (0,2 a 1,2 mg Kg⁻¹ en peces y de 0,03 a 1mg Kg⁻¹ en macroinvertebrados por peso de tejido seco) (Molina et al., 2012). La concentración de Hg por peso de tejido húmedo corresponde a 0,04 y 0,24 mg Kg⁻¹, en el caso de los peces, los cuales se encuentran por debajo de los valores máximos permitidos o recomendados en las normas de diferentes países y la Organización Mundial de la Salud (0,5 mg Hg Kg⁻¹ por peso húmedo) (UNEP, 2002).

Cabe destacar que en respuesta a la preocupación internacional sobre el Hg, tras evaluaciones realizadas por el Consejo de Administración del PNUMA (2002), seguida de la creación de la Asociación Mundial sobre el Hg del PNUMA (2005), finalmente el Comité Intergubernamental de Negociación (CIN) (2009) crea un instrumento jurídicamente vinculante sobre el Hg, llamado “Convenio de Minamata sobre el Mercurio” (UNEP, 2013b). Bolivia se ratifica con dicho Convenio el año 2015 (Ley 759). El Convenio en su primer artículo establece como objetivo proteger la salud humana y el medio ambiente de las emisiones y liberaciones antropógenas del Hg y sus compuestos (UNEP, 2013b). Con este fin el Convenio incluye una serie de medidas para controlar las emisiones y liberaciones del Hg a lo largo de su ciclo de vida (UNEP, 2013b).

La región del Altiplano Boliviano en la que se encuentra nuestro sitio de estudio el lago Uru-Uru, está ubicada a una altitud mayor a 3600 metros sobre el nivel del mar. En esta región la disponibilidad de oxígeno es menor (40% menos saturación de oxígeno en el aire que a nivel del mar) y la radiación ultravioleta B (UV-B) se ve incrementada en un 7% por cada kilómetro (Zaratti et al., 2003) con respecto a la cantidad de radiación UVB que llega a la superficie terrestre a nivel del mar. A nivel del mar y hasta una altitud de 450 m la radiación UV que llega a estas superficies se encuentran entre 300-340 W/m² (IUV: 0 – 7) mientras que en el Altiplano ubicada a una altitud de 3800 m la radiación que llega se encuentra entre 400-430 W/m² (IUV: <6 – 18). Otra de las características de esta región es la sequedad y aridez del clima, en el Altiplano boliviano las precipitaciones pluviales alcanzan hasta 200 mm/año, mientras que a nivel del mar o a poca altitud las precipitaciones pluviales se encuentran entre 500 -2000 mm/año. Además de estas características en los ecosistemas acuáticos de la región la productividad primaria es elevada, debida a su ubicación en la zona tropical a nivel

planetario. Tomando en cuenta el conjunto de estas características ambientales podemos decir que nos encontramos con un medio de condiciones ambientales extremas.

En la región se tienen indicios de la utilización de Hg para recuperación de plata durante la colonia española (Braudel, 1982); sin embargo antes y después de la nacionalización minera, seguida de la incursión de cooperativas, ocurrida en Bolivia durante los años 1950, no se utilizó Hg para la recuperación de plata y oro. Al mismo periodo corresponde la formación del lago Uru-Uru, por desborde del río Desaguadero sus aguas se depositaron sobre la planicie de Santo Tomás formando el lago Uru-Uru. Diferentes estudios realizados en la zona determinan elevados tenores de metales pesados y de arsénico en las aguas superficiales (García Moreno, 2006; Ormachea Muñoz et al., 2013) y en sedimentos (Tapia et al., 2012). Hasta el momento no se tiene conocimiento de algún estudio que nos pueda dar una idea de las fuentes y transformaciones biogeoquímicas que sufre el Hg en este medio tan particular. Por lo que en este estudio damos respuesta a esas interrogantes.

Para responder a las preguntas sobre el origen y reactividad del Hg en el lago Uru-Uru, se ha trabajado en dos etapas; en la primera etapa afin de determinar las fuentes y transferencia de especies de Hg entre compartimientos del lago Uru-Uru, se determinaron especies de Hg, metales y metaloides en aguas, sedimentos y aguas intersticiales del transecto Norte a Sur del lago. En la segunda etapa, tomando en cuenta las diferencias notables de las características fisicoquímicas del agua de los sitios Norte y Sur, se estudió la reactividad del Hg por compartimiento, mediante experimentos *in situ*. Los experimentos consistieron en la incubación de trazadores moleculares de Hg enriquecidos con isótopos estables de $MM^{201}Hg$ y ^{199}IHg los cuales fueron incubados en diferentes matrices (agua, sedimentos, agregados bio-orgánicos flotantes y perifiton de totoras).

1. Capítulo I: Ciclo biogeoquímico del Hg

1. Capítulo I: Ciclo biogeoquímico del Hg

El Hg, forma parte del grupo de metales pesados (Cd, Pb, Ni, Sb, Bi) que no tiene una función biológica conocida, excepcionalmente es altamente tóxico a bajas concentraciones y acumulable en los organismos vivos en sus formas organometálicas (Gregoire and Poulain, 2016).

Los síntomas y efectos en la salud por exposición a Hg son diferentes y según el tipo de especie química de Hg presente en el organismo.

1.1 Características fisicoquímicas del Hg

El Hg en su forma elemental tiene una densidad de $3,546 \text{ g cm}^{-3}$ a 20°C . En comparación con las temperaturas de fusión y de ebullición de otros metales, tiene la temperatura de fusión ($-38,829^\circ\text{C}$) y ebullición ($356,58^\circ\text{C}$) más bajas. Es el único metal que en su estado metálico (Hg^0) se encuentra en forma líquida a temperatura ambiente ($\text{Hg}^0_{(l)}$). En este mismo estado de oxidación se encuentra en forma de vapor ($\text{Hg}^0_{(v)}$). El Hg metálico es escasamente soluble en agua (Onat, 1974; Sanemasa, 1975); pero altamente volátil debido a su elevada presión de vapor (0,16 Pa). El peso atómico promedio del elemento es de $200,59 \text{ g mol}^{-1}$ con un número atómico de 80 y una configuración electrónica $1s^2 2s^2 2p^6 3s^2 3p^6 3d^{10} 4s^2 4p^6 4f^{14} 4d^{10} 5s^2 5p^6 5d^{10} 6s^2$. El Hg presenta siete isótopos estables (196, 198, 199, 200, 201, 202, 204) de abundancia natural variable (Figura 1), y cuatro radioactivos inestables (194, 195, 197 y 203).

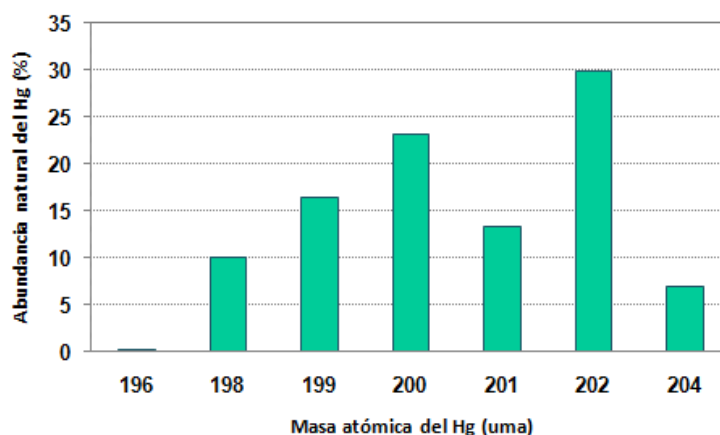


Figura 1 : Abundancia natural de los isótopos estables de Hg.

En su estado de Hg^0 es poco reactivo y relativamente inerte. Esta propiedad está asociada con el tiempo de residencia del Hg en la atmósfera, alrededor de un año (Lindberg et

al., 2007), permitiéndole difundirse en la atmósfera a escala planetaria (Morel et al., 1998; Lamborg et al., 2002).

El Hg está catalogado como un elemento ubiquista, debido a que se encuentra presente en todos los compartimientos del medio ambiente (atmósfera, litósfera e hidrósfera) bajo diferentes formas químicas: en forma líquida o gaseosa, en forma disuelta o particular y en forma inorgánica u orgánica (Figura 2).

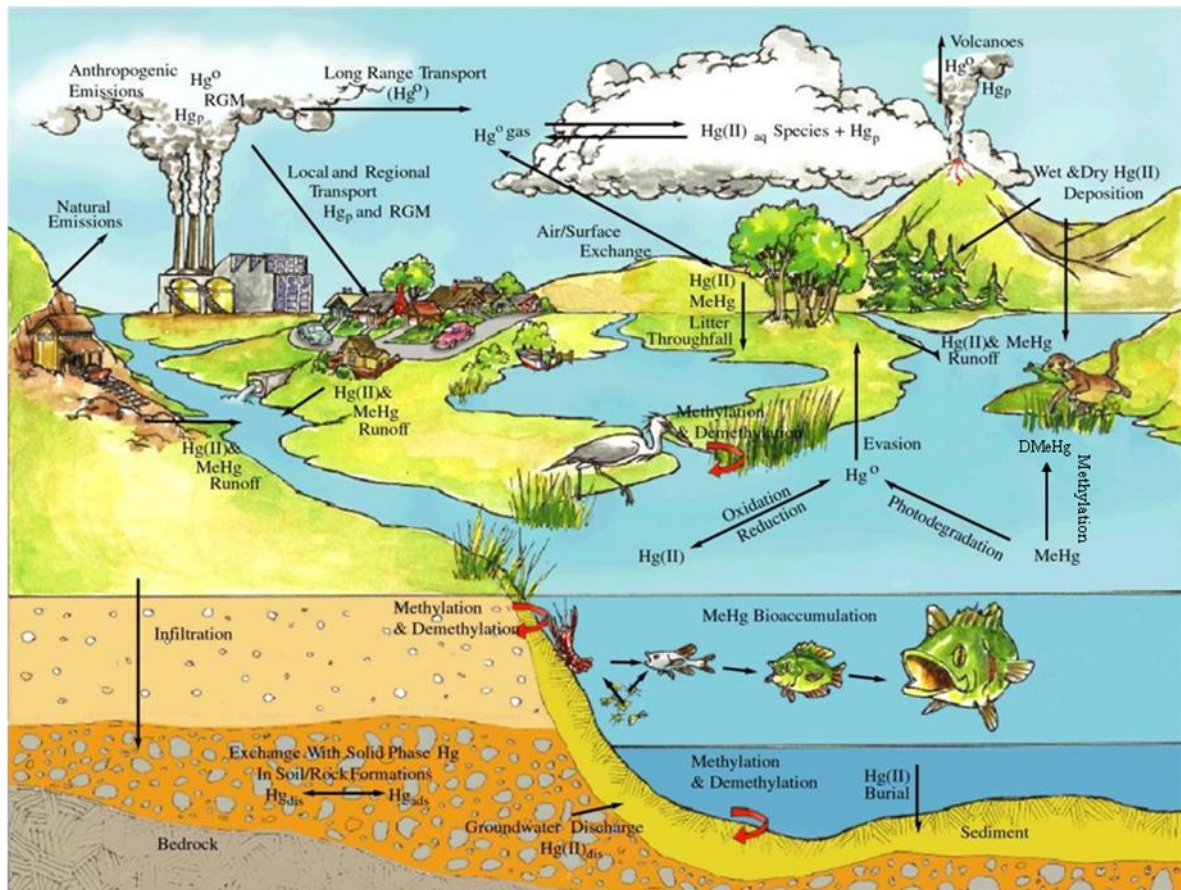


Figura 2 : Diagrama conceptual del ciclo biogeoquímico del Hg en el medio ambiente (Harris et al., 2007). (Mercurio divalente ($Hg(II)$), monometilmercurio ($MeHg$) dimetilmercurio ($DMeHg$), mercurio elemental en forma de vapor (Hg^0), mercurio particulado (Hg_p), mercurio gaseoso reactivo (RGM)).

La mayor parte del Hg en la litósfera e hidrósfera se encuentra en forma de sales mercúricas inorgánicas y compuestos organomercuriales, en los que se observa el enlace covalente entre los átomos de carbono e hidrógeno (C-H). Las formas inorgánicas del Hg son el mercurio elemental (Hg^0), mercurio divalente (Hg^{2+}) el cual a menudo se encuentra asociado a otros elementos en forma de iones (Cl^- , OH^- , S^{2-} , $-CH_3^-$). Las principales formas orgánicas del Hg son el monometilmercurio (MMHg) y el dimetilmercurio (DMHg).

1.2 Antecedentes históricos del Hg

El Hg y su mineral principal, el cinabrio (Figura 3), fueron conocidos y utilizados por civilizaciones antiguas (Goldwater, 1972). Este autor en su libro “Hg: A History of Quicksilver”, refiere que la civilización China, Egipto, Asiria, Griega, Romana e Inca utilizaban el cinabrio como pintura. Mientras que los fenicios, por los 700 años a.C. lo utilizaban para extraer y purificar oro; y en la India con fines afrodisiacos. En Egipto el Hg fue empleado a partir de la XVIII-XIX dinastía faraónica (1600-1500 a.C.) probablemente como conservador.



Figura 3: Cinabrio (HgS), principal mineral del Hg (UNEP, 2013).

Durante la edad media, época en la que la alquimia floreció, la dualidad mercurio-azufre fue aceptada por los alquimistas árabes y posteriormente medievales, como el principio formativo de los metales. El conocimiento de la toxicidad del Hg se remonta al primer siglo de nuestra era, cuando el erudito Plinio describe el envenamamiento por Hg como una enfermedad de los esclavos que trabajaban en minas las cuales estaban contaminadas con Hg. A fines del siglo XIX, el Hg^0 líquido utilizado para fabricar sombreros ingleses, provocó graves síntomas neurológicos (depresión, temblores, trastornos de elocución).

Por el año 1950, ocurre la grave intoxicación por MMHg en la población de Minamata, Japón, como consecuencia del consumo de pescado y moluscos contaminados con MMHg (Harada, 1995; Harada et al., 1998), descargado en las aguas servidas por la planta química Chisso Co. Ltda. durante el proceso de producción de acetaldehído. Las concentraciones de Hg total en los peces en peso húmedo se encontraban entre 5,6 y 35,7 $\mu g g^{-1}$; mientras que la concentración de Hg en los cabellos de los pobladores de Minamata alcanzaba hasta 705 $\mu g g^{-1}$, 24 veces más elevado que el valor considerado de “riesgo” (30 $\mu g g^{-1}$) (Legrand et al., 2010), provocando síntomas severos y la muerte de un millar de personas

(Harada, 1995). Otra grave intoxicación ocurrió en Irak durante los años 1956, 1960 y 1971, debido al consumo de harina elaborada a partir de granos tratados con fungicidas que contenían compuestos organo-mercuriales (Bakir et al., 1973).

1.3 Toxicidad y vías de exposición de las formas inorgánicas y orgánicas del Hg.

La toxicidad del Hg varía según su forma química, los síntomas y signos de intoxicación también son diferentes y variadas las fuentes de exposición (PNUE, 2005).

La absorción del Hg^0 e IHg por vía oral son bajas (Wright et al., 1980; Ineris, 2010); el $\text{Hg}^0(l)$, tal como puede ser tragado de un termómetro roto, se absorbe lentamente por el tracto gastrointestinal en un 0,01%, a una velocidad relacionada con la vaporización del Hg, mientras que la absorción de compuestos mercurícos presentes en la comida se absorben en un 15% (Goyer and Clarkson, 1996). La principal vía de exposición a Hg^0 es la inhalación de los vapores de Hg, alrededor del 80 a 100% de los vapores son absorbidos por los tejidos pulmonares y puede atravesar la barrera hematoencefálica (PNUE, 2005), otros expertos indican que la retención de Hg^0 en el tejido humano es 74 a 80% (Teisinger and Fiserova-Bergerova, 1965; Hursh et al., 1976). Los vapores de Hg tienen mayor afinidad por el sistema nervioso central que las sales inorgánicas de Hg (Goyer and Clarkson, 1996). El Hg^0 también puede ser adsorbido por los cabellos de las personas, así lo demostró un estudio realizado en cabellos humanos después de la exposición ocupacional a vapor de Hg (Queipo Abad et al., 2016).

El IHg y Hg^0 , cual sea el valor de su absorción, son principalmente excretados en la orina y en las heces, con un tiempo de vida media de 58 días, en un intervalo de 35 a 90 días (Clarkson and Magos, 2006).

Los efectos tóxicos de Hg^0 se producen después de la oxidación a iones de Hg (Hg^{2+}), que inhibe la función celular (actuando como un agente desnaturalizante de proteínas e inhibe las enzimas no específicas) en la actividad de transporte en la membrana, así como en la absorción y la liberación de los neurotransmisores cerebrales (Ozuah, 2000). La forma oxidada de Hg puede atravesar la placenta y concentrarse en los fetos de madres embarazadas (Kuhnert et al., 1981; Vahter et al., 2000).

Se ha demostrado que el Hg^{2+} tiene una fuerte afinidad por los grupos de proteínas y sulfidrilo que se combina con otros ligandos, incluyendo los grupos carboxilo, fosforilo,

amida y amina (Klaassen, 1990). En el cuerpo humano el Hg^0 tiene un tiempo de vida media de 60 días (Magos, 1988) y es expulsado mediante el aire exalado, orinas, heces fecales, transpiración y la saliva (Joselow et al., 1968).

Una exposición aguda a altas dosis de Hg^0 produce daños en los pulmones, en la piel, en los ojos y en las encías. La primera señal es dificultad para respirar (disnea). Esto puede ser seguido por tos paroxística, dolor en el pecho, infiltración pulmonar, escalofríos, náuseas y vómitos (Clarkson and Magos, 2006). Las manifestaciones pulmonares son los más fulminantes desencadenándose en neumonitis intersticial, bronquiolitis necrotizante, edema pulmonar e incluso insuficiencia pulmonar. Las características principales de los síntomas de una intoxicación crónica por Hg^0 inhalado son los temblores y alteraciones psicológicas. Este último tiene la connotación antigua como erethymus mercurialis o eretismo (Clarkson and Magos, 2006). La gingivitis, estomatitis y salivación excesiva también se asocian con altas exposiciones ocupacionales (Goldwater, 1972). Además puede presentarse un daño severo renal a veces asociada con el síndrome nefrótico. El síndrome nefrótico es una reacción idiosincrásica que se caracteriza por la albuminuria y edema (Clarkson and Magos, 2006).

La exposición a bajas dosis de Hg^0 produce efectos tóxicos a nivel del sistema nervioso central periférico (Ozuah, 2000). Las poblaciones expuestas a vapores de Hg^0 son aquellas dedicadas a la recuperación de oro mediante amalgación (Barbosa et al., 1995), a la industria metalúrgica (Queipo Abad et al., 2016) y la población que tiene amalgamas dentales (PNUE, 2005).

De la absorción de las sales mercuriales se sabe que solo el 15 % de la dosis de nitrato de Hg administrado por vía oral en una solución acuosa o acoplada a proteínas de hígado de vaca es absorbido por el tracto intestinal del organismo humano (Ineris, 2010). Las sales mercuriales producen insuficiencia renal y lesiones gastro-intestinales y la ingestión de 1 a 4 g de sales de Hg^{2+} y Hg^+ , pueden provocar los efectos antes citados hasta la muerte (ATSDR, 1999). La exposición crónica a estos compuestos causa daños permanentes en el sistema nervioso central (Boadi et al., 1992).

El MMHg es un neurotóxico potente que tiene efectos nocivos sobre el desarrollo del cerebro, por lo que su presencia durante el embarazo es preocupante ya que es capaz de atravesar fácilmente la barrera placentaria y hematoencefálica fetal (PNUE, 2005).

El medio por el cual ingresa al organismo es principalmente por la vía oral, con una absorción del 95% (Aberg et al., 1969). La concentración de MMHg en la sangre llega a un

máximo en las 4 a 14 horas después de la ingestión (WHO, 2008). Una vez distribuida en todo el cuerpo a través de la sangre, preferentemente se acumula en los riñones (Ineris, 2010). En la sangre se encuentra asociada a los grupos sulfhidrilos, en particular con la cisteína (Berlin et al., 1986). Un estudio reciente da cuenta de que la hemoglobina es la principal proteína de unión para el MMHg a través de su residuo cisteína 93 (Pedrero Zayas et al., 2014) sitios activos que contienen el grupo –SH. La cisteína 93 es uno de los aminoácidos que constituye el polipeptido β de la hemoglobina. La hemoglobina está constituida por polipeptidos (o cadenas) α y β , que a su vez se encuentran conformados por 141 y 146 aminoácidos respectivamente.

El tiempo de vida media del MMHg en el cuerpo, es aproximadamente de 70 a 80 días y el tiempo de vida media en la sangre de 48 a 53 días (Cernichiari et al., 2007). El Hg orgánico es excretado del organismo humano en las heces fecales en forma de IHg. El MMHg también es excretado en la leche materna (Weihe, 1994; Iwai-Shimada et al., 2015) por lo que los niños lactantes están expuestos a este tóxico.

El Hg orgánico afecta principalmente el cerebro, con parestesia, malestar, cambios y alteraciones sensoriales, induciendo a trastornos neurológicos graves, además de causar daños en los riñones (Ineris, 2010).

La mayor fuente de exposición a MMHg para el hombre es el consumo de pescado (Marques et al.; Bastos et al., 2015) y en los peces predadores casi todo el Hg se encuentra en forma de MMHg (PNUE, 2005).

1.4 Mecanismos de absorción del MMHg en el organismo

El MMHg ingestado, presente en los alimentos, es absorbido en el tracto intestinal, aunque aún no se conoce el sitio exacto de la absorción (ATSDR, 1999; USEPA, 2001). Hasta el momento se sabe que el Hg pasa directamente al torrente sanguíneo asociada a los grupos sulfhidrilos de la cisteína que contiene la hemoglobina (Berlin et al., 1986; Pedrero Zayas et al., 2014). En el organismo de los animales, los microsomas del hígado pueden degradar el MMHg a IHg. Esta reacción es propiciada por los radicales hidroxilados formados por la NADHcytochromo P-450 reductasa (Dunn and Clarkson, 1980). Otros experimentos demuestran que el cloruro de metilmercurio (MMHgCl) ingerido puede ser también transformado a IHg por la flora intestinal (Nakamura et al., 1977). El MMHg también puede ser secretado en la bilis en forma de complejo MMHg-glutationa, o ser redistribuida por el

sistema sanguíneo o demetilado y eliminado en las heces fecales (Clarkson et al., 2007). El MM secretado en la bilis no puede ser re-absorbido en el intestino posiblemente debido a que se encuentra acompañado con compuestos sulfuros no proteínicos presentes en la bilis (Norseth and Clarkson, 1971 ; Urano et al., 1990).

1.5 Efectos debidos a la exposición crónica de MMHg

El Hg produce efectos prooxidativos en la célula y su enlace con los grupos sulfidrilos, altera ciertas funciones celulares como la polimerización de los microtúbulos (Yole et al., 2007), la transcripción del ADN (Rodgers et al., 2001), la síntesis de glutamina (Allen et al., 2001) y la homeostasis del calcio (Yole et al., 2007). Estos efectos conducen a numerosas disfunciones celulares y la muerte celular. Estos mismos efectos se ven agravados por la capacidad del Hg para inducir respuestas auto-inmunes (Rowley and Monestier, 2005).

Los porcentajes de MMHg encontrados en la sangre y en el cerebro fueron alrededor del 5 y 10% respectivamente; los niveles de este compuesto en los cerebros fetales es 5 a 7 veces más elevado que en la sangre materna (Cernichiari et al., 1995). El MMHg presente en el cerebro inhibe la actividad de las enzimas responsables del crecimiento de las neuronas durante el desarrollo del cerebro, causando defectos y retrasos mentales en el desarrollo de los niños (Clarkson et al., 2007; Grandjean et al., 2014).

Los primeros reportes epidemiológicos de intoxicación con MMHg ocurrido en humanos fueron registrados en Minamata, Japón (1953-1960). El 59% de esta población presentó trastornos neuróticos y mentales; con signos clínicos de parestesia (hormigueo), ataxia (trastorno en la coordinación del movimiento), trastornos sensoriales, auditivos y dificultad al caminar. Los exámenes cerebrales en pacientes fallecidos, mostró atrofia cerebral importante en el 55% de la masa y volumen normal del cerebro. Los efectos congénitos del MMHg (retardo en la atención y desarrollo) se vieron reflejados en niños de madres expuestas a MMHg durante la edad adulta (PNUE, 2005). El sistema cardiovascular e inmune también se vieron afectados por el MMHg (NRC, 2000 ; Gardner et al., 2010). Los estudios relacionados entre la exposición a MMHg y una respuesta cancerogénica han sido realizados, sin embargo ninguno ha demostrado que existe una correlación (Crespo-López et al., 2009).

De los diferentes bioindicadores de MMHg (orinas, leche materna, la sangre total, plasmasanguíneo) los bioindicadores capilares (cabellos) son comúnmente utilizados para evaluar las exposiciones medioambientales por Hg (Airey, 1983). De manera particular la exposición a MMHg a través de la dieta puede ser evaluada a través del contenido total de Hg

en el cabello (Airey, 1983). Las concentraciones de MMHg en el cabello reflejan las exposiciones anteriores y depende de la tasa de crecimiento del cabello ya que existe una relación casi lineal entre el contenido de MMHg en la sangre y en los cabellos (NRC, 2000 ; Bensefa-Colas et al., 2011). La medición de Hg en los cabellos es el método menos invasivo y óptimo para determinar la exposición a MMHg; en los fetos y los niños de corta edad se mide en los cabellos de la madre (Grandjean and Perez, 2008). Sin embargo las exposiciones a $Hg^{0(v)}$ y óxidos de Hg vía oral pueden ser examinados en los cabellos empleando ablación laser ICP-MS (Legrand et al., 2004). Esta técnica fué aplicada para la determinación de las concentraciones de Hg en las diferentes secciones a lo largo del cabello, cuyos resultados fueron congruentes con las fechas de exposición a Hg^0 (Queipo Abad et al., 2016).

1.6 Niveles de exposición a Hg que causan riesgo

La alimentación representa la principal fuente de exposición a MMHg para los seres humanos, en particular el pescado y los productos del mar (PNUE, 2005; Sunderland et al., 2009). El pescado es un elemento importante de la alimentación humana en numerosas regiones del mundo debido a su aporte de elementos nutritivos (proteínas y ácidos grasos oméga-3) difícilmente reemplazables, por lo que, pensando en la salud, se debería consumir peces con bajos contenidos de Hg (PNUE, 2005).

En base a las evaluaciones de riesgo y consideraciones sociales, varios países y organizaciones internacionales han establecido herramientas de evaluación de riesgo, tales como los niveles de ingesta diarios o semanales de MMHg o Hg considerados seguros (dosis de referencia e ingesta semanal tolerable provisional), límites/directrices para las concentraciones máximas en el pescado y recomendaciones sobre el consumo de pescado.

Según los informes presentados por los diferentes países a la UNEP, la tabla 1 muestra un conjunto de ejemplos de niveles de Hg máximos permitidos o recomendados para pescado en diferentes países (UNEP, 2002). También se mencionan ejemplos de los niveles de ingesta tolerable de Hg o MMHg.

País/ Organización	Tipo de pescado	Nivel máximo permitido/recomendado en peces	Tipo de norma	Nivel de ingesta tolerable
Australia	Peces que se sabe que contienen niveles de Hg, tales como sworfi, southern bluefin tuna, barramundi, ling, orange roughy, ray shark. Todas las otras especies de peces crustáceos y moluscos.	1,0 mg Hg/kg 0,5 mg Hg/kg	Código Australiano de Normas Alimenticias.	Ingesta semanal tolerable: 2,8 µg Hg/kg de peso corporal por semana para las mujeres embarazadas.
Canadá	Todos los peces excepto tiburón, pez espada, atún congelado o fresco (expresado como HgT en la porción comestible de pescado) Límite máximo permitido para los que consumen grandes cantidades de pescado, tales como los aborígenes.	0,5 ppm Hg total 0,2 ppm Hg total	Directrices /tolerancias de diversos contaminantes químicos en Canadá.	Ingesta provisional diaria tolerable: 0,47 µg Hg/kg de peso corporal por día para la mayoría de la población y 0,2 µg Hg/kg de peso corporal por día para mujeres en edad fértil y los niños pequeños.
China	Peces de aguas superficiales.	0,30 mg/kg	Normas de higiene para los alimentos.	
Comunidad Europea	Productos de pescado, con la excepción de los listados abajo. Anglerfish, atlantic catfish, bass, blue ling, bonito, eel, halibut, little tuna, marlin, pike, plain bonito, portuguese dogfish, rays, redfish, sail fish, scabbard fish, shark (all species), snake mackerel, sturgeon, swordfish and tuna.	0,5 mg Hg/kg de peso húmedo 1 mg Hg/kg de peso húmedo	Varias decisiones de la Comisión, reglamentos y directivas.	
India	Pescado	0,5 ppm HgT	Tolerance Guidelines	
Japón	Pescado	0,4 ppm HgT/kg 0,3 ppm MMHg (como referencia)	Ley de Higiene Alimentaria - Norma de regulación provisional de pescados y mariscos	Ingesta semanal tolerable provisional: 0,17 mg MMHg (0,4 µg/kg de peso corporal por día) (Nakagawa et al., 1997).
Reino Unido	Pescado	0,3 mg Hg/kg (carne húmeda)	Norma Orgánica Europea	
Estados Unidos	Pescados, mariscos y otros animales acuáticos (FDA). Estados, tribus y territorios son responsables para la emisión de alertas de consumo de pescado capturado localmente; nivel de activación para muchos departamentos de salud del estado.	1 ppm MMHg 0,5 ppm MMHg	FDA nivel de acción Nivel de activación local	US EPA dosis de referencia: 0,1 µg MMHg/kg de peso corporal por día.
WHO/FAO	Todos los peces a excepción de los peces predadores. Peces predadores (tales como tiburón, pez espada, atún, pez lucio y otros).	0,5 mg MMHg/kg 1 mg MMHg/kg	FAO/WHO Código alimentario nivel de referencia	JECFA Ingesta seminal tolerable provisional: 3,3 µg MMHg/kg de peso corporal por semana.

Tabla 1. Ejemplos de niveles máximos de Hg en peces recomendados o permitidos en diferentes países y la WHO/FAO (basado en reportes presentados a la UNEP, a menos que se indique lo contrario (UNEP, 2002).

En la tabla 2, se presenta la ingesta media estimada para diferentes vías de exposición, de diferentes formas de Hg (OMS, 1990). Sin embargo, las exposiciones varían considerablemente entre las distintas poblaciones. Las personas que consumen grandes cantidades de pescado contaminado con Hg tendrán obviamente una mayor exposición a MMHg que los que se muestran en la tabla 2.

Exposición	Hg ⁰ (v)	Compuestos inorgánicos de Hg	MMHg
Aire	0,03 (0,024)	0,002 (0,001)	0,008 (0,0069)
Amalgamas dentales	3,8-21 (3-17)	0	0
Alimentos			
• pescado	0	0,60 (0,042)	2,4 (2,3)
• alimentos que no son pescado	0	3,6 (0,25)	0
Agua potable	0	0,050 (0,0035)	0
Total	3,9-21 (3,1-17)	4,3 (0,3)	2,41 (2,31)

Tabla 2. Ingesta diaria promedio y la retención de las diferentes formas de Hg estimada en el cuerpo, en un escenario relevante para la población en general no expuestos a Hg, valores en $\mu\text{g día}^{-1}$ (WHO/IPCS, 1991).

Los niveles de contaminación por Hg en el hombre, pueden ser determinados mediante el análisis de Hg en diferentes tejidos (cabellos, sangre, orinas, uñas, etc). El análisis en la sangre nos dá a conocer una exposición reciente, mientras que los cabellos una exposición a largo plazo. Por lo general los biomarcadores de exposición a MMHg (es decir la concentración total de Hg en el cabello o en la sangre) son usados como sustitutos para dosis en la derivación de una dosis de reference (RfD) para MMHg. La cantidad de Hg en los cabellos es considerado 250 veces más elevado que en la sangre (Ineris, 2010). La concentración total de Hg en la sangre puede reflejar exposiciones a MMHg y IHg (NRC, 2000). Esta aseveración fue demostrada mediante un estudio de fraccionamiento isotópico de Hg en los cabellos de mineros dedicados a la recuperación de oro mediante la técnica del amalgamado. Los cabellos analizados contenían MMHg proveniente del consumo de pescado y Hg²⁺ inorgánico proveniente del Hg utilizado en las actividades de recuperación de oro (Laffont, 2009).

Según la organización mundial de la salud (OMS) la concentración normal promedio de HgT en la sangre, para una población que consume muy poco o no consume pescado, está comprendida entre 5 y 10 $\mu\text{g L}^{-1}$ (WHO, 2008) y según el Consejo Nacional de Investigación de Canadá (NRCC) de 2 $\mu\text{g L}^{-1}$ (NRCC, 2000). Los niveles de HgT en la orina de población en general se encuentra entre 4 y 5 $\mu\text{g L}^{-1}$ (WHO, 1990). Los niveles normales de HgT en los cabellos es de 1 a 2 $\mu\text{g g}^{-1}$ (WHO, 2008) y la dosis de referencia, según la USEPA, corresponde aproximadamente a 1 $\mu\text{g g}^{-1}$ de cabello para la población con bajo consumo de pescado.

1.7 Fuentes y ciclo biogeoquímico global del Hg

1.7.1 Fuentes naturales y antropogénicas de Hg

El Hg se encuentra presente naturalmente a nivel de ultratrazas (10^{-9} a 10^{-12} g g⁻¹) en el medio ambiente, bajo diversas especies inorgánicas y orgánicas en las rocas, suelos, agua, aire y en las cenizas volcánicas. La distribución del Hg en la actualidad esta muy influenciada por las actividades antrópicas, tales como la actividad industrial, la combustión de hidrocarburos principalmente por el uso el carbón para la obtención de energía y todas las actividades que movilizan el Hg almacenado en los suelos y en las rocas (UNEP, 2013a).

El Hg es emitido directamente desde las fuentes primarias o naturales y desde fuentes secundarias o reservorios, donde el Hg es o ha sido depositado desde fuentes primarias.

1.7.1.1 Fuentes naturales

La estimación de las emisiones de Hg desde fuentes naturales engloba la contribución primaria de Hg desde fuentes naturales y procesos de re-emisión de Hg históricamente depositados sobre la superficie de tierra y mares. El Hg emitido desde los volcanes, las fuentes geotermales, los suelos superficiales enriquecidos en Hg pertenecen a las fuentes naturales primarias; mientras que la re-emisión de Hg previamente depositado sobre la vegetación, la tierra o las aguas superficiales, principalmente se encuentra relacionado con los cambios de uso de suelo, quema de biomasa, condiciones meteorológicas y mecanismos de intercambio de Hg gaseoso en aire-agua/suelos superficiales/interfaces de la capa de nieve-hielo (Mason, 2009).

Las emanaciones naturales de Hg que provienen de la corteza terrestre, durante una actividad volcánica o falla tectónica, son consideradas como fuentes primarias (Jonasson and Boyle, 1972; Pyle and Mather, 2003). El Hg es emitido hacia la atmósfera en forma de vapores de Hg (Schroeder and Munthe, 1998) o asociado a los aerosoles en escasa proporción, con un flujo de ~ 700 Mg año⁻¹ (Pyle and Mather, 2003). La alteración de las rocas en las zonas de subducción, volcanismo, geotérmicas, fracturas, fallas tectónicas, límites de placas tectónicas o en los sitios donde las rocas están enriquecidas en Hg, se constituyen en una fuente de Hg (Varekamp and Buseck, 1986; Nriagu, 1989; Friske and Coker, 1995). Estas zonas se encuentran distribuidas en todo el mundo como lo muestra la figura 4, y se denomina cinturón global de Hg (Jonasson and Boyle, 1972; Gustin et al., 2008). Los aportes de Hg

atmosférico por las rocas del cinturón global de Hg, fue estimada ser de $10 \mu\text{g m}^{-2} \text{año}^{-1}$ (Fitzgerald et al., 2007b).

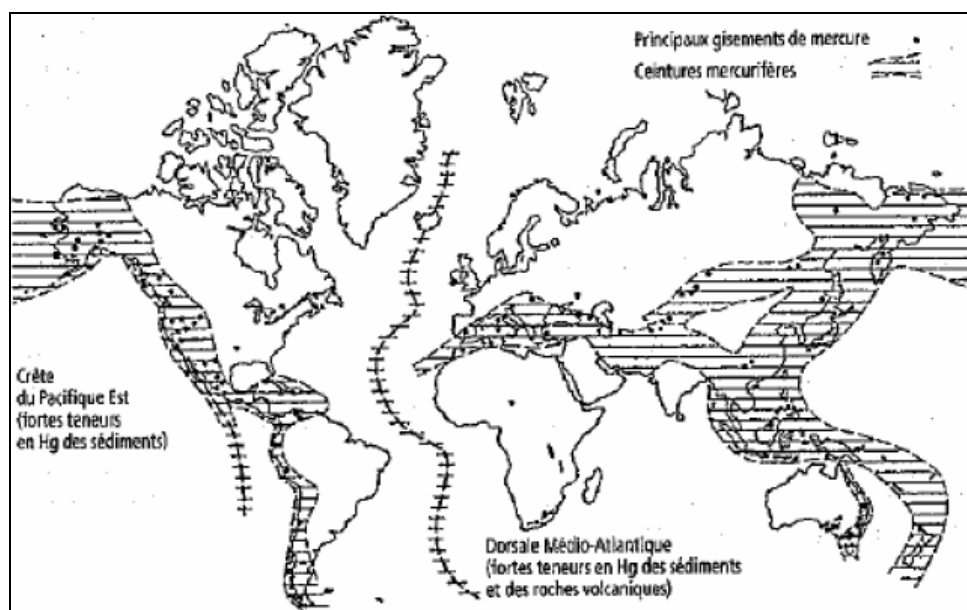


Figura 4 : Cinturón y principales sitios mercuríferos en el mundo (Jonassen et Boyle, 1972)

La concentración de IHg es muy baja en las diversos tipos de roca, sin embargo este elemento se encuentra enriquecido en las rocas metamórficas y magmáticas debido a su afinidad por el azufre (UNEP, 2013a). La concentración de Hg en las rocas que constituyen el manto terrestre superior de la Tierra, varía de 640 a 1480 ng g^{-1} (Tunell, 1978), así como también en las rocas magmáticas (Fitzgerald et al., 2007b). Debido a que también el Hg tiene una gran afinidad por los compuestos orgánicos, las concentraciones de Hg pueden alcanzar hasta 400 ng g^{-1} en los esquistos negros (Turekian and Wedepohl, 1961) y tenores más elevados ($7,5 \mu\text{g g}^{-1}$) en las series más antiguas (Loukola-Ruskeeniemi et al., 2003).

Durante las actividades volcánicas se libera Hg en forma gaseosa y en forma particular, hacia la atmósfera, vía las fumarolas. Por ejemplo durante las erupciones de los volcanes Tambora en 1815 y Krakalau en 1883, las concentraciones de Hg en la atmósfera se multiplicaron por 3 y 5 respectivamente (Schuster et al., 2002), así lo demuestra el testigo glaciar tomado en Wyoming (Estados Unidos) (Figura 5). Según diferentes autores, en todo el mundo, las actividades volcánicas emiten entre 1 y 700 toneladas (t) de Hg por año (Varekamp and Buseck, 1986; Nriagu, 1989; Fitzgerald et al., 1998; Nriagu and Becker, 2003; Pyle and Mather, 2003; Fitzgerald et al., 2007b) y según Selin, (2009) de 500 t año^{-1} (Selin, 2009).

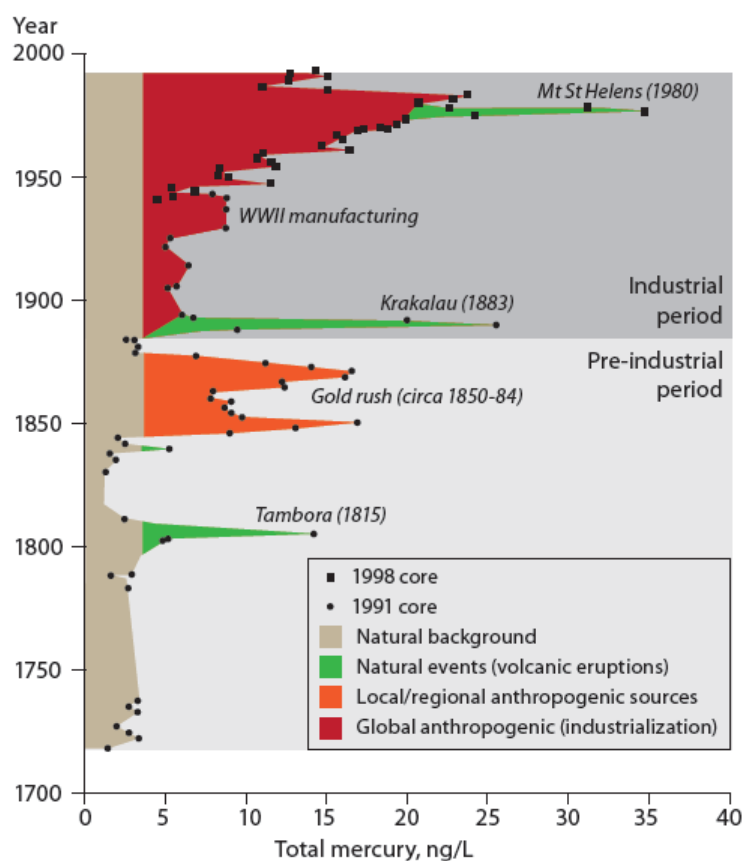


Figura 5 : Reconstrucción de emisiones naturales y antropogénicas de Hg durante 270 años, a partir de testigos glaciares (97 muestras provenientes del glaciar “Upper Fremont”, en Wyoming) (Schuster et al., 2002).

Las otras fuentes de emisión de Hg son las hidrotermales y las geotermales. Las fuentes hidrotermales aportan hasta 360 t año^{-1} de Hg, de las cuales una parte precipita en forma de óxidos de manganeso, hidróxidos de hierro y en forma de sulfuros metálicos (Fitzgerald et al., 1998). El aporte de la fuente geotérmica depende de la edad y del tipo del sistema geotérmico. El Hg se volatiliza de las aguas calientes, de la emisión de las fumarolas o de la alteración del sustrato resultante de un proceso geotérmico (Gustin et al., 2008). Se ha estimado que los aportes globales de Hg por esta fuente es de 60 t año^{-1} (Varekamp and Buseck, 1984). Algunos modelos recientes del flujo de Hg a través del entorno sugieren que las fuentes naturales representan aproximadamente el 10 % de las aproximadamente 5500-8900 toneladas de Hg emitida y re-emitida hacia la atmósfera (UNEP, 2013a).

1.7.1.2 Re-emisión de Hg

Las reemisiones de Hg constituyen la tercera categoría de fuente de Hg y comprende actualmente alrededor del 60% de las emisiones de Hg hacia la atmósfera. El Hg almacenado

en el aire como producto de pasadas emisiones, subsecuentemente es depositado sobre los suelos, superficie de las aguas y la vegetación, compartimientos desde donde es nuevamente re-emitido hacia la atmósfera. La re-emisión de Hg es el resultado del proceso natural por el cual el IHg y Hg orgánico se reduce a Hg⁰ mediante reacciones fotolíticas. No se descarta que la interacción de la temperatura o biológicos, probablemente, estén involucrados en algún grado (UNEP, 2013a). El Hg depositado sobre la superficie de las plantas puede ser re-emitido durante el incendio de bosques o la quema de la biomasa. Este metal puede ser depositado y re-emitido varias veces en el medio ambiente.

Las re-emisiones de Hg no se deberían considerar como fuentes de Hg natural ya que originalmente proviene de fuentes naturales y antropogénicas.

El incremento de las emisiones antropogénicas de Hg, tiene como resultado el aumento de las re-emisiones. Esto se ve agravado por los cambios en las prácticas de uso de la tierra, así como el aumento de las temperaturas debido al cambio climático.

En el medio acuático, la removilización de Hg se produce cuando el Hg depositado y acumulado sobre los suelos o sedimentos se vuelve a movilizar. Las lluvias, inundaciones y tormentas causan el ingreso de Hg en los sistemas acuáticos (UNEP, 2013a). Otra de las remobilizaciones ocurre cuando las rocas que contienen Hg son lixiviadas o erosionadas físicamente. Después de la alteración química, el Hg en forma de Hg²⁺ puede acomplejarse con la materia orgánica y entrar en el sistema acuático en forma disuelta o coloidal o en forma particular asociada al material mineral de los suelos y las rocas. La deposición y re-emisión de Hg en el medio ambiente va a ocurrir constantemente, siendo difícil cuantificar y definir el origen del mismo.

Las estimaciones de re-emisiones de Hg hacia la atmósfera a escala global, fueron realizadas por diferentes autores y varían según los años. Selin et al., (2008) y Sunderland and Mason, (2007), estimaron una re-emisión de 2500 a 4100 t de Hg año⁻¹ (Sunderland and Mason, 2007; Selin et al., 2008).

Para el año 2008, Pirrone et al., (2010), estima 5207 t de Hg por año⁻¹, emitido desde procesos naturales (emisiones primarias de Hg + re-emisiones), incluyendo los episodios de agotamiento de Hg (Tabla 4) (Pirrone et al., 2010). La emisión natural de Hg representa el 70% del total de las emisiones. Los océanos son la fuente más importante (36%) dentro de las fuentes naturales, desde donde el Hg es volatilizado mediante procesos de fotoreducción.

Fuente	Hg (t año ⁻¹)	Contribución
Océanos	2682	52
Lagos	96	2
Bosques	342	7
Tundra/sabana/pradera	448	9
Desierto/Metalíferas/Zonas no vegetadas	546	10
Áreas de agricultura	128	2
Evasión después de los eventos de agotamiento de Hg	200	4
Quema de biomasa	675	13
Volcanes y áreas geotermales	90	2
TOTAL	5207	100

Tabla 3. Emisiones naturales de Hg a través de fuentes naturales, estimación realizada para el año 2008 (Pirrone et al., 2010).

1.7.1.3 Fuentes antropogénicas

Las fuentes antropogénicas de Hg son numerosas. Dentro de la primera categoría se encuentran las industriales con la combustión de carbón y el uso de otros combustibles fósiles. Si bien el carbón no contiene altas concentraciones de Hg, la emisión de este elemento hacia la atmósfera es significativa respecto a la gran cantidad de carbón quemado para la generación de energía (UNEP, 2013a). La concentración de Hg en el petróleo varía de 10 a 50 ng g⁻¹ (Wilhelm, 2001) y en el carbón de 10 a 870 ng g⁻¹ (Yudovich and Ketris, 2005). Un estudio de la composición de isótopos estables realizado en depósitos de carbono en el mundo, revela que por la combustión de carbón, desde la revolución industrial, se ha emitido más de 35.000 t de Hg a la atmósfera (Sun et al., 2016).

En Asia a partir de los años 1980, las emisiones de Hg debido al uso del carbón para generar energía se han incrementado. Entre 1983 y 1992 se han emitido entre 282 a 420 t de Hg por año, que representa entre el 38 y 55% de las emisiones totales debidas a la combustión de carbón en todo el mundo (Pirrone et al., 1996). La emisión de Hg en la atmósfera debido al uso de las energías fósiles por los países industrializados es importante, por ejemplo el Hg emitido por la China, entre 1975 y 1995, fue de 2500 t de Hg, Estados Unidos emitió durante el año 2003 alrededor de 300 t de Hg (Yudovich and Ketris, 2005).

Las emisiones de Hg por combustión de petróleo son más importantes en las regiones desarrolladas como América del Norte, Europa y Rusia. Se ha estimado emisiones de 28, 37 y 30 t de Hg para cada región (Pirrone et al., 1996).

La minería, las industrias metalúrgicas para la producción de hierro y metales no ferrosos son también grandes fuentes mundiales emisoras de Hg en la atmósfera y en el agua.

En la minería y el procesamiento de metales, la mayor parte del Hg capturado y almacenado es vendido para su uso en diversos productos. No obstante, el volumen de los minerales y los metales involucrados dan como resultado grandes emisiones de Hg (UNEP, 2013a).

La producción de cemento, que normalmente consiste en la quema de combustibles fósiles para calentar los materiales necesarios para fabricar cemento, es otra fuente importante de emisión antropogénica de mercurio. Según la UNEP el sector dedicado a la producción de cemento emite 173 t de Hg por año (UNEP, 2013a), además de Pb. El Hg y el Pb que se encuentran como impurezas en la materia prima y el combustible utilizado, son emitidos o liberados como “subproductos” o de manera “no intencional” (UNEP, 2013a).

La biomasa terrestre y los suelos son una reserva mundial primaria de Hg derivado de fuentes naturales y antropogénicas (Wang et al., 2009; Gamby et al., 2015). Las actividades agrícolas y la deforestación son también responsables de las emisiones de Hg hacia la atmósfera (Fostier et al., 2000; UNEP, 2013a; Fostier et al., 2015). Se estima que 550 Mmol de Hg en promedio global fueron movilizados, desde el suelo, como resultado de la deforestación en los últimos 200 años (Gamby et al., 2015). La liberación de Hg se da con la deforestación y el chequeo de los suelos (quema de biomasa que contiene el suelo), las cuales son prácticas preliminares de la agricultura de ciertos países de Africa, Asia y América Latina (UNEP, 2013a). La deforestación favorece a la erosión eólica de los suelos y contribuye a la formación de aerosoles enriquecidos en Hg (Fostier et al., 2000). Las copas de los árboles presentan una gran absorción y asimilación superficial de partículas y Hg⁰ gaseoso (Fay and Gustin, 2007), posteriormente el Hg acumulado en el follaje se transfiere al suelo por el lavado de las hojas por las lluvias y por la descomposición de la hojarasca (Rea et al., 2002).

En la selva tropical amazónica se ha estimado que el 56 % de Hg presente en la atmósfera son provenientes de la biomasa (Artaxo et al., 2000). La emisión anual de Hg por la biomasa es de 268 Mg de Hg, esta masa constituye el 8% del total de Hg depositado sobre la Tierra desde la atmósfera (Fostier et al., 2015). Otra estimación del aporte de Hg en la Amazonía, considerando la deforestación, la tala de árboles y la agricultura sobre suelos chequeados, es de 370 g km⁻² por año (Roulet et al., 1999). Por otra parte en la agricultura el Hg puede ser aportado directamente a los suelos por el uso de fungicidas y fertilizantes que contienen Hg.

Una segunda categoría de fuente de Hg incluye los sectores donde el Hg es utilizado de manera intencional. La minería artesanal a pequeña escala es la más importante, donde el

Hg emitido y liberado resulta del uso de Hg para extraer oro de las rocas, suelos y sedimentos (UNEP, 2013).

Con la invención del proceso de amalgamado, el Hg ha sido utilizado en diferentes partes del mundo principalmente en América, Australia, Sudeste de Africa incluso en Inglaterra, para la producción de oro y plata a gran escala (de Lacerda and Salomons, 1997). El Hg liberado en la biósfera por esta actividad, entre los años 1550 a 1930, es alrededor de 260 t de Hg (de Lacerda and Salomons, 1997). La técnica del amalgamado sigue siendo utilizada para la producción de oro en Sud América especialmente en la Amazonia, China, Sudeste de Asia y en algunos países africanos, habiéndose estimado hasta el año 2002, para la minería aurífera a pequeña escala, una emisión de 727 t de Hg por año hacia la atmósfera (UNEP, 2013a). Esta cifra representa el 37% de las emisiones totales antropogénicas (UNEP, 2013a). La extracción de metales preciosos, las actividades de extracción de Hg a partir de los yacimientos de cinabrio se suman a la contribución de Hg en el medio ambiente.

Otro uso intensional está relacionado con el sector que incluye desechos de productos de consumo (incluye el reciclado de metales), la industria de cloro-alcali en la que se utiliza células de Hg para la producción de cloro y sosa cáustica, para la producción de cloruro de vinilo monómero de acetileno en la China, donde el Hg es utilizado como catalizador (UNEP, 2013a).

Los residuos de productos de consumo que contienen Hg pueden terminar en vertederos o incineradores. El Hg utilizado en una amplia gama de productos, incluyendo baterías, pinturas, interruptores, dispositivos eléctricos y electrónicos, termómetros, medidores de presión sanguínea, lámparas fluorescentes de bajo consumo de energía, pesticidas, fungicidas, medicinas y cosméticos. Una vez utilizados, muchos de estos productos y el Hg que contiene, entran en los flujos de los residuos. En los vertederos parte del Hg es remobilizado lentamente hacia el medio ambiente; mientras que el Hg contenido en residuos que se incinera puede ser una fuente importante de Hg atmosférico, especialmente en la incineración no controlada.

La cantidad de Hg que se libera durante el reciclaje de la chatarra, en la producción secundaria de acero y metales no ferrosos, se supone que es mucho menor que la liberada durante la producción primaria del metal (UNEP, 2013a). Sin embargo entre los países existen grandes diferencias en la forma de tratamiento de sus desechos.

Los valores estimados de emisiones globales antropogénicas de Hg en la atmósfera está comprendida entre 2200 a 4000 Mg año⁻¹ (Selin, 2009) y según el inventario de emisiones globales para el año 2010, de 1960 t de Hg (Tabla 3) (UNEP, 2013a).

Las fuentes antropogénicas de emisiones de Hg representan alrededor del 30 % de la cantidad total de Hg emitido a la atmósfera cada año (UNEP, 2013a). En tabla 3 se puede observar que las actividades de mayor emisión de Hg, en orden de importancia, son la minería aurífera artesanal a pequeña escala, seguida de la combustión de carbón para todos los usos, la producción de metales no ferrosos, la producción de cemento, la producción de oro a gran escala y los residuos de productos de consumo (UNEP, 2013a).

Sector	Emission (range), tonnes*	%**
<i>By-product or unintentional emissions</i>		
Fossil fuel burning		
Coal burning (all uses)	474 (304-678)	24
Oil and natural gas burning	9.9 (4.5-16.3)	1
Mining, smelting, & production of metals		
Primary production of ferrous metals	45.5 (20.5-241)	2
Primary production of non ferrous metals (Al, Cu, Pb, Zn)	193 (82-660)	10
Large-scale gold production	97.3 (0.7-247)	5
Mine production of Hg	11.7 (6.9-17.8)	<1
Cement production	173 (65.5-646)	9
Oil refining	16 (7.3-26.4)	1
Contaminated sites	82.5 (70-95)	4
<i>Intentional uses</i>		
Artisanal and small-scale gold mining	727 (410-1040)	37
Chlor-alkali industry	28.4 (10.2-54.7)	1
Consumer product waste	95.6 (23.7-330)	5
Cremation (dental amalgam)	3.6 (0.9-11.9)	<1
Grand Total	1960 (1010-4070)	100

Tabla 4. Emisiones de Hg antropogénico de diversos sectores, en toneladas por año, rango de estimación y porcentajes del total de las emisiones antropogénicas, (UNEP, 2013).

Las fuentes antropogénicas de emisiones de Hg, representan alrededor del 30 % de la cantidad total de Hg emitida por año en la atmósfera (UNEP, 2013a). En tabla 4 se puede observar que los mayores emisores de Hg, en orden de importancia, son la minería aurífera artesanal a pequeña escala, seguida de la combustión de carbón para todos los usos, la producción de metales no ferrosos, la producción de cemento, la producción de oro a gran escala y los residuos de productos de consumo (UNEP, 2013a).

A nivel regional, los mayores emisores de Hg antropogénico global en la atmósfera son Asia con alrededor del 50%, Africa Sub-sahariana con el 16,1% y América Latina con el 12,5%. En Asia se atribuye a China las tres cuartas partes de las emisiones Oriental y del Sudeste Asiático, o alrededor de un tercio del total mundial (UNEP, 2013a). En la figura 6 se puede observar la distribución antropogénica de Hg emitidas en el aire, en el año 2010.

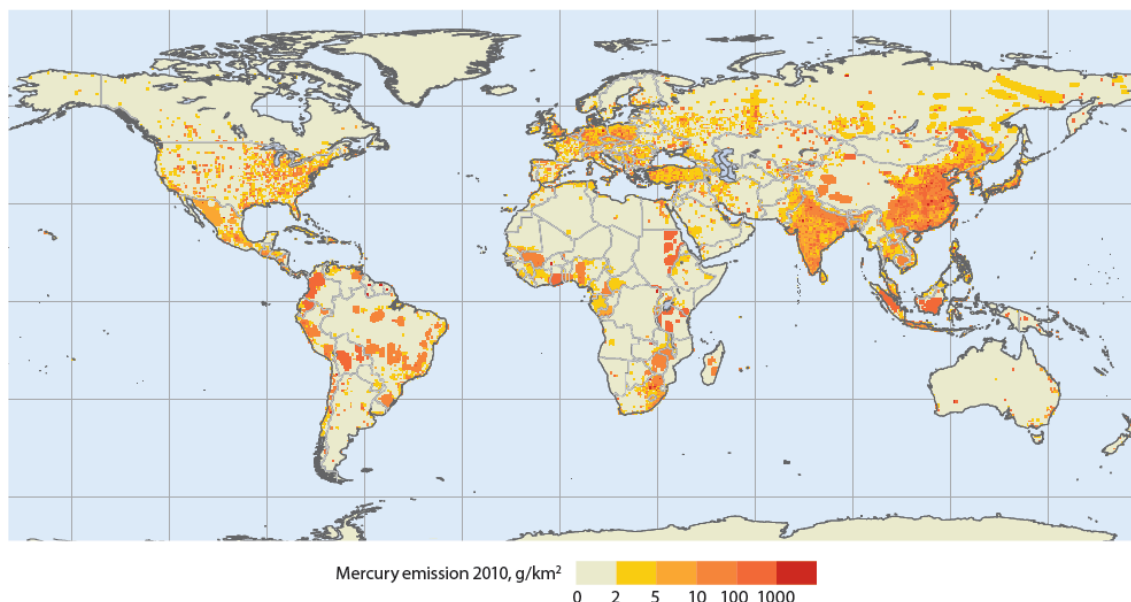


Figura 6 : *Distribución global de las emisiones antropogénicas de Hg en el aire durante el año 2010 (UNEP, 2013a).*

1.7.2 Balance global del Hg

El balance global de las emisiones así como también los depósitos de Hg del suelo, del océano hacia la atmósfera es mostrado en la figura 8. Según la UNEP, 2013, estos valores fueron calculados en base a los datos actualizado en el año 2013. La actualización de los datos 2013, presenta un inventario de emisiones para el año 2010, que tiene una serie de mejoras con respecto a la evaluación del año 2008 y el inventario para el año 2005.

Tomando en cuenta los inventarios de la UNEP, diferentes autores realizaron balances globales de las emisiones de Hg. Selin et al., 2008, realizaron el balance global del Hg con la ayuda del programa GEOS-Chem, mientras que Pacyna et al., 2006, para la modelización, toma en cuenta el inventario del año 2005.

El balance global permite poner en evidencia la importancia de las emisiones antropogénicas respecto a las emisiones geogénicas. La volatilización natural del Hg desde los océanos, por medio de procesos de fotoreducción, es también un flujo muy importante.

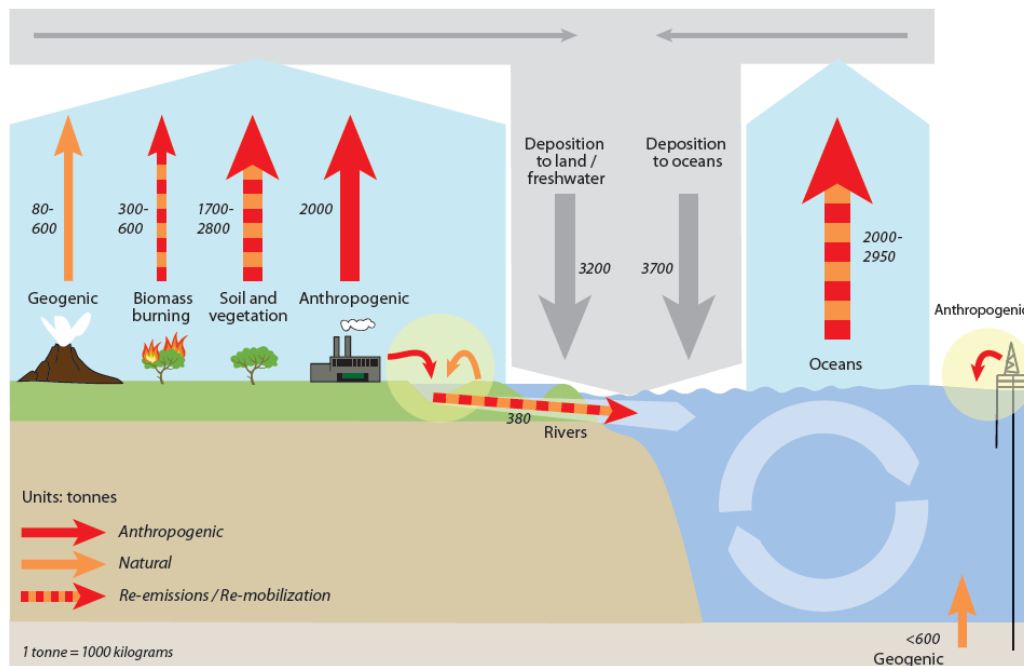


Figura 7: Estimaciones mundiales de Hg a partir de modelos, la figura ilustra los principales compartimentos ambientales y las vías que son de importancia en el ciclo global del Hg, y las formas naturales y antropogénicas en que son liberadas en el aire, tierra y aguas y su movimiento entre estos compartimientos. Emisiones al aire desde fuentes naturales y antropogénicas, así como las re-emisiones de Hg previamente depositados desde el aire sobre los suelos, aguas superficiales, y la vegetación (UNEP, 2013).

1.8 Ciclo biogeoquímico del Hg en los ecosistemas acuáticos

En el medio ambiente los ecosistemas acuáticos, según las condiciones fisicoquímicas que presentan, desempeñan el rol de grandes reactores para todos los elementos, los cuales experimentan diferentes cambios biogeoquímicos a través de múltiples procesos abióticos y bióticos (Hintelmann, 2010).

En los diferentes compartimientos del medio ambiente (atmósfera, columna de agua, periphyton y sedimentos) se dan diferentes procesos bióticos y abióticos dentro del ciclo biogeoquímico del Hg (Barkay and Wagner-Döbler, 2005) (Figura 8). Al mismo tiempo en un sistema acuático se observa una dinámica de intercambios permanentes de las formas mercuriales entre los diferentes compartimientos: agua-atmósfera, agua-biota, sedimento-agua, en este último según varios procesos tales como la difusión o la bioturbación generada por la actividad béntica (Point et al., 2007b).

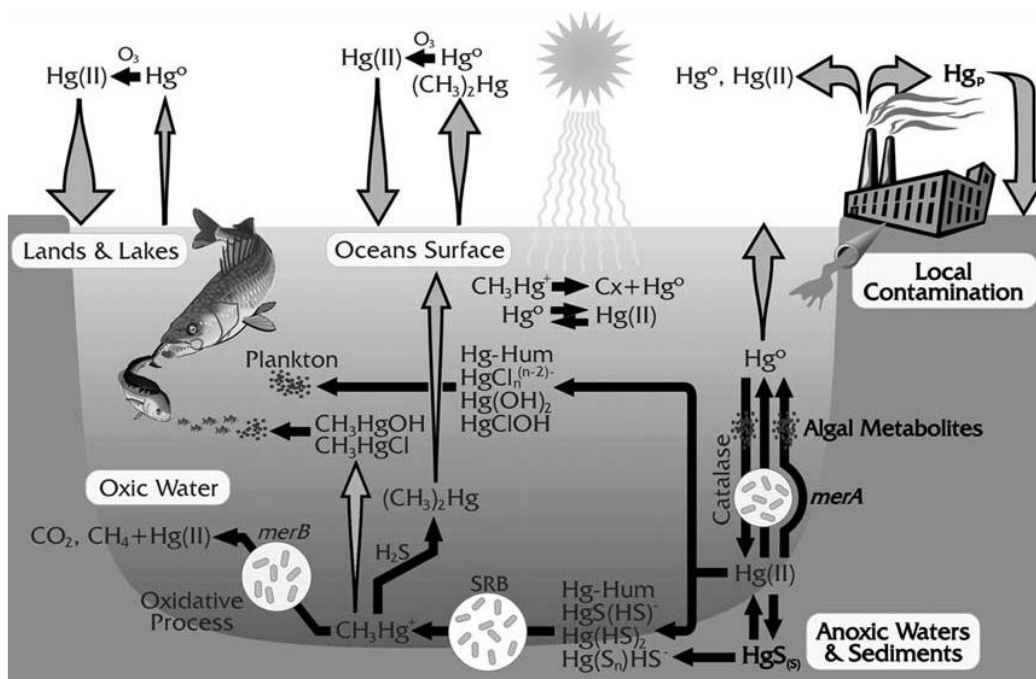


Figura 8 : Principales procesos bióticos y abióticos del ciclo biogeoquímico del Hg (Barkay et al., 2005).

En las zonas superficiales de los ecosistemas acuáticos, los procesos físicos (evaporación) y fotoquímicos (fotoreducción) compiten por el transporte particular del Hg determinando la re-emisión del mismo hacia la atmósfera o bien el secuestro del Hg en los sedimentos. El Hg presente en la columna de agua, puede sufrir diferentes transformaciones moleculares, pasar de la fase particular a la fase acuosa o inversamente, redistribuirse entre las diferentes fases particulares (materia orgánica, oxihidróxidos), o ser directamente asimilado por los organismos acuáticos.

En los sedimentos superficiales, una zona sub-óxica y de potencial de óxido-reducción reducido, el Hg es sometido a múltiples transformaciones debido a que en esta zona se encuentran las gradientes químicas y biológicas más importantes. El Hg puede entonces ser metilado, demetilado o reducido, desempeñando un rol importante la presencia y actividad bacteriana sulfatoredutora.

1.8.1 Transformación y especiación del Hg en el medio ambiente

En los sistemas acuáticos las diferentes formas mercuriales pueden sufrir diferentes transformaciones naturales así como intercambios entre los compartimientos. Se tienen

diferentes vías de transformación del Hg, tales como la oxidación, reducción, metilación y demetilación. Estos procesos modifican las propiedades fisicoquímicas del Hg y en consecuencia su reactividad, transferencia y biodisponibilidad. Mediante la reducción el Hg es movilizado y reciclado en la atmósfera. Mientras que las especies alquiladas, mediante la metilación incrementa su biodisponibilidad y bioamplificación en la cadena trófica. En la figura 9, se muestra de manera general estos mecanismos, a los que nos referiremos en adelante.

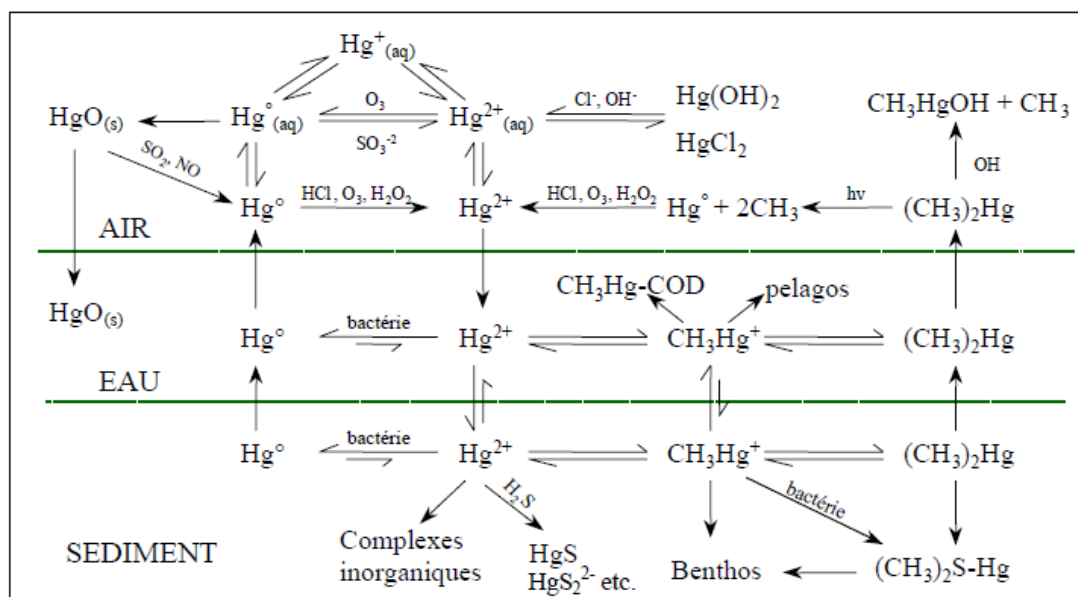


Figura 9 : Transferencias y transformaciones de las especies químicas del mercurio en el ecosistema acuático (Stein et al., 1996).

En las reacciones de transformaciones son preferiblemente las especies lábiles de IHg o mercurio reactivo los que participan en los mecanismos de reducción y metilación (Mason and Fitzgerald, 1990; Fitzgerald et al., 1991).

1.8.1.1 Oxidación y reducción del Hg en la atmósfera

En la figura 10, podemos observar las diferentes reacciones que ocurren en la atmósfera en torno al Hg. Del total del Hg atmosférico (Hg gaseoso elemental, Hg gaseoso reactivo y Hg particular) el porcentaje de Hg gaseoso reactivo y de Hg particular es menor al 1%, lo que significa que en la atmósfera predomina la forma gaseosa elemental del Hg (Wang et al., 2016). Sin embargo la concentración del Hg particular en la atmósfera puede variar según el area geográfica, por ejemplo durante el episodio de nieblena en la China la fracción de Hg particular fue de 0,42 con respecto al Hg gaseoso total (Chen et al., 2016).

La mayor parte de la oxidación del Hg ocurre en la interface sólido-líquido de la niebla y en las nubes teniendo como principal oxidante al ozono (O_3) y significativamente por el ácido hipocloroso (HClO), por el anión sulfito ácido HSO_3^- y por los radicales *OH (Munthe et al., 1991; Munthe, 1992; Hall, 1995; Calvert and Lindberg, 2005). En la fase gaseosa a nivel global la oxidación de Hg^0 por el O_3 y los radicales *OH , son las más importantes (Hall, 1995; Calvert and Lindberg, 2005), entre los que se debe añadir al bromuro (Br^-) como oxidante (Gratz et al., 2015).

El Hg^{2+} producido en la atmósfera es reducido por mecanismos que involucran la presencia de sulfitos (SO_3^{2-}) como agente reductante (Munthe et al., 1991) o por foto reducción del hidróxido de mercurio ($Hg(OH)_2$) (Xiao et al., 1994).

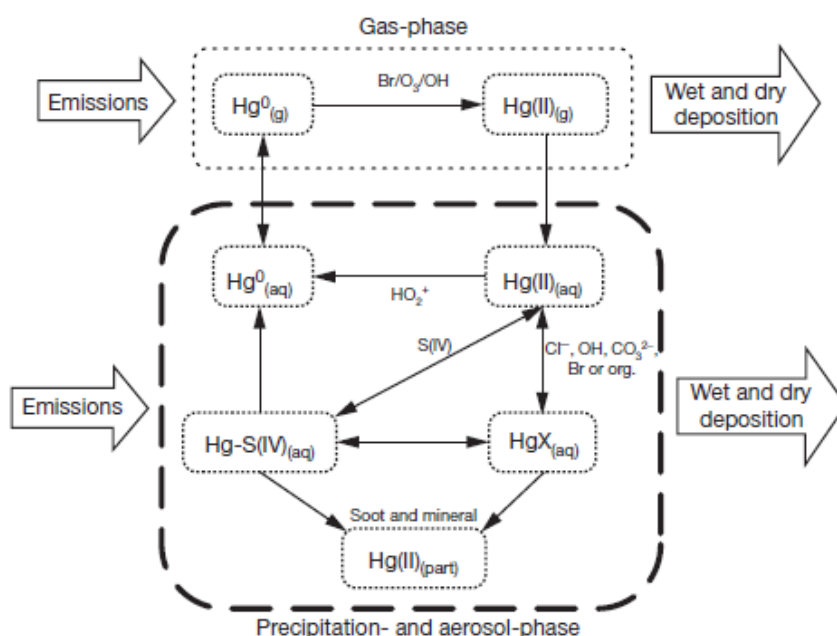


Figura 10 : Resumen de algunas transformaciones físicas y químicas importantes del Hg en la atmósfera, adaptado desde Shia et al., 1999 y Lin and Penhkonen, 1999.

En las precipitaciones atmosféricas las mayores concentraciones de Hg corresponden al Hg disuelto y particular (Lindberg et al., 2007). El conjunto de estas especies son transportadas por los vientos por centenares de kilómetros hasta ser depositadas sobre la superficie terrestre y los cuerpos de agua, mediante las precipitaciones atmosféricas secas y húmedas (Fitzgerald and Clarkson, 1991).

1.8.1.2 Oxidación y reducción del Hg en los suelos

Los suelos son considerados como uno de los reservorios más importantes de Hg (Mason et al., 1994). El Hg depositado sobre los suelos por las precipitaciones atmosféricas

secas y húmedas, se encuentra en forma de Hg^0 y Hg^{2+} , de las cuales la segunda forma mercurial es la predominante (Lindberg et al., 2007; Schmeltz et al., 2011). Mientras que el Hg de origen geogénico está presente en los suelos en forma de Hg^{+2} , Hg^{+1} y Hg^0 , los cuales son liberados desde depósitos minerales y/o rocas por oxidación o meteorización (solubilización) reciente; al que se agrega el Hg originado desde fuentes geotérmicas (Jonasson and Boyle, 1972; Tunell, 1978).

Los parámetros fisicoquímicos del suelo como el pH, la capacidad de intercambio catiónico, el tamaño de las partículas, el contenido de materia orgánica, las arcillas minerales, juegan un rol muy importante en la variación del estado de oxidación y tipo de interacción del Hg con los componentes del suelo (Roulet and Lucotte, 1995; Zhang et al., 2013; Windmüller et al., 2015), y por lo tanto con su movilidad y su biodisponibilidad.

En los suelos las diferentes formas mercuriales experimentan transformaciones químicas, físicas y microbiológicas, oxidaciones y/o reducciones, que dan lugar a compuestos estables, los cuales se re-distribuyen o adsorben de acuerdo a la afinidad de los componentes del suelo. El Hg^{2+} es fuertemente adsorbido a compuestos húmicos (Guifen et al., 2004; Zhang et al., 2013) y/o puede ser firmemente adsorbido por los minerales de los suelos (arcillas y oxihidroxidos) (Roulet and Lucotte, 1995), los que relativamente son menos biodisponibles para los procesos abióticos y bióticos (Schlüter, 2000). En solución acuosa de los suelos y en presencia de ligandos, el Hg iónico tiene una fuerte tendencia a formar complejos con Cl^- , OH^- , S^{2-} y con ligandos orgánicos cuyos grupos funcionales contienen sulfuros S^{2-} (Schuster, 1991).

Diferentes factores intervienen y favorecen la oxidación del Hg en los suelos, entre ellos la presencia de microorganismos y materia orgánica (Windmüller et al., 2015). Mientras que la presencia de bacterias Fe reductoras modifican la distribución del Hg en los suelos (Harris-Hellal et al., 2011).

La movilidad del Hg en los suelos, se incrementa si el Hg se encuentra en forma de HgCl_2 y $\text{Hg}(\text{OH})_2$ debido a la elevada solubilidad de estos compuestos; mientras que el Hg^{2+} hidrolizado puede adsorberse a coloides minerales. La alta afinidad de Hg^{2+} por S^{2-} explica la fuerte unión entre el Hg y la materia orgánica así como también la estabilidad de HgS (Schuster, 1991). La remoción de Hg^{2+} desde la solución donde se encuentra formando fuertes complejos orgánicos del suelo, hace que el Hg^0 vaya a ser re-oxidado y el Hg^{1+} , poco estable bajo condiciones ambientales, dismute en Hg^{2+} y Hg^0 (Schuster, 1991).

La emisión de Hg desde los suelos superficiales está controlada principalmente por la temperatura, la exposición a la radiación UV-B, UV-A y el contenido de agua; siendo mayores las emisiones de Hg en los suelos húmedos expuestos a radiación UV-B e incrementos de temperatura que en los suelos secos (Park et al., 2014).

1.8.1.3 Oxidación y reducción del Hg en las aguas

En las zonas superficiales de los cuerpos de aguas, los procesos físicos (evaporación) y fotoquímicos (fotoreducción) entran en competencia respecto al transporte particular, para determinar si el Hg va a ser re-emitado hacia la atmósfera o bien ser secuestrado en los sedimentos. Una vez que pasan hacia la columna de agua pueden experimentar múltiples transformaciones desde ser disueltos por la fase acuosa o viceversa, o redistribuirse en las diferentes fases particulares (material orgánico, oxihidróxidos).

1.8.1.3.1 Oxidación en las aguas

En los medios acuáticos la reacción de oxidación del Hg^0 , es posible bajo condiciones de oscuridad, los cuales son mejorados cuando son elevadas las concentraciones de cloruros (Cl^-), así como por la presencia de partículas, coloides (Amyot et al., 1997) y la presencia de carbono orgánico disuelto (DOC) (Vaughan and Blough, 1998). Las vías indirectas de la oxidación implica la producción de radicales $\cdot\text{OH}$, que parece ser el oxidante principal del Hg^0 en las aguas naturales (Gårdfeldt et al., 2001). Mientras que la actividad oxidante microbológica parece inducir a la producción fotoquímica de peróxido de hidrógeno (H_2O_2) (Siciliano et al., 2002). Los cloruros y bromuros incrementan potencialmente la oxidación del Hg^0 por la formación de oxidantes secundarios o de complejos estables con IHg . La fotooxidación directa o indirecta es otra de las posibilidades de oxidación del Hg^0 (Lalonde et al., 2001).

1.8.1.3.2 Reducción en las aguas

Existe la probabilidad de que la volatilización del Hg en las aguas se dé durante los procesos de: demetilación, reducción bacteriana en el agua o en el sedimento, reducción de Hg^{1+} y Hg^{2+} por los ácidos húmicos y fúlvicos, reducción fisiológica por el fitoplancton como medio de desintoxicación, y reducción fotoquímica de Hg^{2+} a Hg^0 . La concentración de Hg^0 , en los medios acuosos está determinada por los procesos bióticos (actividad bacteriana) y principalmente por los procesos abióticos de reducción del Hg lábil (fotoquímicos) (Amyot et al., 1994; Costa and Liss, 1999). Esto ha sido comprobado midiendo las tasas de Hg^0

producidos en ambos procesos. Las tasas de Hg^0 producidas durante los procesos de demetilación biológica fueron muy bajas (Mason and Fitzgerald, 1993; Amyot et al., 1994) con respecto a los producidos por reacciones de fotoreducción (Amyot et al., 1994; Costa and Liss, 1999).

Diferentes estudios experimentales demostraron que la luz y los contenidos de ácidos húmicos y fúlvicos promueven la reacción de fotoreducción del Hg (Costa and Liss, 1999). Esto ocurre debido a que los ácidos húmicos tienen la capacidad de reducir metales de transición en las aguas naturales (Alberts et al., 1974; Skogerboe and Wilson, 1981), debido a su capacidad de absorber la luz y transferir esta energía absorbida a un receptor de electrones adecuado (Nriagu, 1994b).

De la misma forma en medio ambientes naturales el Hg^{2+} puede ser reducido a Hg^0 por la radiación solar en presencia de materia orgánica disuelta (Amyot et al., 1997; O'Driscoll et al., 2004), reacciones que dependen de la concentración, las propiedades y características de la materia orgánica (Amyot et al., 1997; O'Driscoll et al., 2003; He et al., 2012).

El proceso de reducción del IHg es muy importante debido a que permite reducir la cantidad de IHg en las aguas marinas (Mason and Fitzgerald, 1993) o lacustres y por lo tanto limita la metilación del Hg (Fitzgerald et al., 1991; Amyot et al., 2000), o la acomplejación del IHg con otros ligandos.

1.8.1.3.3 Reducción biótica en las aguas

En las capas eufóticas la producción de Hg^0 en diferentes tipos de aguas (lacustres, costeras contaminadas y no contaminadas y salobres) bajo condiciones de oscuridad, está relacionada con la actividad biológica (Fantozzi et al., 2009). Los microorganismos resistentes al Hg (expresada en la enzima reductasa de Hg), tienen un alto potencial para afectar la producción de Hg elemental gaseoso cuando y donde la luz del día es limitada (Barkay et al., 2011).

Los procesos de reducción bióticos del Hg también están vinculados con las bacterias aerobias Gram-negativas y Gram-positivas operon *mer* (bacterias resistentes al Hg), en diversos ambientes naturales del mundo (Osborn et al., 1997). En estas bacterias las determinantes RTPCDAB de los genes se encuentran a menudo en los plásmidos (pequeñas moléculas de ADN presentes en las bacterias), en los transposones (fragmentos de ADN que puede pasar de un cromosoma a otro) o en los cromosomas de las bacterias (Reaney, 1981;

Jobling et al., 1988). Las bacterias operon *mer* extraídas desde los sedimentos también han mostrado su capacidad para reducir al Hg en medios aerobios (Yu et al., 2014).

El mecanismo de reducción del Hg por las bacterias se encuentra ilustrado en la figura 11 (Osborn et al., 1997), cuya descripción corresponde a (Brown, 1985).

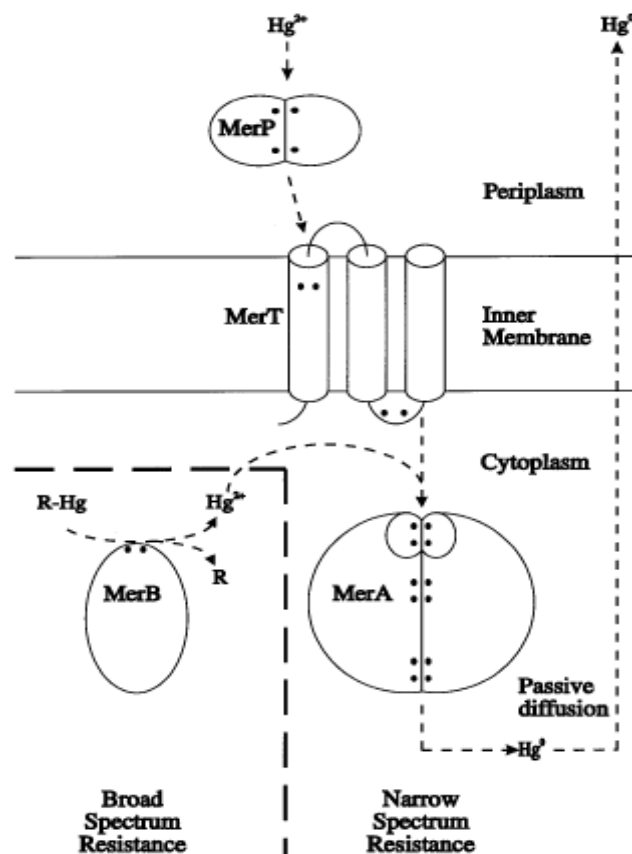


Figura 11 : *Mecanismos de reducción del Hg por las bacteria (Osborn et al., 1997, modificado a partir de Brown, 1985).*

Por otra parte los organismos fotótrofos como las algas son también capaces de reducir al Hg, actividad que está enteramente ligada a la actividad fotosintética (Poulain et al., 2004). Sin embargo la respuesta de las diatomeas (algas unicelulares) para reducir al Hg son evidentes en la luz y en la oscuridad (Morelli et al., 2009). En las aguas superficiales la luz y la temperatura favorecen las emisiones de Hg^0 , estimulando la actividad biológica de los organismos que participan en la reducción del Hg (Barkay et al., 2003; Peretyazhko et al., 2006; Yee et al., 2010).

1.8.1.3.4 Reducción abiótica en las aguas

En los procesos abióticos, en las capas superiores de los cuerpos de aguas la reducción del Hg se dá directamente mediante reacciones fotoquímicas (Lanzillotta et al., 2002; O'Driscoll et al., 2006; Fantozzi et al., 2007). Las concentraciones de Hg⁰ en forma disuelta se incrementan durante el día (Amyot et al., 1997; Dill et al., 2006; Alanoca et al., 2016), en función de la intensidad de la luz solar, observándose una correlación lineal entre la intensidad de la luz y la producción de Hg gaseoso en los lagos de agua dulce (Amyot et al., 1997). También se ha observado una influencia de la radiación UV en las reacciones de reducción (Lalonde et al., 2001; Lalonde et al., 2004; Dill et al., 2006; Black et al., 2012).

La concentración de carbono orgánico disuelto (DOC) es uno de los factores limitantes para la producción de Hg gaseoso, en aguas con bajos contenidos de ácido húmico y bajo la incidencia de la radiación UVB, la producción de Hg gaseoso es elevada; así como también bajo la incidencia de la radiación UVA en aguas con alto contenido de ácido húmico (Garcia et al., 2005). Lo que permite deducir que el Hg gaseoso suele ser producido indirectamente por reacciones secundarias con carbono orgánico disuelto (DOC) o hierro (Fe) (Zhang and Lindberg, 2001; Lalonde et al., 2004; Lanzillotta et al., 2004; Garcia et al., 2005; O'Driscoll et al., 2006). En estas reacciones el fitoplancton y las bacterias también participan (Mason et al., 1995a; Baeyens and Leermakers, 1998; Siciliano et al., 2002) (Baeyens and Leermakers, 1998; Mason et al., 1995; Siciliano et al., 2002) aunque su importancia sea menor (Poulain et al., 2004; Rolfhus and Fitzgerald, 2004).

Los procesos de reducción del IHg, con una gran producción de Hg⁰, es considerado como la fuente principal de Hg elemental en las aguas marinas (Mason and Fitzgerald, 1993) y lacustres (Fitzgerald et al., 1991; Amyot et al., 2000). Estos procesos reducen la biodisponibilidad del IHg para su metilación en los ecosistemas acuáticos.

1.8.1.4 Oxidación y reducción en los sedimentos

Diversos componentes constituyen la compleja matrix de los sedimentos, entre ellos los compuestos orgánicos e inorgánicos detríticos, como producto de las reacciones derivadas de la diagénesis y óxidos de Fe y Mn (Davis and Kent, 1990).

En los sedimentos la abundancia de la forma reducida u oxidada del Hg, está controlada por las transformaciones redox mediadas por procesos bióticos y abióticos así

como por las reacciones con sustancias húmicas o ferrosas (Allard and Arsenie, 1991; Charlet et al., 2002; Barkay et al., 2003; Wiatrowski et al., 2006; Gu et al., 2011; Zheng et al., 2012).

En los sedimentos y aguas, la forma oxidada del mercurio (Hg^{2+}) puede ser reducida a Hg^0 en condiciones anaerobias a bajas concentraciones de materia orgánica disuelta (DOM) (e.g. ácido húmico), a medida que aumenta la concentración de materia orgánica la producción de Hg^0 es inhibida por la formación de complejos de Hg (Gu et al., 2011).

Diferentes estudios han demostrado que las bacterias operon *mer* catalizan la reducción del Hg^{2+} , principalmente bajo condiciones óxicas (Barkay et al., 2010); sin embargo también es posible, aunque en baja medida, en ambientes anóxicos (Schaefer et al., 2002). Otros estudios han mostrado que las bacterias anaerobias también pueden reducir al Hg vía patrones no específicos (Wiatrowski et al., 2006).

1.9 Metilación y demetilación

1.9.1 Metilación en la atmósfera

Se sabe que una proporción menor al 5% del total de Hg atmosférico se encuentra en forma metilada, la concentración de MMHg en las deposiciones húmedas son $< 0,05$ pM y pueden alcanzar hasta 1 pM (Hammerschmidt et al., 2007). Otros autores indican que la concentración de MMHg varía de 3 a 10% (Poissant et al., 2008; Maruszczak et al., 2011c; Huang et al., 2013). El MMHg en la atmósfera puede ser originada por la oxidación del dimetilmercurio (DMHg) (Brosset and Lord, 1995), por la metilación de Hg^{2+} o la descomposición de DMHg en dos moléculas de MMHg^+ (Hammerschmidt et al., 2007). Esta reacción tiene lugar en la fase acuosa atmosférica donde probablemente el Hg forme complejos con los acetatos (acetato-Hg) (Gårdfeldt et al., 2003) inducida por la acción de la radiación UV en presencia de ácido acético. Sin embargo las metilaciones de Hg más importantes ocurren en los ecosistemas acuáticos.

1.9.2 Metilación en los ecosistemas acuáticos

La metilación del Hg en la fase acuosa es llevada a cabo por procesos naturales abióticos y bióticos, predominando el último proceso. Los sedimentos, la columna de agua y el perifiton son compartimientos en los que se presentan una actividad importante de metilación (Achá et al., 2005; Monperrus et al., 2007a; Monperrus et al., 2007b; Hamelin et al., 2011). El interior de las zonas de transición red-ox de las aguas y sedimentos, han sido identificados como sitios privilegiados para la producción de MMHg donde los procesos de

metilación están acentuados (Langer et al., 2001). Varios estudios efectuados en perfiles de sedimentos muestran regularmente un pico de MMHg en los primeros centímetros identificada como la zona de transición red-ox (Bloom et al., 1999; Muresan et al., 2007).

En los sistemas acuáticos la concentración de MMHg está regulada por los procesos de metilación y demetilación, que se producen simultáneamente en la columna de agua, en los sedimentos (Gilmour et al., 1992), en el perifiton de las plantas acuáticas (Hamelin et al., 2011) y en otras matrices no comúnmente estudiadas pero muy importantes como los agregados bioorgánicos flotantes (Alanoca et al., 2016). Un resumen de las principales reacciones de metilación y de demetilación puede ser observada en la figura 12.

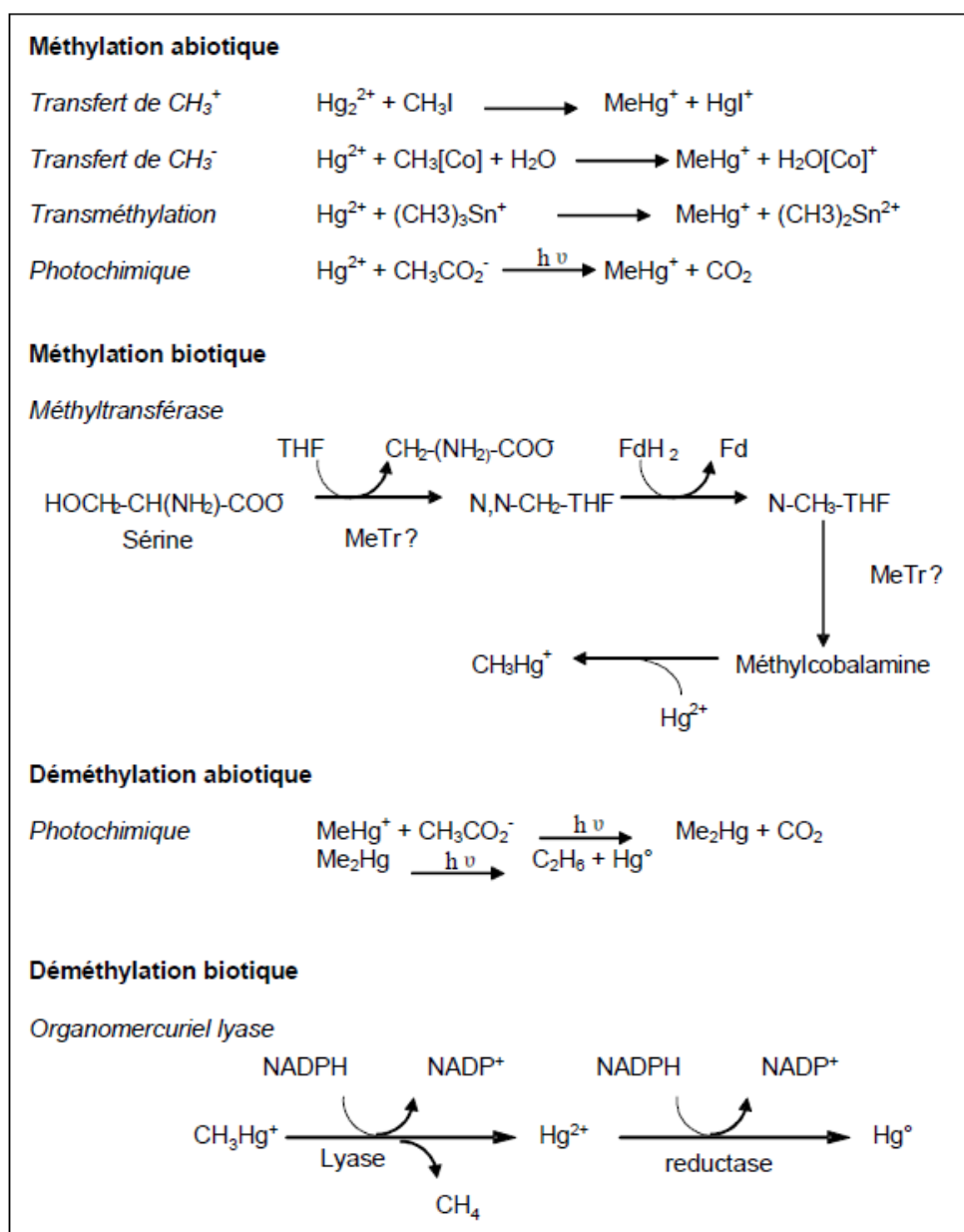


Figura 12 : Mecanismos principales de la metilación del Hg y demetilación del MMHg (Monperrus, 2014).

1.10 Aspectos generales de la formación de MMHg y DMHg

Los procesos de metilación del Hg son afectados por numerosos factores medioambientales como el pH, temperatura, condiciones red-ox, salinidad, concentración de materia orgánica y de la especie de Hg inorgánico disponible (Ullrich et al., 2001).

El monometilmercurio (MMHg) y el dimetilmercurio (DMHg) son dos formas organomercuriales muy tóxicas, producto de las diversas reacciones naturales abióticas y bióticas entre el I^{Hg} y los grupo metilo (CH_3). Los procesos bióticos involucran la participación de las bacterias sulfato-reductoras, microorganismos considerados como las principales metiladoras de Hg (Compeau and Bartha, 1985; Hamelin et al., 2011). Mientras que el mecanismo de la formación del DMHg es incierto; según algunas investigaciones el DMHg podría ser formado por la metilación del MMHg, sin embargo esto no es una evidencia concluyente (Hintelmann, 2010). Se conoce un solo proceso de naturaleza química y se da en presencia de altas concentraciones de sulfuro. El MMHg puede reaccionar con el sulfuro y formar un complejo sulfuro-metilmercúrico, que dismuta en cinabrio y DMHg (Sanchez Uria and Sanz-Medel, 1998).

La afinidad que tiene el MMHg por los grupos sulfhidrilos de la cisteína contenida en las proteínas (Pedrero Zayas et al., 2014), le ha permitido biomagnificarse a lo largo de la cadena trófica de los ecosistemas acuáticos, donde se encuentra dirigido y controlado por ligandos con los cuales se encuentra acomplejado. El MMHg es fácilmente fotodegradable pero relativamente estable, salvo frente a reactivos fuertemente oxidantes; mientras que el DMHg no permanece en forma disuelta por mucho tiempo en los cuerpos de agua por su alta presión de vapor ($8,3 \cdot 10^3 \text{ Pa}$) (Hintelmann, 2010).

En los ambientes marinos los procesos de demetilación del DMHg y MMHg están mediados biológicamente. Las constantes de las velocidades de descomposición del DMHg y el MMHg (0,98 y 0,35) respectivamente, indican que la degradación del DMHg es más rápida que la de MMHg, por lo que el DMHg puede ser una fuente de MMHg. La concentración neta de MMHg, no solo está controlada por la metilación del Hg^{2+} sino que también por el proceso de descomposición del DMHg (Baya, 2015).

La concentración del HgT medido en los ecosistemas acuáticos no es un buen indicador de los niveles de MMHg. La presencia y abundancia de los iones que compiten con

los agentes de metilación y la biodisponibilidad del metal, influyen significativamente en la especiación del Hg (Chen et al., 2008). Por otra parte los procesos de reducción del Hg limitan la cantidad de IHg en los compartimientos acuáticos así como su metilación (Fitzgerald et al., 1991).

El MMHg en el ecosistema acuático se encuentra acomplejado a ligandos mediante enlaces covalentes coordinados; por lo que puede formar un amplio rango de complejos. A nivel de estructura molecular las formaciones de estos complejos se dan mediante reacciones ácido-base de Lewis, en el que el CH_3Hg^+ (un ácido) acepta un par de electrones proporcionado por un ligando (una base). Las reacciones se dan en una proporción de 1:1, es decir el CH_3Hg^+ solo puede acomplejarse con un solo ligando a la vez (Hintelmann, 2010). Por su gran afinidad por los ligandos que contienen sulfuros, en los cuerpos de agua el MMHg se encuentra ligado a sulfuros de la materia orgánica disuelta (DOM), o a las cisteínas de las proteínas en la biota. Otros ligandos importantes son los halógenos, hidróxidos, aminas y grupos funcionales que contienen oxígeno.

1.10.1 Metilación abiótica

Sea en los sedimentos o la columna de agua varios mecanismos de metilación abiótica son inducidas por reacciones químicas y fotoquímicas (Weber, 1993). Para que la metilación de Hg tenga lugar, el medio natural debe contener moléculas donadoras de grupos metilo.

Experimentos de laboratorio han identificado tres reacciones químicas de metilación del Hg: la metilación por metilcobalamina (MeCo), la transmetilación que involucra otros metales metilados y la metilación oxidativa. La reacción por MeCo fue observada en las aguas dulces (Celo et al., 2006), mientras que la transmetilación por compuestos organoestánicos tiene lugar en medios marinos. Como veremos más adelante la transferencia del carbanión metilado (CH_3^-) parece ser el proceso principal para la metilación del Hg ya que el Hg^{2+} tiene una característica muy electrofílica.

En la primera reacción la MeCo (un derivado de la vitamina B12), liberada por una bacteria, transfiere un carbanión metilado (CH_3^-) al Hg^{2+} por medio de una reacción de ataque nucleofílico o electrofílico en ausencia de enzimas (Bertilsson and Neujahr, 1971; Imura et al., 1971; Celo et al., 2006; Chen et al., 2007). Esta reacción también puede producir DMHg (Wood et al., 1968; Filippelli and Baldi, 1993; Rosenkranz et al., 1997). Otros investigadores demostraron que este mecanismo puede llevarse a cabo en presencia de bacterias sulfato-

reductora *Desulfovibrio desulfuricans*, donde el grupo metil es transferido desde el CH_3^- tetrahidrofolato vía la metilcobalamina hasta el IHg (Choi et al., 1994).

En laboratorio, la MeCo es utilizada para sintetizar MMHg (Hintelmann and Evans, 1997; Rodriguez Martin-Doimeadios et al., 2002). Varios estudios demostraron que la producción de MMHg a partir de MeCo depende fuertemente del pH y de la forma química del sustrato Hg^{2+} (DeSimone et al., 1973; Filippelli and Baldi, 1993; Celo et al., 2006; Chen et al., 2007). Según el pH, la reactividad de la metilcobalamina cambia debido a los cambios en la coordinación del cobalto central, influyendo en la ruptura del enlace Co-C, lo que modifica la capacidad de donar el grupo metilo (Fanchiang et al., 1984; Musante, 2008) (ecuación 1, figura 13).

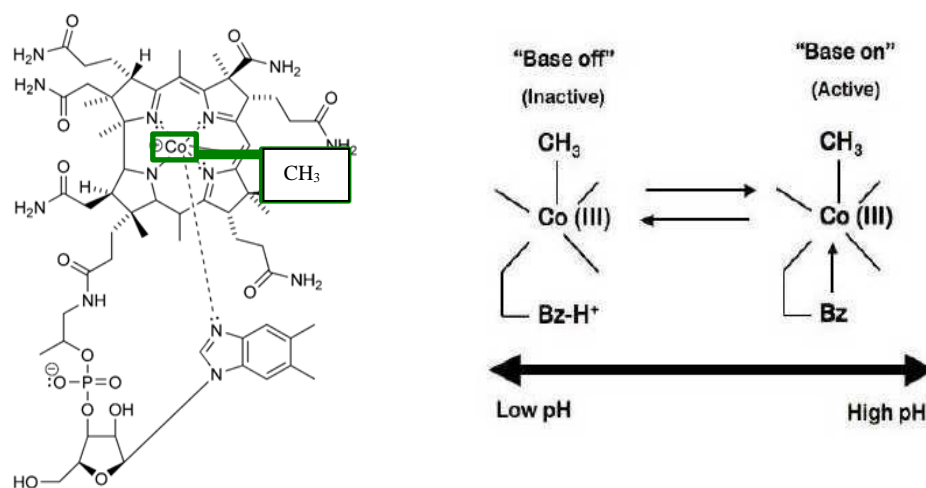
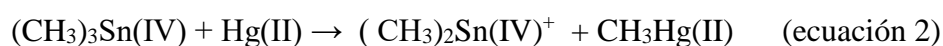


Figura 13 : *Reacción de metilación del Hg^{2+} por la metilcobalamina (MeCo , CH_3B_{12}), estructura molecular y cambios de conformación de la MeCo en función del pH.*

En la reacción de transmetilación un grupo CH_3^- presente en los compuestos metilados de estaño, arsénico, plomo es transferido al Hg^{2+} (Cerrati et al., 1992). Esta reacción ocurre por la diferencias de afinidades de los metales hacia los grupos CH_3^- ; en el caso del Sn y el Hg, el Hg tiene mayor afinidad por los grupos CH_3^- que el Sn, dando lugar a la metilación del Hg (Cerrati et al., 1992; Weber, 1993; Celo et al., 2006).



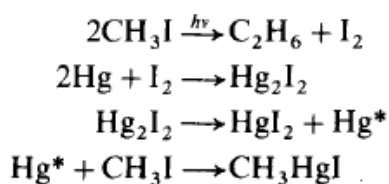
Este tipo de reacción puede ocurrir en sitios contaminados por las actividades industriales y por lixiviación de las pinturas anti-salinas utilizado para pintar los barcos en las zonas costeras, por lo que cobra su importancia en los océanos (Celo et al., 2006). El proceso

de la transmetilación ha sido utilizado para sintetizar compuestos de MMHg (Hintelmann, 1999; Mizanur Rahman et al., 2003). Según otros estudios han demostrado que los cloruros de monometilestaño y dimetilestaño son potentes metiladores del Hg^{2+} (Hintelmann, 2010).

La reacción de metilación oxidativa (ecuación 3), implica la participación del Hg^0 y del metil-ioduro (CH_3I) muy abundante en las aguas de mar (Celo et al., 2006).



Maynard, 1932 propuso un mecanismo de reacción para la metilación oxidativa del Hg. En un primer paso depende de la reacción del Hg^0 con iodo (I_2) liberado fotoquímicamente del CH_3I . En el segundo paso el ioduro mercurioso formado en esta reacción se descompone fotoquímicamente, produciendo una forma finamente dividida de Hg^0 que es metilado por CH_3I (Maynard, 1932). La secuencia de la reacción es mostrada a continuación:



Considerando que las concentraciones de Hg^0 en forma disuelta son muy bajas que el IHg , las tasas de producción de MMHg mediante esta reacción están en el orden de $0,2 \text{ pg L}^{-1} \text{ año}^{-1}$ (Celo et al., 2006). Esto es poco probable que ocurra en un entorno de sedimento natural (Craig and Moreton, 1985).

La materia húmica, presente en los sedimentos, aguas de ríos, océanos, pantanos, y humedales es potencialmente la donadora más prometedora de grupos metilo para la metilación del Hg^{2+} (Weber, 1993). La materia húmica en los sedimentos constituye el 25% de la materia orgánica total; mientras que en aguas de mar, de río y humedales representa el 20, 60 y 70% del total de la materia orgánica disuelta (Weber et al., 1998). La metilación del Hg por sustancias húmicas es uno de los procesos abióticos más importantes en los sistemas acuáticos de agua dulce y aguas intersticiales (Nagase et al., 1984; Weber, 1993). La materia húmica terrestre solubiliza y metila al Hg^{2+} ; y contribuye con el incremento de la metilación de Hg^{2+} en los sedimentos. Las altas concentraciones de ácido húmico (6,000 mg/L) metilan ~3800 MMHg (Nagase et al., 1982). Craig y Moreton, (1985) observaron que el rendimiento

de la metilación de Hg^{2+} por la materia húmica en soluciones estériles y no-esteriles son similares (Craig and Moreton, 1985).

El ácido fúlvico también metila al Hg, mediante un mecanismo que depende de la especiación del Hg^{2+} en solución y del pH. La metilación del nitrato mercuríco ($\text{Hg}(\text{NO}_3)_2$) a pH 4 es mayor que a pH 6. Sin embargo la metilación del cloruro mercuríco (HgCl_2) a pH 4 o 6 son similares pero menores a la metilación del $\text{Hg}(\text{NO}_3)_2$. Este mecanismo es probable mediante un ataque electrofílico del Hg^{2+} acuoso sobre el ácido fúlvico (Reisinger et al., 1985). El proceso de metilación anterior, también fue evidenciado por Lee et al., (1985), observando que la producción de MMHg aumenta con el incremento de la concentración de Hg^{2+} y de ácido fúlvico; proceso que fue mejorado con la presencia de Fe^{3+} (Lee et al., 1985). Estos resultados demuestran que la materia orgánica puede afectar extensamente a la metilación del Hg^{2+} en los medios acuáticos (Weber, 1993).

1.10.2 Metilación biótica

La metilación biótica del IHg en los sedimentos marinos, ha sido atribuida principalmente a las actividades de las bacterias sulfatoredutoras (BSR) (Compeau and Bartha, 1984; Compeau and Bartha, 1985; Barkay and Wagner-Döbler, 2005), actividad que es limitada por la concentración de oxígeno y de sulfatos (Compeau and Bartha, 1985; Gilmour et al., 1992). Las incubaciones con cepas aisladas han confirmado y cuantificado la capacidad de metilación de estas bacterias (Pak and Bartha, 1998; King et al., 2000; Ekstrom et al., 2003; Ekstrom and Morel, 2008). Las tasas de metilación varían en relación con la filogenia, la fisiología y el modo de metabolización de las cepas (King et al., 2000), estableciéndose una relación cuantitativa entre las tasas de metilación de sulfato reducción y la actividad específica de cada grupo (King et al., 2001).

Por otro lado estudios posteriores han demostrado que las SRB (un grupo heterogéneo de bacterias) están presentes en un amplio rango de habitats (Stahl, 1999) distribuidas a nivel global (Perez-Jimenez and Kerkhof, 2005). La actividad de las SRBs fue observada en la zona anóxica de la columna de agua (Monperrus et al., 2007a), en los primeros centímetros de la superficie de los sedimentos (Fleming et al., 2006; Hollweg et al., 2009; Schäfer et al., 2010; Bouchet et al., 2013). Otros ejemplos de los medioambientes donde la metilación del mercurio es posible por las SRBs, es el perifiton de las raíces de las macrofitas flotantes (Guimarães et al., 2000; Achá et al., 2005; Correia et al., 2012; Gentès et al., 2013), la columna de agua de los lagos boreales (Eckley et al., 2005) y en el biofilm de las rocas

(Desrosiers et al., 2006). Un medio donde también se ha evidenciado altas tasas de metilación por las SRBs, son los agregados biorgánicos que se encuentran flotando sobre la superficie de la columna de agua dulce del lago Uru-Uru, Bolivia (Alanoca et al., 2016).

Algunos estudios sugieren que no todas SRBs son responsables de la metilación del Hg (Loseto et al., 2004). Por ejemplo en el presente estudio se puede evidenciar que si bien las bacterias sulfatoreductoras están presentes en el biofilm de las totoras (plantas acuáticas de agua dulce), no se ha evidenciado tasas de metilación de Hg, al contrario las tasas de demetilación de MMHg fueron elevadas (Alanoca et al., 2016). Se han identificado que las SRBs predominantemente anaerobias son miembros de las familias de *Desulfovibrionaceae*, *Desulfobacteriaceae* y *Desulfobulbaceae*, sin embargo existen otras SRBs tolerantes al oxígeno la cuales fueron capaces de metilar Hg en el perifiton asociado a las raíces de las macrófitas (Achá et al., 2005). Las bacterias aisladas de esta matriz, capaces de metilar Hg²⁺, corresponden a tres diferentes clases de filogenia: Alphaproteobacteria, Gammaproteobacteria y Proteobacteria (Achá et al., 2012).

Varios estudios han demostrado que no solamente las SRBs tienen la posibilidad de metilar, las poblaciones de las bacterias ferro-reductoras (genéticamente próximas a las SRBs) (Warner et al., 2003; Fleming et al., 2006; Kerin et al., 2006) y a las metanogénicas también cumplen este rol, como en el caso del biofilms de las plantas acuáticas (Wood et al., 1968; Hamelin et al., 2011).

Hasta el año 2012, si bien se han podido identificar los tipos de familia al que pertenecen las bacterias metiladoras de Hg, aún eran desconocidos los genes y las proteínas involucradas en este proceso. Según el estudio realizado por Parks et al., (2013) para metilar Hg por ND132 *Desulfovibrio desulfuricans* y *Geobacter sulfurreducens* PCA son necesarios dos genes identificados como *hgcA* y *hgcB*. En cualquier bacteria la ausencia de ambos genes suprime la metilación del Hg (Parks et al., 2013).

El primer gen está presente en una supuesta proteína cíclica, HgcA, y el segundo en la ferredoxina 2[4Fe-4S] denominada como HgcB (Parks et al., 2013). El mecanismo que plantea es que la proteína HgcA se encarga de portar al grupo metilo y la proteína HgcB dona el electrón requerido para la reducción de la proteína cíclica HgcA (Parks et al., 2013) (Figura 14). Poulain and Barkay (2013) en base al estudio anterior plantean que el grupo metil es transferido de la proteína metilada HgcA al IHg²⁺, mientras que la proteína HgcB es requerida para que se de este proceso (Poulain and Barkay, 2013) .

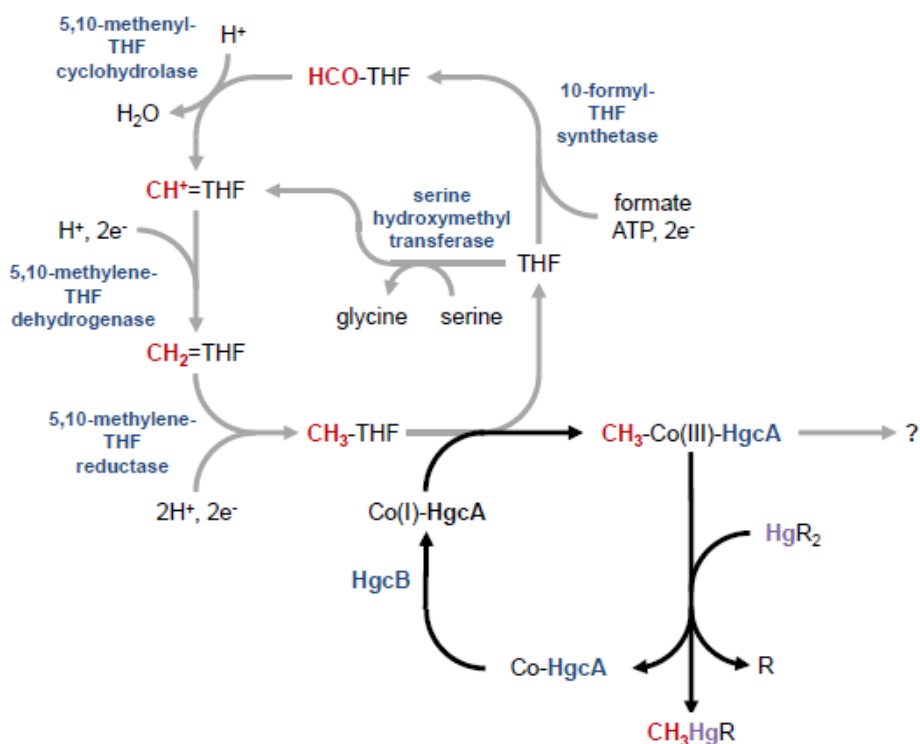


Figura 14 : Mecanismo de metilación del Hg en las bacterias sulfatoreductoras, Park et al., (2013).

La metilación del IHg por las SRBs está limitada por la concentración de sulfuros (Benoit et al., 1999; Mitchell et al., 2008), posiblemente debido a que el sulfuro de hidrógeno, producido durante la respiración, interfiera con la biodisponibilidad de sustratos de Hg^{2+} (Benoit, 2000; Heyes et al., 2006).

Diferentes factores influyen en la metilación del Hg por las SRBs, tales como la concentración de Hg, la temperatura, los sustratos orgánicos provistos para la metilación bacteriana, la especiación de azufre y el pH (Winch et al., 2008).

En condiciones de pH ácido, la formación de MMHg podría incrementarse debido a que en estos medios la actividad de la predominante población de las SRBs es mayor frente a otros microorganismos (Winch et al., 2009) y este medio mejora la biodisponibilidad del Hg para su metilación (Hintelmann, 2010).

Diferentes estudios realizados in vitro y en ecosistemas naturales, confirman que los sulfatos son un parámetro crítico para la metilación del Hg; considerando que las SRBs son responsables de la metilación, niveles óptimos de sulfatos son necesarios para la actividad bacteriana (King et al., 2000; Marvin-DiPasquale and Agee, 2003; Jeremiason et al., 2006). Sin embargo los altos niveles de sulfuros favorecen la formación de HgS y complejos de

azufre los cuales no son asimilables por SRBs (Compeau and Bartha, 1985; Gilmour et al., 1992; Heyes et al., 2006) y la menor biodisponibilidad del Hg para su metilación por la formación de HgS (Sunderland et al., 2006).

Las concentraciones de Hg disuelto son a menudo elevadas en ambientes anóxicos, en aguas relativamente sulfúricas y aeróbicas donde no están presentes los sulfuros. El Hg se encuentra formando iones acomplejados, y complejos neutrales multinucleares tales como el HS_2^{2-} , $\text{Hg}(\text{SH})_2$, $\text{Hg}(\text{SH})^-$, $\text{Hg}(\text{SH})(\text{OH})$ y quizá $\text{HgS}(0)$ (Hintelmann, 2010).

Se ha pensado que a una concentración moderada de complejos no cargados de $\text{HgS}(0)$ y $\text{Hg}(\text{SH})_2$, los demás complejos pueden ser capaces de penetrar la membrana celular llevando consigo al Hg dentro de la bacteria, para su subsecuente metilación (Jay et al., 2002; Mehrotra and Sedlak, 2005).

La materia orgánica disuelta es otro de los factores que controla la formación de MMHg. La materia orgánica disuelta (DOM), sirve como un sustrato orgánico para los microorganismos, mejora la actividad biológica y controla la biodisponibilidad del Hg (Hammerschmidt and Fitzgerald, 2004). El Hg^{2+} correlacionada con la DOM, mejora su movilidad y su distribución en los sitios de metilación. La materia orgánica disuelta forma complejos con el MMHg, lo que permite incrementar las tasas de bioacumulación (Regnell and Hammar, 2004). Al mismo tiempo el Hg^{2+} y el MMHg ligado a largas moléculas de DOM disminuye la biodisponibilidad del Hg^{2+} para la bio-absorción del MMHg (Barkay and Gillman, 1997; Miller et al., 2007).

El efecto de la temperatura en la producción de MMHg en los sedimentos fue observado durante las épocas de invierno y verano. En verano las tasas de producción de MMHg son mayores que en invierno debido a que el incremento en la temperatura mejora la actividad bacteriana (Canario et al., 2007). Otro de los medioambientes donde usualmente se muestran altas tasas de metilación son los medios tropicales. En suma los factores bioquímicos, fisicoquímicos son determinantes para la formación del MMHg.

Con la identificación de los genes de metilación del Hg (HgcAB) en las poblaciones microbianas y su amplia distribución en la naturaleza (que incluyen ambientes óxicos y anóxicos), existe la posibilidad de que la metilación del Hg sea posible por otras vías aún desconocidas, por lo tanto es difícil concluir que el origen del MMHg sea biótico o abiótico (Podar et al., 2015).

1.10.3 Demetilación abiótica

La fotodegradación es el mecanismo más importante para la descomposición de MMHg en las aguas superficiales (Sellers et al., 1996; Black et al., 2012) y en la superficie de los océanos (Hammerschmidt and Fitzgerald, 2006b). El MMHg es degradado por la radiación UV (100-400 nm) y por la luz visible (400-800 nm) (Gårdfeldt et al., 2001; Chen et al., 2003). La eficiencia de la fotodegradación del MMHg está en función de la intensidad de la longitud de onda que permite la ruptura del enlace entre el Hg-C y de la concentración del tipo de materia orgánica disuelta (DOM) (Black et al., 2012).

La cantidad y la calidad de la materia orgánica presente en forma disuelta y en suspensión pueden atenuar la reacción de demetilación, limitando la penetración de la radiación solar en la superficie del agua o en la columna de agua (Hammerschmidt and Fitzgerald, 2006b; Black et al., 2012). En las aguas claras de los lagos, las longitudes de onda corta y larga son igualmente importantes para la demetilación del MMHg, ya que son muy poco atenuados (Hintelmann, 2010). Mientras que en las aguas oscuras predominantemente la radiación UV descompone al MMHg. En un 50% la radiación UVA y UVB son responsables de la demetilación del MMHg en las aguas claras y en un 75% en las aguas oscuras (Lehnerr and St. Louis, 2009). Por otro lado la fotodescomposición del MMHg también decrece con el incremento de la salinidad de las aguas (Black et al., 2012).

En los océanos, la elevada concentración de cloruros facilita la formación de CH_3HgCl , una especie estable difícilmente fotodegradable (Mason et al., 2001; Whalin et al., 2007), sin embargo puede ser demetilada indirectamente por la acción de los radicales oxidrilo (OH^*) (Chen et al., 2003).

1.10.4 Demetilación biótica

Por otro lado se distinguen dos mecanismos de demetilación biótica en la que desempeñan un rol importante las bacterias sulfatogénicas y metanogénicas resistentes al Hg que alberga en su genoma el operón *mer* (Mason and Benoit, 2003; Whalin et al., 2007). Estas reacciones se dan en medios aerobios y anaerobios.

Diferentes experimentos de incubaciones de bacterias sulfatogénicas y metanogénicas en sedimentos acuáticos, mostraron que estas bacterias son las principales demetiladoras de MMHg (Oremland et al., 1991; Pak and Bartha, 1998). Dos tipos de reacciones de demetilación pueden ser observadas: 1) la oxidativa, con la producción de dióxido de carbono

(CO₂) y Hg²⁺; y 2) la reacción reductiva donde se produce CH₄ y Hg⁰. Esta última reacción es considerada como un mecanismo de detoxificación de MMHg y predomina en los sedimentos contaminados (Gårdfeldt et al., 2001). Este mecanismo es inducido por las enzimas relacionadas con las operon *mer*. El MMHg presente en los ecosistemas acuáticos estrictamente anóxicos, el grupo metil es liberado como metano y subsecuentemente oxidado a CO₂ por las bacterias metanotróficas.

El mecanismo de demetilación reductiva implica la participación de enzimas operon *mer*, en el que se rompe el enlace entre el Hg-C (merB) con la participación de organomercurial-lyasa seguida de una reducción del Hg²⁺ a Hg⁰ por la enzima reductasa-mercúrica, subsecuentemente se produce CH₄ por la (mer-A) (Robinson and Tuovinen, 1984). Mientras que en el mecanismo oxidativo, que parece predominar en ambientes acuáticos donde la concentración de MMHg no es elevada, está asociado a las bacterias metanogénicas y sulfatoreductoras (Marvin-Dipasquale and Agee, 2000; Chen et al., 2003).

1.11 Distribución y especiación de Hg en los diferentes ecosistemas terrestres

1.11.1 Ecosistemas acuáticos

Las diferentes formas químicas de Hg están presentes naturalmente en todos los compartimientos de los ecosistemas acuáticos (Figura 15). Las mayores cuatro especies de Hg presentes en este ecosistema son el IHg, el MMHg, el DMHg y el Hg⁰ (Stein et al., 1996). Con el término de IHg nos referimos a un conjunto de compuestos que engloba las sales inorgánicas cloradas, hidróxidos, complejos fúlvicos y húmicos de Hg (Meili, 1997).

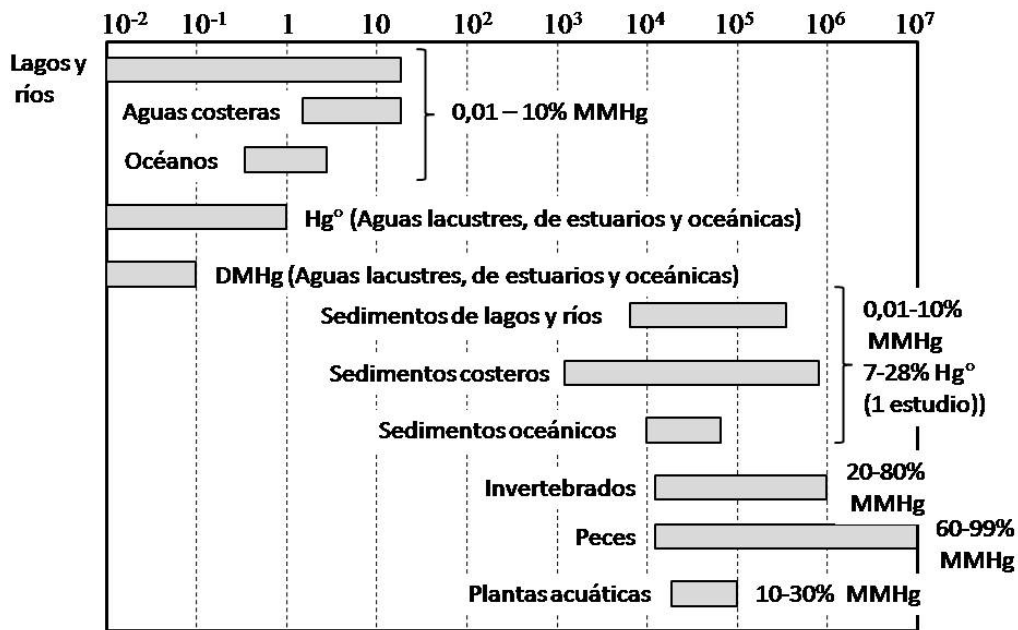


Figura 15 : Gama de concentraciones de Hg_T salvo mención contraria ($ng L^{-1}$ o $ng Kg^{-1}$ de peso fresco) en el medio ambiente y proporciones de Hg orgánico (Tessier, 2004; Fitzgerald and Lamborg, 2003, Bouffard and Amyot, 2009).

Los océanos y los sedimentos marinos representan el reservorio de Hg más grande de la Tierra. En este ecosistema el Hg se encuentra presente en forma de Hg^0 , Hg^{2+} (formando complejos inorgánicos y orgánicos), en forma de MMHg y DMHg (Fitzgerald et al., 2007b), las cuales se encuentran vinculadas unas a otras dentro de un complejo ciclo (figura 16).

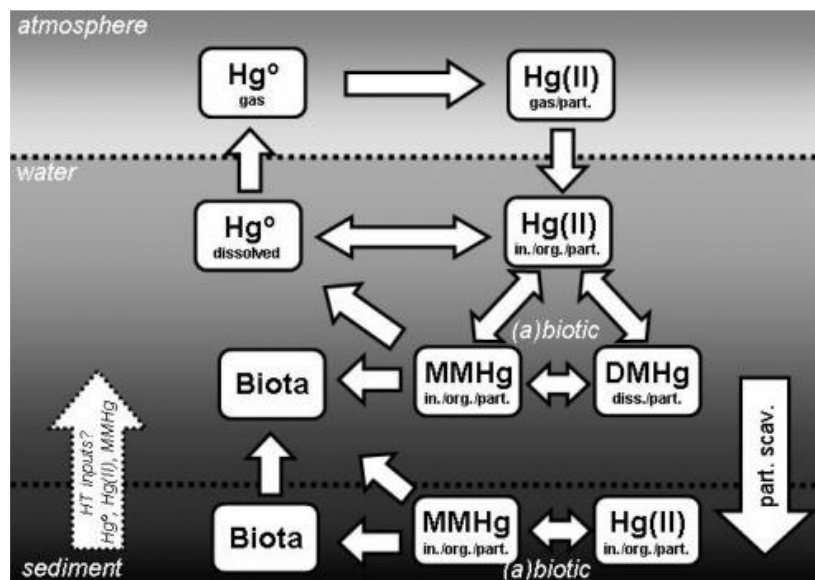


Figura 16 : Ciclo biogeoquímico del Hg en el océano (Fitzgerald et al., 2007b)

Los aportes de Hg en los océanos se hacen principalmente por los depósitos atmosféricos secos o húmedos, por el curso de las aguas y los sedimentos. La especie mayoritaria en los medios marinos es el $HgCl_4^{2-}$ (Morel et al., 1998). El Hg^{2+} de la superficie

de las aguas, experimenta reacciones de fotoreducción, volatilizándose rápidamente (Amyot et al., 1997). Mientras que en las zonas más profundas del océano se asocia a las partículas que sedimentan. Una parte del Hg^{2+} puede transformarse en MMHg o DMHg y entrar en la cadena alimentaria mediante procesos bióticos (Pongratz and Heumann, 1999) o abióticos (Celo et al., 2006).

En las aguas dulces, el Hg mayoritariamente se encuentra en forma de complejos hidroxilo y clorados o en forma de MMHg. Las especies inorgánicas de Hg a menudo se asocian a la materia orgánica como los ácidos húmicos, fúlvicos o carboxílicos (Lindqvist et al., 1991) (Lindqvist et al., 1991). Una parte del Hg es re-emitido hacia la atmósfera por procesos fotoquímicos (Amyot et al., 1997), evacuado por las aguas de drenaje o almacenado en los sedimentos en forma de HgS. Otra parte del Hg es transformado en IHg por medio de procesos biológicos o químicos. En los compartimientos anóxicos del sistema acuático, en mayor o menor proporción, se produce MMHg en presencia de las bacterias sulfatoreductoras (SRB) favorecida por las aguas enriquecidas en materia orgánica (Compeau and Bartha, 1985; Warner et al., 2003).

1.11.2 Atmósfera

El principal componente del HgT en el aire es el Hg^0 , constituyendo el 92% del HgT en el aire marino y 82% en el aire continental (Slemr et al., 1985). El Hg en su forma elemental es poco reactivo y poco soluble, por lo que se encuentra en muy baja concentración en las precipitaciones. Además del Hg^0 en la atmósfera el Hg también se encuentra en forma oxidada (adherida a partículas a la que se denomina Hg particular (MP)) y bajo diversas formas organometálicas (CH_3Hg^+ , CH_3HgCl , CH_3HgOH y $\text{Hg}(\text{CH}_3)_2$) en bajas concentraciones. Las formas oxidadas del Hg (Hg^{+1} (muy poco estable) y Hg^{2+}), forman complejos inorgánicos tales como HgCl_2 , $\text{Hg}(\text{OH})_2$ y HgO , a los que se denomina mercurio gaseoso reactivo (RGM). Los RGM y MP se encuentran en la misma proporción (Slemr et al., 1985), representando el ~3% del HgT atmosférico (Lindberg and Stratton, 1998). El estado de oxidación del MP es Hg^{2+} y se encuentra asociado a los aerosoles. En la figura 17, se muestra las diferentes reacciones posibles que experimenta el Hg en la atmósfera.

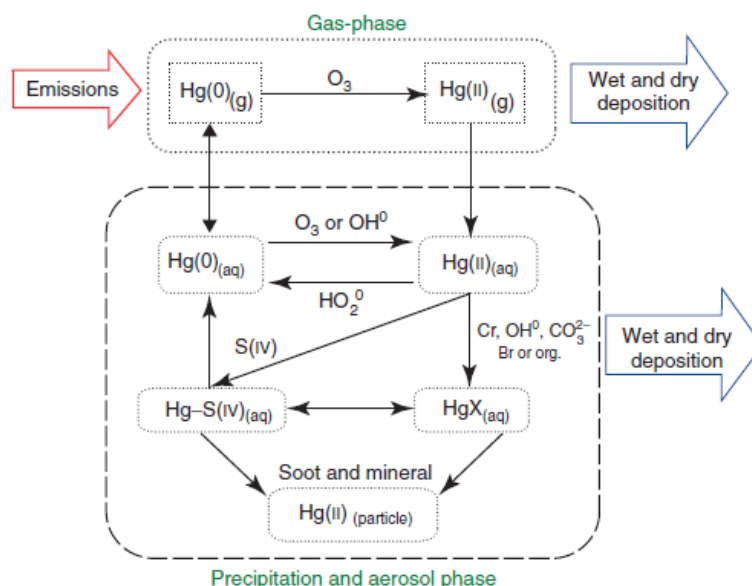


Figura 17 : Transformaciones físicas y químicas del Hg en la atmósfera. Estilo de la figura adaptado de Shia et al. (1999); reacciones de Shia et al. (1999), and Lin and Pehkonen (1999).

En las regiones industrializadas la emisión de RGM y MP antropogénico en la atmósfera es importante; debido al tamaño de los aerosoles el MP no recorre grandes distancias, se deposita cerca de las fuentes de emisión (Xiao et al., 1991).

1.11.3 Suelos

El Hg contenido en los suelos se debe a las deposiciones de Hg atmosféricas húmedas y secas, además de los provenientes desde la corteza terrestre. Los suelos en la mayoría de los casos, es la principal fuente de Hg para los cuerpos de agua. Los niveles de fondo de Hg en suelos no son fáciles de estimar debido a la contaminación generalizada de Hg. Según los datos reportados para distintos tipos de suelo de todo el mundo, las concentraciones en los suelos superficiales no exceden de $1,5 \mu\text{g g}^{-1}$ (Kabata-Pendias, 2011), mientras que en las capas superficiales de los suelos afectadas por actividades antropogénicas, la concentración de Hg puede ser mayor. Las concentraciones de Hg en los suelos varía con la profundidad, la mayor proporción de Hg se encuentra en los primeros 20 cm (USEPA, 1997). Debido a las características del suelo (pH, temperatura y tenores en materia orgánica) es favorecida la formación de compuestos inorgánicos de Hg, tales como cloruro de mercurio y/o hidróxidos de mercurio o compuestos orgánicos (Schuster, 1991). Un buen porcentaje de Hg presente en los suelos se encuentra asociado a la materia orgánica bruta, susceptible de ser movilizado por las aguas superficiales. El Hg^{2+} en forma de diferentes compuestos, puede ser reducido a Hg^0 por acción de la luz (Carpi and Lindberg, 1998); o bien ser metilado por procesos microbianos formando compuestos orgánicos de Hg (USEPA, 1997).

Las concentraciones de Hg en los sedimentos son mayores que en los suelos. Los niveles de Hg en los sedimentos siguen la misma tendencia que los suelos observando la profundidad, materia húmica, incrementos históricos y porcentajes de MMHg.

1.11.4 Biota

Se designa como biota al conjunto de las plantas, micro-organismos, animales acuáticos y terrestres que se encuentran en una región. Debido a la retención eficaz del Hg por la vegetación y los suelos (50% a 80%) (Graydon et al., 2008), los mismos están considerados como sumideros de Hg (USEPA, 1997). Otro claro ejemplo son los peces, en los cuales los porcentajes de MMHg biocumulado se encuentran entre 80 y 99% con respecto al contenido total de Hg (Sloof et al., 1995).

El ciclo del Hg en la biósfera es complejo e implica procesos de depósito y de re-emisión de Hg. Prácticamente todo el Hg que se encuentra en la vegetación tiene origen atmosférico (Grigal, 2002). Del contenido total de Hg en las hojas y en las raíces el ~90% y el 45% de Hg respectivamente, es de origen atmosférico (Mosbæk et al., 1988).

Numerosos estudios revelan una contaminación por Hg en los ecosistemas árticos (Wagemann et al., 1996; Muir et al., 2005; Sprovieri and Pirrone, 2005), donde elevadas concentraciones de Hg fueron encontradas en los mamíferos marinos situados al final de la cadena alimentaria. Las concentraciones de Hg en las ballenas fueron muy elevadas al igual que en las focas y en los osos polares (Wagemann et al., 1996; Dietz et al., 2000). Los tenores de Hg en estos organismos varían de 0,05 a 1,4 mg/kg de tejido (UNEP, 2002), y se incrementan con talla y la edad para un mismo nivel trófico (Lockhart et al., 2005). La población consumidora de pescado presentó altos niveles de MMHg; así como también las aves de corral y ganado los cuales eran alimentados con harina de pescado.

1.12 Bioconcentración, bioacumulación y biomagnificación del MMHg en los ecosistemas acuáticos.

La bioacumulación del MMHg empieza con la asimilación de Hg a través de las membranas bacterianas. La asimilación de las especies de Hg al inicio de la cadena alimentaria por el fitoplacton, determina la bioacumulación a lo largo de la cadena trófica (Mason et al., 1996; Watras et al., 1998).

Se cree que la acumulación del Hg ocurre por difusión pasiva de sus complejos lipófilos neutros, tales como HgCl_2 o CH_3HgCl a través de la membrana biológica (Mason et

al., 1996; Benoit et al., 2001), subsecuentemente el MMHg es acumulado en el citoplasma de la célula y el Hg^{2+} es secuestrado por los tioles de la membrana (Mason et al., 1996). Posteriormente el MMHg es transferido al nivel trófico superior, donde la fracción de MMHg se incrementa y disminuye la del Hg^{2+} (Watras et al., 1998; Baeyens et al., 2003). Es por esta razón que los organismos de los ecosistemas acuáticos contaminados con Hg contienen altas concentraciones de Hg respecto a los sistemas acuáticos cuyas tasas de Hg en los sedimentos son similares que en el fondo geoquímico (Edwards et al., 1999; Bravo et al., 2010).

Los determinantes potenciales de la bioacumulación del Hg en los ecosistemas acuáticos naturales incluyen factores ambientales (como las tasas de Hg, el pH, DOC, y la temperatura), factores ecológicos (como la productividad y la posición trófica) y factores fisiológicos (tales como la respiración y la asimilación) (Watras et al., 1998).

Los factores fisiológicos tales como el peso, la talla, la edad y la estrategia alimentaria, controlan las concentraciones observadas en los diferentes niveles tróficos (Watras et al., 1998; Baeyens et al., 2003).

Para un mismo nivel trófico, la bioacumulación del Hg es fácilmente observable debido a que la concentración de Hg aumenta con la talla, el peso y la edad de la especie considerada (Baeyens et al., 2003; Hammerschmidt and Fitzgerald, 2006a). Sin embargo organismos de un nivel trófico inferior pueden contener más Hg que el del nivel trófico superior, esto se debe al modo de vida y de alimentación (George and Batzer, 2008). La bioacumulación del Hg en los sistemas acuáticos se define mediante dos factores: el factor de bioacumulación (BCF) que es la fracción de la concentración de Hg en la columna de agua y el organismo considerado; y el factor de bioamplificación (BMF) calculado con la concentración de Hg de una presa y un predador.

Diferentes estudios realizados en peces han demostrado que según el tamaño de los peces el Hg bioacumulado, a menudo, se correlaciona con el pH y el DOC de manera incompatible (Watras et al., 1998); pero en otros casos no se reporta una correlación significativa (Driscoll et al., 1995), lo que significa que existe un importante grado de interacción entre las variables y/o múltiples efectos de las variables individuales que controlan la bioacumulación del Hg (Watras et al., 1998).

1.13 Hg en los ecosistemas de altitud

La bioquímica del Hg en escenarios geográficos de gran altitud es poco conocida a diferencia de los estudios realizados a nivel del mar o a poca altitud. En general las áreas geográficas de gran altura se caracterizan por su aridez (falta de agua en el suelo y humedad en el aire), bajas temperaturas, alta incidencia de radiación solar y UV. En este contexto el conocimiento de la bioquímica del Hg en estos medios es de interés, dado que bajo condiciones ambientales extremas la velocidad de su transformación para su reducción o metilación podría acelerarse. El Hg en estado oxidado (Hg^{+2}), es capaz de metilarse en medios poco oxigenados y los sistemas de altitud tienen esta condición a nivel macro. Por otro lado en estos medios la incidencia de radiación solar y UV son elevados, factores que podrían jugar un rol importante en la fotoreducción del Hg y su posterior re-emisión hacia la atmósfera.

Los pocos estudios realizados sobre el Hg en las montañas muestran que el Hg no es de origen local, sino más bien es el resultado de las deposiciones meteorológicas secas y húmedas de Hg. El Hg depositado en estos medios procede desde fuentes naturales y antropogénicas. El transporte y deposición atmosférica del Hg depende del estado de oxidación del elemento. El Hg^0 permanece en la atmósfera el tiempo suficiente para que sea transportado en todo el planeta, mientras que en forma de Hg^{2+} o MP es capturado y depositado relativamente rápido (UNEP, 2013a).

Entre los escenarios geográficos más altos del mundo se tiene al Tibet (continente asiático), a los Alpes en Europa, a la Cordillera Andina en Sudamérica y al Altiplano Sudamericano.

En el Tibet, la región más alta del mundo (4900 m) se presentan áreas prístinas u otras muy poco habitadas donde las actividades industriales están ausentes. En la montaña glaciar de Gongga (7556 m) en el Tibet, los hongos mostraron ser muy buenos acumuladores de Hg ($1,168 \text{ mg Kg}^{-1}$), seguido de los suelos donde se encuentran estas cetas ($0,02\text{-}132 \text{ mg Kg}^{-1}$) y los suelos de los bosques prístinos del Himalaya ($0,116 \text{ mg kg}^{-1}$) (Falandysz et al., 2014). En comparación con los valores reportados para la misma especie de hongo y la línea base de Hg en los suelos de Polonia ($0,58$ a $0,70$ y $0,047\text{-}0,048 \text{ mg kg}^{-1}$ respectivamente) (Falandysz et al., 2002), son muy elevados. Otro estudio muestra concentraciones bajas de Hg en los suelos de la meseta y de parte oriental del Tibet, la concentración promedio del HgT se encuentra en un intervalo de $0,02$ a $0,08 \text{ mg kg}^{-1}$ (Xie et al., 2014; Tang et al., 2015). Mientras que las

concentraciones de HgT en los peces varían de 0,025 a 1,2 mg Kg⁻¹ de peso húmedo (Zhang et al., 2014). Estos valores se encuentran por debajo y por encima del valor límite permisible dado por la OMS (0,5 mg kg⁻¹ de peso húmedo) (WHO, 1990). Por otro lado los porcentajes de MMHg en el zooplancton y anfípodos bentónicos son superiores al de los peces, lo que sugiere una transferencia eficaz de MMHg a partir de la base de la cadena alimentaria (Zhang et al., 2014). El estudio realizado por Huang et al. (2013) muestra que el Hg proviene desde otras zonas antropogénicas, movilizado por la atmósfera y depositado por los fenómenos meteorológicos húmedos, principalmente durante el periodo monzónico (Huang et al., 2013). La concentración promedio de HgT en las precipitaciones pluviales es de 24,8 ng L⁻¹ (Zhang et al., 2014), en la nieve varía de <1 ng L⁻¹ a 13 ng L⁻¹ (Huang et al., 2012a) y en las aguas de ríos de 1,5-5,0 ng L⁻¹ (Zheng, 2009).

En los Alpes franceses, el depósito de Hg ocurre a través de los depósitos de nieve y se piensa que la formación de MMHg puede ocurrir en la atmósfera (Maruszczak et al., 2011c). Las concentraciones de HgT medidas en la nieve varían de 1,8 ng L⁻¹ a 169,5 ng L⁻¹ (Ferrari et al., 2002; Fain et al., 2007; Maruszczak et al., 2011c). Mientras que la concentración de MMHg varía de ~2,4 pg L⁻¹ a ~330 pg L⁻¹ (Maruszczak et al., 2011c). La concentración de HgT en las aguas de las lagunas es mucho menor que la medida en la nieve. En las aguas de 4 lagunas de las montañas Belledonne y Grandes Rousses, ubicadas en los Alpes las concentraciones de HgT varían de 0,1 a 4,3 ng L⁻¹; y la concentración de MMHg de 1,9 a 9,2 pg L⁻¹ (Maruszczak et al., 2011b). En los peces de estas lagunas las concentraciones de HgT se encuentran en un intervalo de 0,14 a 0,23 mg Kg⁻¹ de peso húmedo (Maruszczak et al., 2011b). Las bajas concentraciones en MMHg podrían deberse al tiempo de residencia limitado que tiene el Hg en la columna de agua para que ocurran los procesos de sedimentación o de metilación (Maruszczak et al., 2011b). Las concentraciones de Hg en los sedimentos superficiales del lago Luitel, ubicado en los Alpes franceses, alcanza a 230 ng g⁻¹ (Guédron et al., 2016a). Los depósitos de Hg en este lago son meteorológicos de origen antropogénico. Según el perfil sedimentario la tasa de depósito de Hg atmosférico desde 1860 hasta la Primera Guerra mundial fue alrededor de 45 g m⁻² año⁻¹, alcanzando el máximo valor al final de la Segunda Guerra Mundial (250 g m⁻² año⁻¹), seguida de una disminución gradual (90 mg m⁻² año⁻¹) en el período actual (Guédron et al., 2016a).

La Patagonia es otro de los sitios de altura ubicada en la cordillera de los Andes, donde no son relevantes las emisiones de Hg asociado con la actividad industrial o minera, sin embargo las elevadas concentraciones de Hg corresponden a la última década (Daga et al., 2016). Los estudios realizados en los sedimentos de lago Nahuel Huapi, ubicado al norte de la

Patagonia de la cordillera de los Andes, muestra que el Hg es de origen antrópico, al igual que el Sb, As, Br, Cs, Co, Cr y Ag (Ribeiro Guevara et al., 2002). Los niveles de Hg en los sólidos en suspensión se encontraron en un intervalo de 4,3 a 9,9 $\mu\text{g g}^{-1}$. Las concentraciones de Hg en la capa superficial de los sedimentos de este lago variaron de 200 a 500 ng g^{-1} , correspondiendo las concentraciones más elevadas (400 a 650 ng g^{-1}) a los siglos XVIII y XIX. Los incrementos en las concentraciones de Hg, sugieren un vínculo con eventos volcánicos en la Patagonia e incendios extendidos, además de aportes atmosféricos globales (Ribeiro Guevara et al., 2010). Otro estudio similar realizado en sedimentos del lago Futalaufquen, también ubicado en el norte de la Patagonia, asocia los altos picos de Hg durante los últimos 300 años con las erupciones volcánicas en la Patagonia septentrional y con episodios de incendios bastante irregulares, realizados por las poblaciones asentadas en los Andes (Daga et al., 2016). Los líquenes y mejillones fueron estudiados como bioindicadores de aire y agua en esta zona; las concentraciones de Hg medidas fueron compatibles con los que se encuentran en lugares expuestos a contaminación moderada (Guevara et al., 2004; Ribeiro Guevara et al., 2004). Mientras que las concentraciones de HgT en el plancton de los lagos Moreno y del Lago Nahuel Huapi variaron desde 0,1 a 260 $\mu\text{g g}^{-1}$ de plancton seco (Rizzo et al., 2014). Mientras que la concentración de HgT en los peces se encuentra entre 0,05 y 4 mg Kg^{-1} de peso húmedo en diferentes lagos y en el Lago Futalaufquen (Rizzo et al., 2011). La producción de MMHg ocurre principalmente en la columna de agua y es atribuida a la presencia de plancton. Las tasas de producción de MMHg por las aguas ultraoligotróficas del lago Moreno conteniendo plancton de diámetro $< 50 \mu\text{m}$, fueron elevados en condiciones de radiación PAR + UV-A ($27,3 \pm 9,0 \%$ a $50,8 \pm 6,9\%$) que en condiciones de oscuridad ($15,44 \pm 0,77\%$ a $23,5 \pm 1,4\%$) (Ribeiro Guevara et al., 2008) y bajas en los sedimentos (Ribeiro Guevara et al., 2009).

El Altiplano boliviano es una meseta predominantemente metasedimentaria de gran altitud ubicada entre la Cordillera Oriental y la Cordillera Occidental volcánica de los Andes (USGS and GEOBOL, 1992). Presenta condiciones ambientales extremas con un clima árido, fuertes gradientes de temperatura ambiente entre el día (18°C) y la noche (-4°C), fuertes incidencias de radiación solar y UV y baja disponibilidad de oxígeno en el aire. A nivel planetario este ecosistema se encuentra en la zona tropical, caracterizada principalmente por la alta producción primaria de materia orgánica debido a la elevada cantidad de radiación solar recibida. A diferencia de otras áreas geográficas que se encuentran en la zona tropical, en el Altiplano boliviano sí se tienen fuertes heladas y sequías durante la época seca.

Según las áreas de explotación de metales de importancia económica en Bolivia, como el oro en el Altiplano Boliviano, la fuente del Hg puede ser de origen antrópico, natural (meteorización de rocas) y por deposiciones atmosféricas globales de Hg (Nriagu, 1994a). En los suelos (0 a 15 cm de profundidad) de la región de Apolombamba respecto a la concentración habitual de Hg en los suelos (0,01-0,03 mg kg⁻¹) (Senesil et al., 1999), se ha encontrado altas concentraciones de Hg (0,2 a 22 mg Kg⁻¹) (Faz et al., 2014). Las concentraciones de Hg en los suelos de esta región están asociadas con las actividades minero auríferas, las cuales utilizan Hg para la recuperación de oro (Au). Por otro lado el Hg se encuentra geológicamente asociado a minerales sulfurados que contienen oro (Lentz, 2005) por lo que podría ser liberado durante las actividades mineras. A ello se debe añadir los aportes atmosféricos globales de Hg (Nriagu, 1994a).

En cuanto a la acumulación de Hg en los peces de esta región, los niveles de HgT en los tejidos de los peces del lago Titicaca varían de 0,4 a 0,9 mg Kg⁻¹ de peso húmedo (Monroy et al., 2014). Mientras que en el lago Uru-Uru y Poopó, dos lagos impactados por intensas actividades mineras, las concentraciones de HgT por peso seco de tejido muscular variaron entre 0,2 y 1,2 mg Kg⁻¹ de tejido seco (Molina et al., 2012). Multiplicando estos valores por un factor de 0,2 (Pourang et al., 2004), obtenemos las correspondientes concentraciones de HgT (0,04-0,24 mg Kg⁻¹) por peso húmedo. Estos valores se encuentran por debajo del valor recomendado por la OMS (0,5 mg Hg Kg⁻¹ de peso húmedo (WHO, 1990)). Por otro lado se han reportado niveles de HgT en los tallos, raíces de las totoras y sedimentos superficiales del lago Uru-Uru, estos valores se encuentran entre <30-72, 4-129 y 500 µg Kg⁻¹ de peso seco respectivamente (PPO-9612, 1996).

Como resumen la tabla 5 muestra las concentraciones de HgT y MMHg en las diferentes matrices por área geográfica a gran altura, sin tomar en cuenta las concentraciones determinadas en el presente trabajo en diferentes matrices del lago Uru-Uru.

<i>Area geográfica</i>	<i>Matriz</i>	<i>Concentración de HgT</i>	<i>Concentración de MMHg</i>	<i>Referencia</i>
Tibet	Hongos	1,168 mg Kg ⁻¹		(Falandysz et al., 2014)
	Suelos	0,02-0,132 mg Kg ⁻¹		(Falandysz et al., 2014; Xie et al., 2014; Tang et al., 2015)
	Peces	0,025-1,2 mg Kg ⁻¹	0,02-1,2 mg Kg ⁻¹	(Zhang et al., 2014)
	Agua de río	1,5-5,0 ng L ⁻¹		(Zheng, 2009)
	Nieve	<1 ng L ⁻¹ - 13 ng L ⁻¹		(Huang et al., 2012a)
	Nieve + lluvia	0,4-35,3 ng L ⁻¹	0,012-0,064 ng L ⁻¹	(Huang et al., 2012b)
Alpes franceses	Nieve	1,8-169,5 ng L ⁻¹	~2,4 - ~330 pg L ⁻¹	(Maruszczak et al., 2011c)
		13-130 pg L ⁻¹		(Ferrari et al., 2002)
		80±0,8 - 160±15 ng L ⁻¹		(Fain et al., 2007)
	Aguas de lagos	0,1-4,3 ng L ⁻¹	1,9-9,2 pg L ⁻¹	(Maruszczak et al., 2011b)
	Peces	0,14 y 0,23 mg Kg ⁻¹		(Maruszczak et al., 2011b)
	Sedimentos superficiales	230 ng g ⁻¹		(Guédrón et al., 2016a)
Los Andes: Patagonia Argentina	Líquenes	0,06 -1,38 µg g ⁻¹		(Ribeiro Guevara et al., 2004)
	Plancton (peso seco)	0,1 - 255 µg g ⁻¹	3-29 ng g ⁻¹	(Rizzo et al., 2014)
	Sedimentos	200-500 ng g ⁻¹		(Ribeiro Guevara et al., 2010)
	Peces (peso húmedo)	0,05-4 µg g ⁻¹		(Rizzo et al., 2011)
Los Andes: Altiplano boliviano	Suelos región minera de Apolobamba	0,2-22 mg Kg ⁻¹		(Faz et al., 2014)
	Peces lago Titicaca	0,4-0,9 mg Kg ⁻¹		(Monroy et al., 2014)
	Peces lago Uru-Uru (peso húmedo)	0,04-0,24 mg Kg ⁻¹		(Molina et al., 2012)
	Tallos de totora (peso seco), lago Uru-Uru	<30-72 mg Kg ⁻¹		
	Raíces de totora (peso seco), lago Uru-Uru	4-129 mg Kg ⁻¹		(PPO-9612, 1996)
	Sedimentos superficiales (0-15 cm), lago Uru-Uru	550 µg Kg ⁻¹		
	Hígado de flamencos (peso seco), lago Uru-Uru	0,1-0,6 mg Kg ⁻¹		
	Myriophyllum y alga (peso seco), lago Titicaca	30 µg Kg ⁻¹		(PPO-9607, 1996)

Tabla 5. Concentración de HgT en diferentes matrices de escenarios geográficos de altitud.

1.14 Métodos analíticos y experimentales utilizados para la determinación de Hg

Las técnicas o métodos analíticos experimentales para la determinación de mercurio y las diferentes especies de este elemento en diferentes matrices, han sido implementados desde simples test para la identificación de Hg, hasta sofisticadas técnicas de cuantificación de diferentes especies e isótopos estables de un mismo elemento. Estas técnicas precisas y exactas permiten analizar concentraciones de Hg de diferentes especies a nivel trazas, del orden de picogramos (pg) a microgramos (μg).

1.14.1 Técnicas de análisis de HgT

Existen diferentes técnicas para la determinación de Hg total en muestras sólidas y líquidas en función de los niveles de concentración. Las principales 4 técnicas utilizadas para la determinación de HgT son: la espectrometría de absorción atómica de vapor frío (CV-AAS), la espectrometría de fluorescencia atómica de vapor frío (CV-AFS), la técnica de análisis directo de Hg o técnica de análisis pyro-AFS y la técnica de la espectrometría de masas con plasma de acoplamiento inductivo (ICP/MS), a los que nos referiremos a continuación.

La técnica de espectrofotometría de absorción atómica de vapor frío (CV-AAS), es una técnica frecuentemente utilizada para la determinación de HgT (Tahan et al., 1993; Balarama Krishna M V, 2005; Balarama Krishna et al., 2005) en muestras sólidas y residuos semi-sólidos digeridos por ataque ácido (USEPA, Method 7471B).

El procedimiento está basado en el principio desarrollado por Poluektov et al. (1964) y Hatch & Ott (1968), que consiste en la reducción de Hg^{2+} a Hg^0 por un agente reductor (cloruro estanoso (SnCl_2) o tetrahidrobórato de sodio (NaBH_4) (Kopysc et al., 2000). Para la medición el Hg reducido es transportado por un gas inerte (argón) hasta la celda espectrofotométrica para su detección a 253,7 nm, libre de agua (Veiga and Baker, 2005). En otros casos el Hg es pre-concentrado sobre una trampa de oro antes de ser térmicamente desorbido para el análisis. El límite de detección típico de este método es de 0,05 ng g^{-1} (Horvat, 2005) para muestras sólidas.

Las limitantes comunes de esta técnica (CV-AAS) son las pérdidas por volatilización, la contaminación durante la etapa de la digestión ácida de las muestras (Veiga and Baker,

2005) y las interferencias espectrales debido a la presencia de vapor de agua, NO₂, SO₂, O₃ y otros compuestos orgánicos e inorgánicos (Schroeder, 1982). Algunos de estos interferentes pueden ser subsanados con correcciones de fondo Zeeman.

El método de vapor frío acoplado a espectrofotómetro de fluorescencia atómica (CV-AFS) es utilizado para el análisis de HgT y MMHg en muestras líquidas (Bloom and Crecelius, 1983), digeridas de suelo y sedimentos (Akagi, 1999). Durante el análisis el Hg es preconcentrado, por vapor frío sobre una trampa de oro, seguida de una desorcpción y una detección por espectrometría de fluorescencia atómica. En la etapa de la desorcpción la trampa de oro es calentada a 600°C, y el Hg desorbido es trasladado bajo un flujo de argón ultra-puro, hasta la celda óptica de detección (Lian and Bloom, 1993). Para la detección, la radiación incidente que excita los átomos de Hg⁰, es generada por la lámpara de Hg. La radiación fluorescente emitida es medida a 90° respecto al haz de luz proveniente de la lámpara de Hg. De esta manera la señal se mide en relación a "cero" en lugar de una pequeña diferencia respecto a una señal grande (como en el caso de AAS) (Horvat, 2005). Estas señales son multiplicadas por un tubo fotomultiplicador de alto voltaje y mostradas en forma de picos, los cuales son integrados electrónicamente dando los resultados en unidades de área o de altura de área (Lian and Bloom, 1993).

Al igual que en otras metodologías también se presentan interferentes tales como sustancias gaseosas (CO/CO₂, O₂ y N), cuyas señales de fluorescencia debe ser evitada (Horvat, 2005). Las interferencias dependen también de la composición de la muestra, en presencia de compuestos orgánicos volátiles la absorción de Hg no es específica, en presencia de ligandos podría formarse complejos de Hg⁺² o amalgamas de Hg⁰ los cuales podrían interferir con la reducción del Hg. Otra de las interferencias ocurre durante la preconcentración de Hg en la trampa de adsorción en presencia de haluros e hidruros volátiles.

La técnica de análisis CV-AFS es utilizado para el análisis de las especies mercuriales totales en muestras de aguas naturales (Bloom and Crecelius, 1983) y en muestras suelos (Akagi, 1999) y sedimentos (Bloom and Crecelius, 1983). El método propuesto por Bloom and Crecelius, (1993) para la determinación total de Hg en aguas ha sido adoptado por la USEPA, como el Método 1631 (USEPA, Method 1631). Los límites de detección analítico para cada uno de estos métodos son de 1 ng g⁻¹ para 0,5 g de muestra de suelo seco, 1 ng g⁻¹ de sedimento húmedo y 0,1 ng L⁻¹ para 100 mL de muestra de agua.

La técnica de análisis de Hg en sólidos y soluciones por descomposición térmica y espectrometría de absorción atómica (pyro-AAS) o Método 7473 de la USEPA, es utilizado para la determinación de HgT en muestras sólidas y líquidas, prescindiendo de la etapa de digestión de las muestras y la reducción por un agente reductante, lo cual minimiza el tiempo de análisis y el riesgo de la pérdida del analito por volatilización o la contaminación durante la etapa de la digestión (Veiga and Baker, 2005).

La técnica esta basada en la combinación de las técnicas de descomposición térmica, conversión catalítica, amalgamación y espectrofotometría de absorción atómica. Las etapas de calentamiento están controladas para el secado, seguida de la descomposición térmica de la muestra, la cual es introducida en un tubo de cuarzo. Un flujo continuo de oxígeno lleva los productos de descomposición a través de un lecho catalizador, donde quedan atrapados los interferentes. Todas las especies de Hg se reducen a Hg⁰ y luego se llevan a lo largo de un amalgamador de oro donde el Hg es atrapado. El sistema se purga y el amalgamador se calienta posteriormente liberando todos los vapores de Hg. El espectrofotómetro de absorción atómica mide la absorbancia a una longitud de onda de 253,7 nm, el cual es proporcional al contenido de Hg en la muestra (Milestone).

El método 7473 de la USEPA, que utiliza el equipo Milestone para el análisis de Hg total por pirólisis directa, tiene un límite de detección (MDL) de 0,1 ng de Hg. La máxima capacidad de la muestra es de 700 mg para muestras sólidas (Veiga and Baker, 2005).

LUMEX usa un proceso Zeeman (Zeeman Atomic Absorption Spectrometry utilizando High Frequency Modulation of Light Polarisation ZAAS-HFM), que elimina las interferencias y el uso de trampas de oro. El límite de detección reportado para sedimentos es de 0,5 µg kg⁻¹ (ppb) para 200 mg de muestra en la cámara de pirólisis. Sin embargo los efectos de memoria pueden presentarse al analizar muestras con altos contenidos de Hg (Veiga and Baker, 2005). Este instrumento fue desarrollado para muestras sólidas, sin embargo también fue utilizado para muestras líquidas (análisis de Hg en orina) (Veiga and Baker, 2005).

La técnica CV-ICP-MS es el resultado del acoplamiento de dos técnicas, el de vapor frío (CV) y el de espectrometría de masas con plasma de acoplamiento inductivo (ICPMS) (Karunasagar et al., 1998; Wu et al., 2007). El Hg después de la reducción con SnCl₂ es colectado en una cámara de vidrio antes de la inyección en el plasma. Este aditamento mejoró la sensibilidad del equipo de 10 a 15 veces, en comparación con una inyección de vapor

continua. El límite de detección es de 6 ng L^{-1} para un tiempo de 3 segundos (Karunasagar et al., 1998).

La técnica es utilizada para la determinación de HgT en diferentes matrices entre ellas en aguas naturales con altos contenidos de ácido húmico (Pyhtilä et al., 2012) y orina (Bettinelli et al., 2002).

1.15 Técnicas de análisis para la especiación de Hg

La mayoría de los métodos están basados en el método analítico originalmente desarrollado por Westöö, 1966 y Sumino 1968. Se trata de una primera extracción de cloruro organomercurial con benceno a partir de muestras homogéneas acidificadas, seguida de una segunda re-extracción de lo extraído utilizando el mismo solvente. Sin embargo en los últimos años, los métodos analíticos fueron mejorados significativamente en términos de especificidad y sensibilidad (Horvat, 2005).

Los métodos de especiación de Hg están clasificados de acuerdo a la técnica de separación cromatográfica de los analitos (CG, HPLC) (Bouyssiére et al., 2002) y al instrumento de detección utilizado (Sanchez Uria and Sanz-Medel, 1998).

La cromatografía gaseosa (GC) y la cromatografía en fase líquida (HPLC) son las técnicas frecuentemente utilizadas en diversas investigaciones para la separación de los analitos. En investigaciones realizadas por Hintelmann and Evans, (1997); Qvarnström et al., 2000, muestran que los analitos pueden ser separados por cromatografía en fase líquida (Hintelmann and Evans, 1997; Qvarnström et al., 2000); mientras que otros estudios muestran que también es posible separar las especies estudiadas por cromatografía gaseosa (Demuth and Heumann, 2001; Monperrus et al., 2005; Monperrus et al., 2005b; Point et al., 2007a), o bien por cromatografía de exclusión por tamaños (SEC) con fines de estudio de biomoléculas (Shi et al., 2007).

Los detectores más utilizados son básicamente los espectrofotómetros de absorción atómica (AAS), fluorescencia atómica (AFS), emisión atómica a plasma inducido por microondas (MIPAES), espectroscopía de emisión atómica de plasma acoplado inductivamente (ICPAES) o el ICPMS de excelente sensibilidad y especificidad. Este último posibilita el análisis de multi-elementos y multi-isótopos (Monperrus et al., 2005b). El ICPMS acoplado a un cromatógrafo de gases (GC), ha sido utilizado en el presente trabajo.

Como ejemplos de la combinación de estas técnicas se tiene al ICPMS conectado al cromatógrafo de gases (GC-ICP-MS) (Fig. 18), el espectrómetro de masas acoplado al cromatógrafo líquido de alta resolución (HPLC-MS) y el espectrómetro de fluorescencia atómica acoplado al cromatógrafo de gases (GC-AFS).

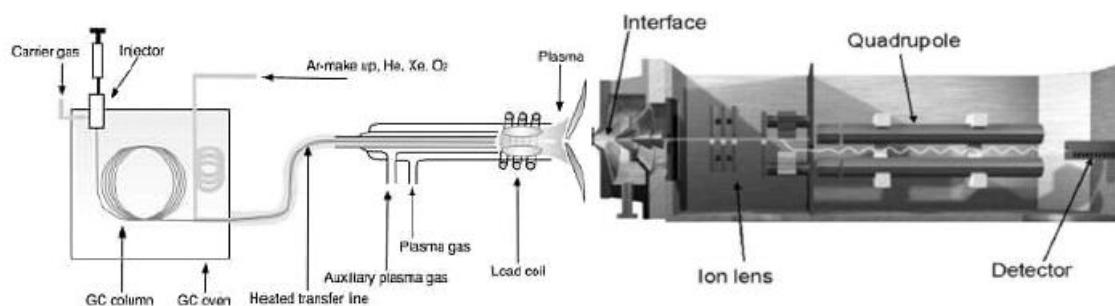


Figura 18 : ICP-MS acoplado a un cromatógrafo de gases (GC) (Bouchet, 2009).

El GC-ICP-MS para estudios de investigación de Hg se ha convertido en una herramienta muy poderosa (Hintelmann and Ogrinc, 2003). La introducción de Hg en estado gaseoso seco, en el plasma, ha reducido en gran medida la aparición de efectos de memoria, que era uno de los principales problemas para el uso eficaz de ICP-MS inicialmente. Los límites de detección pueden alcanzar hasta niveles menores a $0,01\text{ng L}^{-1}$. Por otra parte este método toma ventaja sobre los métodos de dilución isotópica con mediciones precisas y exactas y permite la utilización de trazadores estables para el estudio de los múltiples procesos de transformación simultánea de las especies de Hg en el medio ambiente y los sistemas biológicos (Demuth and Heumann, 2001).

1.15.1 Métodos de especiación de Hg por dilución isotópica ID-GC-ICPMS

El desarrollo de instrumentos de medida muy sensibles como el ICP-MS, cuyas medidas de Hg se encuentran en el orden de los pg L^{-1} , acoplado al GC, ha posibilitado la determinación, en muy bajas concentraciones, de las especies volátiles o disueltas de Hg en las aguas naturales (Amouroux et al., 1998; Kotnik et al., 2007). Este avance tecnológico ha conducido al desarrollo de nuevas técnicas experimentales que utilizan isótopos estables para la cuantificación de las especies de Hg en diferentes matrices medioambientales por dilución

isotópica (Hintelmann and Evans, 1997; Demuth and Heumann, 2001; Rodriguez Martin-Doimeadios et al., 2002; Monperrus et al., 2005b) (figura 19).

La especiación de Hg por dilución isotópica es una técnica de cuantificación de especies de Hg basada en la adición de una cantidad determinada de solución que contiene especies de Hg enriquecidas isotópicamente (por ejemplo $^{199}\text{Hg}^{2+}$ y $^{201}\text{MMHg}$) (spike), preferentemente al inicio de toda la cadena analítica. Luego las diferentes especies de Hg son separados por un cromatógrafo (GC) desde donde son transportados con un gas inerte hasta el detector (ICP-MS).



Figura 19 : GC acoplado al ICPMS en el LCABIE (*Thermo Focus-Thermo X-series*), Pau, Francia.

A diferencia de los métodos convencionales que utilizan calibraciones externas y adiciones dosificadas, la dilución isotópica permite compensar los errores cometidos durante la preparación de las muestras, en particular debido a las pérdidas durante el tratamiento de la muestra (procesos no cuantitativos) (Kingston et al., 1998; Ruiz Encinar et al., 2002) y corregir los efectos de la dilución, degradación y de transformación (Martín-Doimeadios et al., 2003). Otra de las ventajas es que como la metodología emplea una inyección en fase gaseosa, permite aumentar significativamente la sensibilidad (Monperrus et al., 2004; Monperrus et al., 2008).

1.15.2 Método de la dilución isotópica clásica “Simple spike Isotope Dilution Mass Spectrometry, SS-IDMS”

En este método se utiliza un trazador isotópico que tiene la ventaja de funcionar como un estándar interno ideal. Siendo los isótopos marcados del mismo elemento que se quiere analizar, este se comporta de la misma manera en la mayoría de los procesos fisicoquímicos. La pérdida de una parte o la dilución de la muestra que contiene el isótopo marcado, no tiene efecto en el análisis puesto que la fracción isotópica sigue siendo la misma en la muestra restante o diluida. Los efectos de matriz afectaran de la misma manera a los isótopos del mismo elemento, por lo que los isótopos marcados no perturban a lo largo del proceso analítico (Monperrus et al., 2004). La detección final simultánea de los isótopos naturales y enriquecidos permite calcular las concentraciones de las diferentes especies de Hg.

En el análisis de espectrometría de masa, las abundancias de las especies marcadas y de la especie a ser cuantificada son determinadas, así como la proporción isotópica resultante para la muestra con la adición de la especie marcada. La concentración de la especie puede ser directamente deducida de la proporción isotópica y de la cantidad del trazador añadido mediante la fórmula dada en la figura 20, (Monperrus et al., 2004).

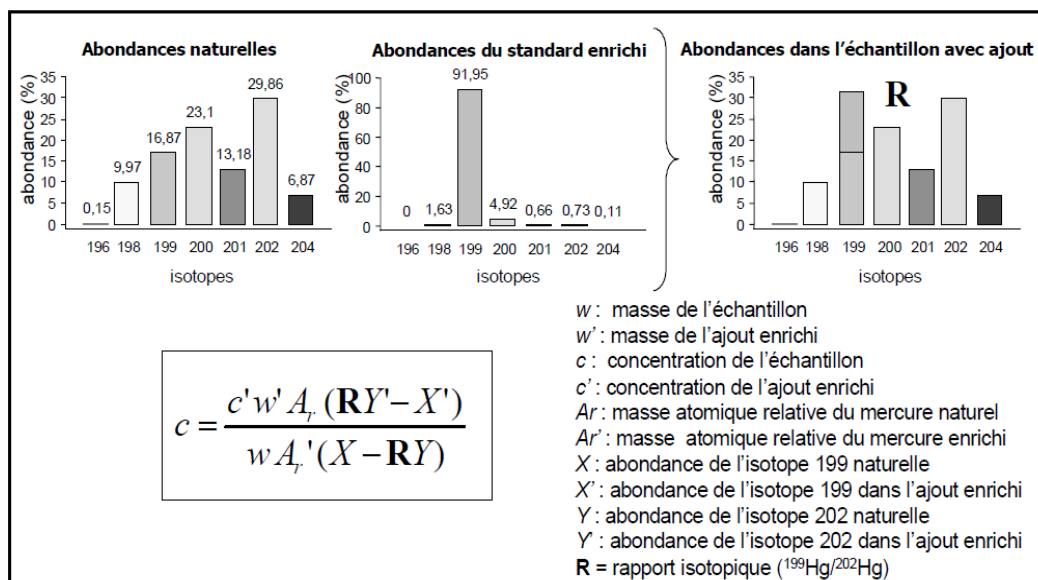


Figura 20 : Principio de la dilución isotópica del Hg.

Diferentes investigaciones han identificado, mediante el uso de ²⁰¹MMHg, que durante la etapa de la derivatización del procedimiento analítico, los analitos sufren transformaciones y degradaciones. Por ejemplo durante la derivatización por etilación de los extractos de tejidos biológicos, se formó Hg⁰, como producto de la degradación de ²⁰¹MMHg y reducción

del IHg (Martín-Doimeadios et al., 2002). Este mismo hecho fue observado durante la etapa de la derivatización de muestras de agua de mar, atribuyéndose la transformación de MMHg a Hg^0 a la presencia de Cl^- y Br^- (Demuth and Heumann, 2001). En el caso de los análisis de sedimentos se puede observar la formación de MM^{199}Hg a partir de ^{199}IHg (Hintelmann et al., 1995; Martín-Doimeadios et al., 2003). Finalmente una serie de experimentos de derivatización y adición de trazadores isotópicos, sistemáticamente realizados, determinó que el MMHg se produce durante la etapa de la derivatización y depende de la concentración de carbono orgánico y azufre (Martín-Doimeadios et al., 2003). Además este método permite corregir el efecto de las transformaciones abióticas.

1.15.3 Método de dilución isotópica de doble-spike (DSIDA)

En este método dos especies diferentes de mercurio ($^{201}\text{MMHg}$ y ^{199}IHg) cada una enriquecida con un isótopo diferente, son añadidas a una muestra, permitiendo cuantificar de manera simultánea diferentes especies de Hg (iHg y MMHg). Además el método permite observar las transformaciones e inter-conversiones que sufre el MMHg y IHg durante el análisis (Hintelmann et al., 1997; Monperrus et al., 2005b), (Figura 21).

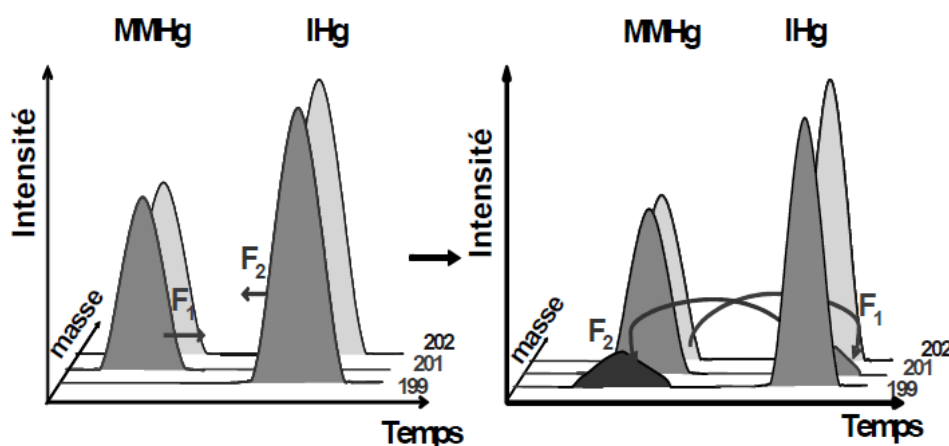


Figura 21 : Transformaciones de las especies a través de los trazadores isotópicos durante el análisis por dilución isotópica multi-spike. F1, degradación de $^{201}\text{MMHg}$ o demetilación y F2: formación de MMHg a partir de ^{199}IHg (Bouchet, 2009).

Sin embargo un estudio realizado por Monperrus et al. (2008), mostró que este tipo de reacciones solo se dan durante el análisis de tejidos biológicos y aguas naturales (Monperrus et al., 2008). Otros estudios realizados en sedimentos han demostrado que existen procesos de transformación abiótica (Figura 22).

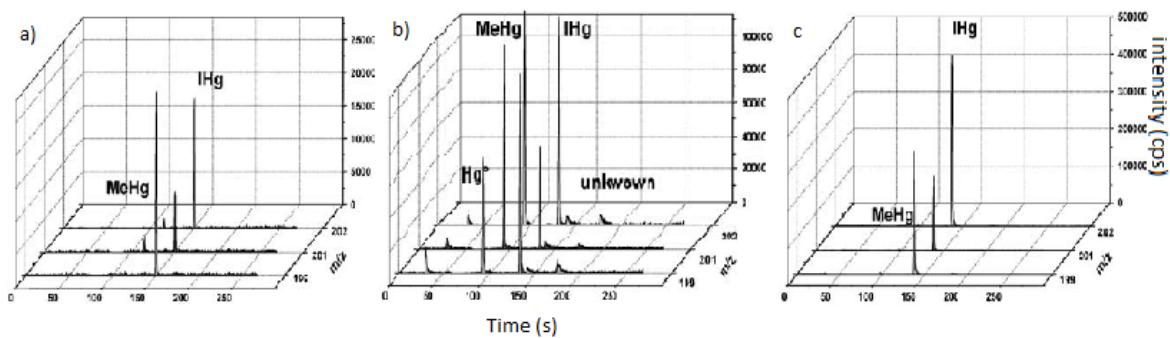


Figura 22 : Cromatogramas GC-ICPMS para la especiación de Hg después del doble dopaje con ^{199}IHg and $^{201}\text{MMHg}$ y etilación/propilación derivatización en (a) agua de mar (WI), (b) tejido de ostra (CRM 710), (c) sedimentos de estuario (IAEA 405) Monperrus et al., 2008.

1.15.4 Tratamiento de datos

Para el cálculo de las tasas de transformación de las especies y sus concentraciones, que corrigen los artefactos analíticos, se tienen cuatro métodos matemáticos.

El primer método fue presentado por Hintelmann and Evans en 1997, basado sobre un spike multiple y aplicado a la cuantificación de MMHg y IHg. Este método, denominado más tarde “Calculation of stable isotope concentrations” toma en cuenta los procesos opuestos de metilación y demetilación (Hintelmann and Evans, 1997).

El segundo modelo denominado “Speciated Isotope dilution Analysis” se debe a Kingston et al. (1998), el cual es aplicado a las transformaciones del cromo (interconversiones entre Cr^{3+} y Cr^{6+}) en las aguas y matrices mediambientales sólidas (Kingston et al., 1998). Sin embargo también fue utilizado en los análisis de especiación de Hg en suelos y sedimentos (Mizanur Rahman and Kingston, 2004).

El tercer método fue desarrollado por Ruiz Encinar et al. (2002), para la cuantificación de tres especies de butilestaño, basado en dos isótopos enriquecidos, el cual en su cálculo ha permitido corregir las degradaciones secuenciales del tributilestaño (Ruiz Encinar et al., 2002). Dos años después Rodríguez-Gonzalez et al., (2004) presentan este método mejorado, denominándolo “Multiple Species specific Isotope dilution analysis”, basado en tres especies enriquecidas que permite corregir nueve inter-conversiones potenciales (Rodríguez Gonzalez et al., 2004).

El cuarto y último método denominado “Isotope Pattern Deconvolution”, una herramienta potente, permite la cuantificación de las tasas de transformación mediante

cálculos matriciales (Meija et al., 2006), así como también sigue las transformaciones mediambientales (Rodríguez-Gonzalez et al., 2005).

Estos métodos fueron recientemente objeto de comparaciones profundas en términos de principios matemáticos (Meija et al., 2009) complejidad, precisión analítica, precisión y ventajas específicas (Rodríguez-González et al., 2007). Los desarrollos analíticos son casi-similares, cada uno de los métodos llegan a las mismas concentraciones después de las correcciones por degradación. Los factores de transformación son siempre ligeramente diferentes para dos pares de métodos. Finalmente los métodos de “Calculation of stable isotope concentrations” e “Isotope Pattern Deconvolution” aparentemente son los más adaptados tomando en cuenta el bajo o aceptable grado de complejidad matemática, con la posibilidad de extender a un número grande de especies e isótopos así como la corrección de errores instrumentales.

En la tabla 6, se muestra las diferentes técnicas de especiación de Hg empleando trazadores isotópicos en combinación con la dilución isotópica simple, que permite la corrección de las interconversiones entre especies.

Méthode	Volume ou masse	Echantillon	Espèces	Spike	Méthode de calcul	Reference
HPLC/CGC-ICP-IDMS	0,05 à 0,5 g selon la concentration	sédiments poissons foie cheveux algues	MMHg	SS-IDMS	CSIC	Hintelmann et al. (1997)
Eth-CGC-ICP-IDMS	0,5 g	sédiments	MMHg	SS-IDMS	CSIC	Hintelmann and Evans (1997)
CGC-ICP-IDMS		gas condensates	IHg MMHg DMHg	MS-IDMS		Snell et al. (2000)
Eth/Pr-CCT-CGC-ICP-IDMS	0,05 L	eaux douces et marines	IHg MMHg	SS-IDMS		Demuth and Heumann (2001)
Eth-CGC-ICP-IDMS	1 g	sédiment	MMHg	SS-IDMS	CSIC	Rodriguez-Martin Doimeadiso (2003)
HPLC-ICP-IDMS	50 - 300 mg	tissus biologiques	IHg MMHg	MS-IDMS	CSIC	Qvarnström and Frech (2002)
Pr-SPME-CGC-MS	0,25 g	poissons	MMHg	SS-IDMS		Yang et al. (2003)
HPLC-ICP-IDMS	1 g	sols sédiments	IHg MMHg	MS-IDMS	SIDA	Rahman and Kingston (2004)
Pr-CGC-ICP-IDMS	0,1 L	eaux douces et marines	IHg MMHg	MS-IDMS		Monperrus et al. (2005)
SEC-ICP-IDMS	0.75 mL	proteins	IHg MMHg	MS-IDMS		Shi et al. (2007)
Eth-CGC-ICP-IDMS	0,2 - 0,25 g	tissus biologiques	IHg MMHg	MS-IDMS	IPD	Point et al. (2007)
Pr/Eth-CGC-ICP-IDMS	0,5 g 0,1 L	sédiments tissus bio eaux	IHg MMHg	MS-IDMS	MS-SIDA	Monperrus et al. (2008)

Tabla 6. Técnicas de especiación de mercurio empleando trazadores isotópicos, en combinación con la dilución isotópica simple, (Bouchet, 2009).

Eth Etilación, Pr Propilación, HPLC High Performance Liquid Chromatography, CGC Capillary Gas Chromatography, SPME Solid Phase Micro Extraction, SEC Size Exclusion Chromatography, SS-IDMS Single Species Isotope Dilution Mass Spectrometry, MS-IDMS Multiple Spike IDMS.

CSIC Calculation of Stable Isotope Concentrations, SIDA Speciated Isotope Dilution Analysis, IPD Isotopic Pattern Deconvolution, MS-SIDA Multiple Spike SIDA.

1.16 Uso de trazadores isotópicos para investigaciones ambientales

Los trazadores enriquecidos isotópicamente se han convertido en una herramienta necesaria para seguir los procesos dinámicos de los contaminantes en el medio ambiente, los cuales están sujetos a mecanismos complejos e inversos como la adsorción/desorción (Hintelmann and Harris, 2004), metilación/demetilación (Rodríguez Martin-Doimeadios et al., 2004), oxidación/reducción (Whalin and Mason, 2006), asimilación/excreción (Rodríguez-Gonzalez et al., 2005) y transferencia entre diferentes compartamientos (sedimentos/agua, agua/aire, ..etc.). Una solución que contiene especies isotópicamente marcadas, a diferencia de una solución de composición isotópica natural, está enriquecida artificialmente con un determinado isótopo del mismo elemento.

Se puede entonces trazar la reactividad de las especies marcadas en cada compartimiento y pueden ser añadidas al medio bajo diferentes formas químicas. Las cantidades añadidas están en función de un objetivo inicial, de las transformaciones que se desea evaluar y de las concentraciones de las especies naturales presentes en la muestra. Para medios no contaminados generalmente las concentraciones de los isótopos marcados son bajas y relativamente más elevado cuando se pretende evaluar la respuesta de un medio donde se observa cambios medioambientales (Bouchet, 2009).

En suma este tipo de método nos ayudan comprender el ciclo biogeoquímico de un elemento a nivel molecular que puede ser un contaminante, las tasas y la cinética de su transformación natural en el medio ambiente, en tiempo presente y futuro.

1.16.1 Aproximaciones experimentales

Los métodos experimentales utilizan trazadores isotópicos en diferentes técnicas como incubaciones experimentales en laboratorio o en el sitio de estudio. La precisión sobre las

fracciones isotópicas es excelente y es posible trabajar con trazadores de concentraciones muy bajas, con el fin de no perturbar el sistema estudiado y detectar las transformaciones mínimas.

El empleo de un método experimental requiere conocer la concentración del isótopo enriquecido. La determinación de la concentración es realizada mediante el método de la dilución isotópica inversa. El principio es el mismo que el de la dilución isotópica pero en este caso, el estándar enriquecido es considerado como una muestra, al cual se añade una cantidad conocida de estándar natural que es considerado como trazador.

Luego en el protocolo analítico es importante tomar en cuenta que el estándar introducido esté en la misma forma química que las especies a ser determinadas y que su adición se realice lo más pronto posible. La proporción entre los dos isótopos considerados debe ser lo más próximo posible a 1 (uno) para una mejor precisión sobre la medida de la proporción isotópica (Rodríguez Martín-Doimeadios et al., 2002). Para obtener un equilibrio óptimo del trazador, debe ser mezclado homogéneamente con la muestra, esto se logra mediante agitación. Para evitar los problemas de contaminación durante los análisis se debe trabajar en condiciones “limpias” y se deben tener blancos analíticos de campo y laboratorio, para su corrección (Monperrus et al., 2004).

Por último se debe tener precaución de tener los instrumentos de separación de los analitos (GC) así como el instrumento de detección (ICPMS), debidamente optimizados.

1.16.2 Aplicaciones medioambientales

1.16.2.1 Método de la medición de Metilación/Demetilación y Reducción del Hg en los ecosistemas acuáticos.

El método de medición de las tasas de metilación y demetilación de Hg comienza en el sitio de estudio, o en sitios experimentales dentro de un laboratorio. El principio así como los cálculos están resumidos en la figura 23, para el caso de la metilación/demetilación del Hg. Una o varias especies marcadas isotópicamente ($^{201}\text{MMHg}$ para seguir la demetilación y el ^{199}IHg para seguir la metilación) son incubadas en las muestras bajo las mismas condiciones ambientales del sitio de estudio. Al final del periodo de incubación las conversiones de las especies pueden ser observadas modificando las fracciones isotópicas de cada especie introducida.

Mediante la ecuación matemática de “deconvolución” se realiza el cálculo de las tasas de metilación y de demetilación del Hg basadas en la conservación de las masas (Hintelmann and Evans, 1997).

En la parte analítica de este trabajo, que principalmente se enfoca en documentar y estudiar el ciclo biogeoquímico del Hg en los ecosistemas lacustres del Altiplano Boliviano (lago Uru-Uru), se han utilizado las metodologías y las herramientas antes descritas para el análisis de las distintas especies de Hg.

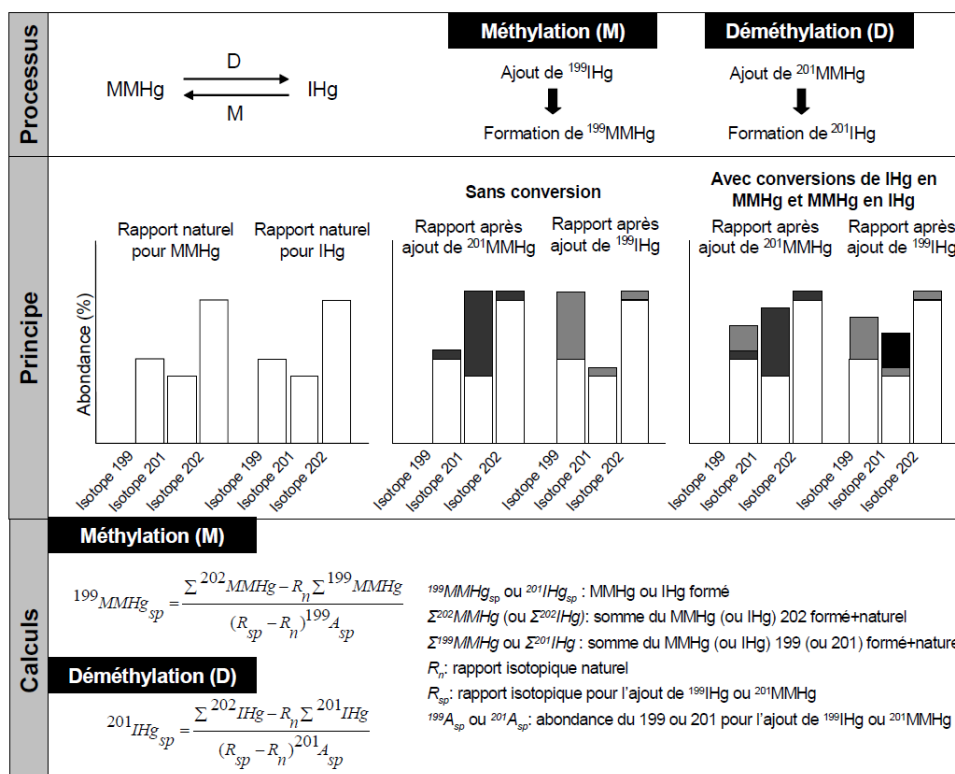


Figura 23: Principio de la utilización de trazadores isotópicos estables para la metilación/demetilación del Hg (Monperrus, 2004).

2. Sitio de estudio

2. Sitio de estudio

2.1 El Altiplano boliviano

El Altiplano boliviano es una planicie suavemente inclinada de norte a sur, la parte más elevada se encuentra en la ciudad de El Alto con una elevación de 4115 msnm, descendiendo a 3708 msnm en la ciudad de Oruro y la parte mas baja tiene una elevación de 3600 msnm en la ciudad de Uyuni. En esta región se encuentra la cuenca hidrográfica cerrada TPDS (Titicaca, Poopó, Desaguadero y Salares), conformada por el Lago Titicaca constituida por el lago Mayor y Menor que se encuentran en territorio Peruano y Boliviano respectivamente; el Río Desaguadero, los lagos Uru-Uru y Poopó y los salares de Coipasa y Uyuni los cuales se encuentran dentro del territorio Boliviano. Sus características climáticas han permitido una buena sedimentación del Cuaternario medio a superior en casi todo el Altiplano, donde existe una gran acumulación de material sedimentario volcánico, ignimbritas, tobas y coladas de lava de todo tipo (Montes de Oca, 1997). Esta región se caracteriza por un clima semiárido frío, con temperaturas anuales que disminuyen de norte a sur de 9 a -8°C, respectivamente. Durante el año se diferencian dos estaciones, verano e invierno, que corresponde a la época húmeda y a la época seca respectivamente. La época húmeda se caracteriza por las precipitaciones pluviales tropicales y las caídas de nieve.

Las condiciones climáticas de verano e invierno normalmente están reguladas por la circulación de las masas de aire de baja y alta presión y por la fuerte humedad producida por la evaporación del lago Titicaca. Sin embargo estos periodos marcados pueden variar debido a las corrientes de aire marinas (El Niño) provenientes del Océano Pacífico (Lenters and Cook, 1999; Garreaud et al., 2003).

Las precipitaciones pluviales durante la época húmeda constituyen el 51 % de los aportes hídricos anuales para el Norte y del 81% para la parte Sur de la región (Guyot et al., 1990). La pluviometría en el sistema TPDS presenta una fuerte gradiente de Norte a Sur, los valores máximos medidos varían de 800 a 1400 mm (medidos en el lago Titicaca) y los valores más bajos varían de 400 a 200 mm (medido en el salar de Coipasa) (Condom et al., 2004).

La cuenca Sur del Altiplano recibe un total de $39,4 \times 10^9 \text{ m}^3 \text{ año}^{-1}$ de agua, de los cuales el 4% son provenientes de la cuenca Norte mediante el Río Desaguadero (Coudrain et al., 2002). La pérdida del recurso hídrico en la cuenca se da principalmente por evaporación,

estimada en 1600 mm/año. Los vientos dominantes están orientados al Sud-oeste durante la época húmeda y al Oeste durante la época seca.

En esta región la disponibilidad de oxígeno en el aire es baja y son elevadas las incidencias de radiación solar y UV debido a la altitud (Blumthaler et al., 1992; Blumthaler et al., 1997; Zaratti et al., 2003) y su ubicación en la zona tropical a nivel global.

2.2 El lago Uru-Uru

El lago Uru-Uru está ubicado en la parte sud-oriental del Altiplano Boliviano, al sur de la ciudad de Oruro, a 3600 m de altitud. Al Este está limitado por la cordillera Oriental de los Andes y al Nor-Oeste por las serranías de Corque-Andamarca. Es un lago que forma parte de la cuenca endorreica del Altiplano (lago Titicaca, lago Poopó, río Desaguadero y Salares de Uyuni y Coipasa (TPDS)) de aproximadamente 54 años de edad.

El lago (Fig. 24) fue formado debido al desborde del río Desaguadero a la altura de la mina La Joya en 1955 (UNEP, 1996). El río Desaguadero se dividió en dos brazos, el brazo derecho continuo con el antiguo cauce del Río Desaguadero que desemboca en el lago Poopó y el brazo izquierdo, dirigido hacia el Sur-Este, inundó la planicie de Santo Tomás, constituyendo el lago Uru-Uru (PPO-9607, 1996). Posteriormente debajo del sitio Burguillos a unos kilómetros de la mina La Joya en la rama izquierda se realiza la toma de aguas, mediante un canal, hacia la planta de concentración de Itos/BAREX y hacia la laguna Tajarita. Esta laguna intermitente forma una llanura de inundación, la cual es desaguada en la época de lluvias hacia el lago Uru-Uru a través del río Tajarita (PPO-9607, 1996).

En suma en el Lago Uru-Uru las aguas del Río Desaguadero ingresan por la parte Nor-Oeste a través del río Tajarita, sobre la que se evacúa las aguas servidas de la mina San José activa; y por la parte Sud-Oeste del lago ingresa una de las ramas del brazo derecho del río Desaguadero al cual se debe la formación del lago.

Las aguas del río Tagarete y las aguas utilizadas por la minería, aguas arriba de la fundición de Vinto, también ingresan en el lago sin recibir ningún tratamiento previo. Las aguas del río Tagarete son una mezcla de aguas servidas de la ciudad de Oruro y aguas ácidas de ex mina San José, cuyas concentraciones de materia orgánica y metales pesados son muy elevadas. En años anteriores estas aguas eran tratadas en la planta de tratamiento de aguas residuales de Oruro, sin embargo esta planta dejó de funcionar el año 2005 hasta la fecha.

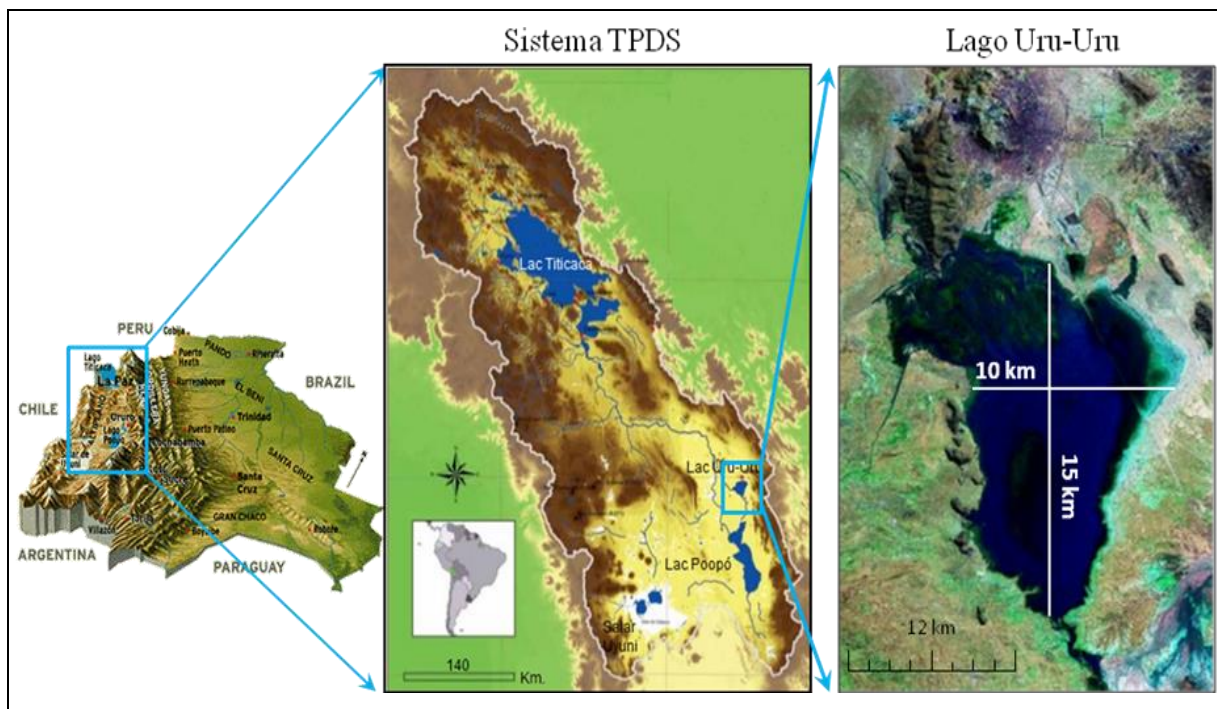


Figura 24 : Mapa del sitio de estudio mostrando el Sistema TPDS y el laago Uru-Uru.

En la parte sur del lago, las aguas drenadas del lago se mezclan con las del río Huanuni (también llamado Sora Sora). El río Huanuni nace en las faldas la cordillera oriental, en su recorrido recepciona de manera directa de los residuos no tratados de la mina Huanuni y a la altura de la población Huanuni las aguas residuales domésticas de esta zona urbana. Aguas abajo, al cauce del río Huanuni se suma las aguas del río Santa Fé, que son aguas de la mina Japo.

La superficie del lago varía de 120 a 350 km² (SNHN, 2001) así como su profundidad de 0,25 a 1 m en función de las estaciones del año (temporada húmeda de diciembre a finales de marzo y la temporada seca de abril a noviembre) y de eventos extremos como El Niño o la Niña. El lago presenta un contraste fuerte entre la parte Norte y Sur, con alta densidad de juncos (*Schoenoplectus totora*), hierba (*Ruppia*) y algas (*Characeae*) en la parte Sur (Tapia and Audry, 2013). Este ecosistema acuático alberga un gran número de especies endémicas de plantas, animales y peces, por lo que ha sido catalogado como sitio RAMSAR, al igual que el lago Poopó. Hoy en día muchas de estas especies han disminuido en número y otras han desaparecido debido a la fuerte presión antrópica y climática (Fig. 25).



Figura 25 : Lago Uru-Uru, sitio RAMSAR, sometido a fuertes presiones antrópicas mineras y urbanas. En la parte superior se observa al Canal de evacuación de aguas servidas de la ciudad de Oruro, Tagarete, que contiene altos contenidos de desechos orgánicos, materiales inertes (botellas pet, plásticos), desechos mineros sólidos y aguas ácidas. La figura contigua muestra a la mina San José, fuera de actividad, emitiendo aguas ácidas, las que llegan al lago Uru-Uru a través del Canal Tagarete. En la parte derecha superior se muestra la parte Norte del lago (contaminado) con la presencia de flamencos. En la parte inferior se observa las actividades mineras de la región; a continuación se observa a un habitante de la región portando especies de aves muertas a consecuencia de la contaminación del lago. Finalmente en la parte derecha inferior se muestra las diferentes especies de plantas acuáticas de la parte Sur del lago.

2.3 Geología y distribución de los yacimientos metalíferos

En el área de estudio se pueden observar tres sistemas orográficos diferentes: la Cordillera Oriental, la Cordillera Occidental y el Altiplano.

La Cordillera Oriental es una región montañosa poligénica de la edad del Ordovícico a Reciente, compuesta por lutitas, limolitas, calizas, areniscas, pizarras, y cuarcitas, las cuales rellenan una cuenca marina de una extensión aproximada 280,000 km² (Arce Burgoa, 2007). Estas rocas principalmente clásticas paleozoicas y metamórficas representan a los sedimentos de cuenca *flysch* que fueron depositados a lo largo del antiguo margen del Gondwana y previamente deformados en el Paleozoico Medio a Superior. Posteriormente fueron afectados por un rifting entre el Pérmico y Jurásico, solevantados a una gran elevación, plegados y

sobre-escurridos nuevamente durante la compresión andina, la que se habría iniciado en el Cretácico Superior (McQuarrie et al., 2005).

La Cordillera Occidental consiste en una cadena montañas volcánicas de 750 km de longitud y 40 km de ancho en promedio. La misma está conformada por flujos de lava y rocas piroclásticas de edad jurásica tardía y por secuencias marinas de areniscas y limolitas de edad cretácica temprana (Arce Burgoa, 2007). En Perú y Chile está dominada por flujos y rocas piroclásticas del Jurásico Superior-Cretácico Inferior y secuencias marinas de areniscas y limolitas. En el sector boliviano está dominada por estrato-volcanes andesíticos a dacíticos, formado a partir de aprox. 28 Ma, que definen el estrecho y principal arco magmático moderno de los Andes Centrales (Arce-Burgoa, 2009).

El Altiplano comprende una cuenca continental del antepaís, de longitud de 850 km y un ancho de 130 kilómetros aproximadamente. Geomorfológicamente, consiste de una extensa planicie, interrumpida por serranías aisladas (Arce Burgoa, 2007). Un acortamiento de la corteza, una rápida subsidencia y una simultánea sedimentación de 15 kilómetros que se produjeron durante la orogenia andina (USGS and GEOBOL, 1992). El relleno de cuenca deriva de la erosión de la Cordillera Occidental ocurrida en el Eoceno Superior-Oligoceno. Los sedimentos más jóvenes son el resultados del acortamiento en la Cordillera Oriental y Subandino durante el Neógeno (Horton et al., 2002).

En cuanto a la distribución de los yacimientos metalíferos, la parte boliviana de los Andes Centrales se caracteriza por la presencia de series variadas de yacimientos y de fajas metalogénicas, que incluyen los depósitos de cobre en estratos-rojos del Mioceno al Plioceno epitermales del Altiplano, Cordillera Occidental, faja estannífera del Mioceno; las fajas de oro-antimonio del Paleozoico, y las fajas de plomo-zinc no datadas de la Cordillera Oriental (Arce-Burgoa, 2009).

Los más de 80 depósitos de cobre se encuentran distribuidos a lo largo del Altiplano boliviano. Los depósitos de cobre más importante del Altiplano están asociados con diapiros de yeso que sirven como trampas reductoras locales (Arce-Burgoa, 2009).

La faja polimetálica del Altiplano y de la Cordillera Occidental se compone principalmente de depósitos epitermales de Ag-Au-Pb-Zn-Cu de intermedia y alta sulfuración y la zona metalífera enriquecida en Cu, Zn-Pb-(Ag), Pb-(Ag) y Ag-(Au) (Arce-Burgoa, 2009). En la zona epitermal de baja sulfuración se encuentran los distritos mineros de Pulacayo, Berenguela, Carangas, Salinas de Garci Mendoza, San Cristóbal, San Antonio de Lípez y

Jaquagua y en la zona epitermal de alta sulfuración los distritos mineros de Laurani en el Altiplano y La Española en la Cordillera Occidental (Arce-Burgoa, 2009).

La faja estannífera de Bolivia tiene una extensión de ~900 km en dirección Nor-Oeste a Norte-Sur en la Cordillera Oriental de Bolivia (Turneaure, 1960; Arce-Burgoa, 1990). Los filones estanníferos hidrotermales de alta ley (1-5% Sn), contienen cantidades importantes de Ag y W, asociados con granitos peraluminosos e intrusiones de pórfido de las edades del Pérmico Superior (Arce-Burgoa, 2009), asignables a la serie ilmenita (Sillitoe et al., 1998).

Los depósitos de la faja de estaño se divide en cuatro grupos: pórfidos-(Sn); rocas volcánicas-(Sn-Ag-Pb-Zn que incluye Ag-Sn); hospedados en rocas sedimentarias (Sn-Ag-Pb-Zn) que engloba a los yacimientos vetiformes polimetálicos de tipo boliviano; y los depósitos de estaño-polimetálicos (Sn-W-Au-Zn) relacionados con plutones (Arce-Burgoa, 2009). Los depósitos localizados en la mitad sur de la faja estannífera de Bolivia, incluyen vetas, vetillas, stockworks y menas diseminadas dentro de una variedad de rocas hospedantes. El depósito de Llallagua, que produjo más de 1 Mt de Sn, es el mayor depósito de Sn vetiforme descubierto a nivel mundial (Arce-Burgoa, 2009). Las vetas de Ag-Sn de tipo Bonanza están hospedadas en complejos de domos volcanogénicos de composición riódacítica, dacítica y cuarzo latítica (Cunningham et al., 1991).

La mineralización del distrito de Huanuni despliega una profunda zonación, con una paragénesis de estaño de alta ley en el centro (mina Huanuni), pasando sucesivamente a la zona W-Sb (mina Quimsa Coya) y la zona polimetálica Ag-Zn-Pb-Sn en el margen (minas María Francisca, Porvenir y Pepitos). En la zona central la casiterita es el principal mineral de interés económico, además están presentes otros minerales como pirita, marcasita, arsenopirita, esfalerita, calcopirita, estanita, pirrotina, bismutita, bismuto nativo, ferberita, galena, patchblenda. El elevado contenido de Hg en las colas, indica la presencia de minerales aún no identificados y la ganga incluye una serie de minerales (COMIBOL and Geological, 1995).

2.4 Actividades mineras en el sitio de estudio

La actividad minera en Oruro comienza con la ocupación española en 1557. Los españoles organizaron el territorio y la población en función de la explotación de la plata (Ag), además de originar pasivos ambientales en la cuenca del Poopó. A inicios del siglo XX, el auge del estaño impulso a Oruro como un gran centro minero y comercial (MMAyA, 2015). En 1952 las minas fueron nacionalizadas por el Estado boliviano, siendo la

Corporación Minera de Bolivia (COMIBOL) la encargada de la administración y explotación de las mismas (Michard, 2008). Subsecuentemente la hiperinflación de los años 80 y la promulgación del Decreto Supremo N° 21060 condujo al retiro paulatino de la COMIBOL de sus actividades de producción, reduciéndose a administrar las minas y darlas en concesión de contratos de arrendamiento o de riesgo compartido (Michard, 2008; MMAyA, 2015). Esta crisis dejó sin empleo a miles de trabajadores, los cuales al no encontrar fuentes laborales en las ciudades, donde habían migrado, decidieron retornar a las minas. Los trabajadores se organizaron en cooperativas, la única forma legal que les permitía explotar las minas a pesar de las bajísimas cotizaciones de los minerales. Varios centros mineros del Estado fueron entregados a las cooperativas mismas mediante contratos de arrendamiento (Michard, 2008). De un total de 879 contratos, 540 corresponden a las cooperativas mineras, asentadas sobre 139000 hectáreas de superficie, con una exportación minera nacional del 30% (MMAyA, 2015).

En la zona de estudio se distinguen dos distritos mineros importantes, el de San José que se encuentra ubicada al Nor-Oeste del lago Uru-Uru, en una isla de rocas complejas ígneas del Terciario (Avila Salinas, 1990), que corresponden a la Formación Silúrica de Uncía; y el de Huanuni ubicado al sud-este del lago Uru-Uru, dentro del cinturón de estaño Japo-Pucro de la Cordillera Este.

En el distrito minero de San José principalmente se explotaba Ag y Sn desde la época de la colonia, implementándose, años más tarde (1948), la explotación moderna de Zn, Ag y Pb. La actividad de la mina cesó en 1992 por razones económicas (Banks et al., 2002).

La actividad minera en el distrito minero de Huanuni data desde la colonia con la explotación de la plata. La extracción del Sn comenzó a fines del siglo XIX, continuando con la producción industrial a partir del año 1910. El depósito fue explotado por medio del método convencional subterráneo, con una capacidad de producción nominal de 1000 toneladas de mineral por día. En el año 1995, el concentrado de estaño alcanzó a 5000 y 8000 t día⁻¹, contando con una planta de tratamiento de mineral denominado Santa Elena. Según el diseño de la planta, el agua de proceso, las colas de flotación ricas en pirita, los lodos finos de los tanques y aguas ácidas de pH 4,0, eran descargadas regularmente sobre el río Huanuni (COMIBOL and Geological, 1995).

En el distrito de Huanuni los yacimientos de sus minerales están compuestos de minerales hidrotermales dominado por casiterita (SnO₂), el cual viene acompañado con varios

sulfo rodamiento plata, sales enriquecidas en W, Sb, Ag, Zn y Pb (Moricz et al., 2009). En todo el distrito minero la separación mineral se lleva a cabo mediante molienda del mineral y la recuperación del metal mediante el proceso de flotación (adición de xantato y ácido sulfúrico) en combinación con la separación física de los minerales de estaño y plata. Por último, residuos mineros son generalmente depositados directamente en los ríos limítrofes, generando drenajes ácidos mineros, pH por debajo de 2 en las aguas de río (Moricz et al., 2009). En el caso de la extracción de oro a gran escala (en su mayoría en el área de Oruro), estos son recuperados mediante cianuración y fundición. Sin embargo no se tiene información acerca de la técnica de recuperación de oro por actividades mineras artesanales a pequeña escala presentes en la zona.

3. Problemática

3. Problemática

Uno de los mayores problemas medioambientales en Bolivia es concerniente al impacto de la actividad minera en la región del Altiplano. A este ecosistema árido, de aguas superficiales escasas, se unen las sequías. Varios metales de interés comercial como oro (Au), plata (Ag), bismuto (Bi), cobre (Cu), zinc (Zn), wolfram (W), así como otros metales más específicos como el estaño (Sn) y el antimonio (Sb), contenidos en los yacimientos polimetálicos vienen siendo explotados a partir de la época colonial. Sin embargo estas actividades son realizadas de manera descontrolada. Grandes volúmenes de desechos mineros, colas y aguas de proceso así como efluentes ácidos sin tratamiento son liberadas sobre los ríos sin ningún tratamiento (COMIBOL and Geological, 1995), constituyendo una fuente remanente de contaminación para la población y las aguas superficiales de la zona (García Moreno, 2006; Goix, 2012). A pesar de que el Estado boliviano cuenta con normas para el cuidado del medio ambiente, enmarcado dentro de la Ley 1333, muy poco ha sido implementado políticas gubernamentales que mitiguen la contaminación producida.

En los últimos años el uso del agua ha dado lugar al enfrentamiento entre mineros y comunidades dedicadas a la agricultura, quienes se encuentran en dificultad para encontrar fuentes de agua libre de metales pesados. Al mismo tiempo la minería demanda más agua, presenta dificultades tecnológicas y económicas para introducir tecnologías limpias, mientras continúa con la contaminación de los cuerpos de agua (MMAyA, 2015).

Un claro ejemplo de ecosistema acuático impactado por la actividad minera y urbana es el lago Uru-Uru. El lago Uru-Uru, una zona húmeda extremadamente frágil que abriga fauna y flora variada, se comporta como un gran reactor biogeoquímico caracterizado de Norte a Sur, por gradientes en la conductividad (8,7-5,0 mS cm⁻¹), materia orgánica (22,0-13,4 mg L⁻¹) y oxígeno disuelto (4,6-5,1 mg L⁻¹) concentración que ha sido medida con respecto a la saturación de oxígeno del aire in situ. Los mencionados valores corresponden a 2 y 4 mg L⁻¹ a nivel del mar (siendo la tasa de saturación del 60% en O₂ a 3800 m, mientras que a nivel del mar se tiene ~100% de saturación en O₂). La profundidad varía entre 0,2 y 0,7 m. La influencia de la actividad minera y urbana no controladas acoplada a los efectos climáticos y el funcionamiento bioquímico poco conocido de este ecosistema de altitud, constituyen tres factores potenciales que pueden explicar la pérdida masiva de la biodiversidad y la productividad observada (desaparición de especies piscícolas endémicas y disminución de la actividad de la pesca: 3380 t año⁻¹ (1990) a 550 t año⁻¹ (1992) (PPO-9612, 1996).

Estudios realizados dentro del Proyecto Piloto Oruro mostraron una acumulación de Hg en las totoras (*Scirpus californicus*), en los sedimentos (PPO-9607, 1996), y en los hígados de los flamencos (0,1-0,6 mg Kg⁻¹) del lago Uru-Uru (PPO-9612, 1996). La acumulación de Hg en los peces también se hace evidente. El estudio realizado por Molina et al., (2012), muestra que los peces del lago Uru-Uru y Poopó, contienen importantes concentraciones de Hg (Molina et al., 2012), que si bien no sobrepasan los niveles límite dados por la OMS, constituyen una potencial fuente de contaminación por Hg para la población consumidora de pescado y la fauna silvestre. La presencia de Hg en los flamencos y peces indica que el Hg presente en el lago, luego de su transformación al compuesto neurotóxico MMHg, se ha bioacumulado y subsecuentemente biomagnificado.

De estos estudios surgen las preguntas sobre: (i) la fuente del Hg, los procesos bioquímicos que controlan su movilidad y los procesos de interacción entre compartimientos sedimentarios, agua, plantas y sistemas tróficos en un ecosistema de gradientes fisicoquímicas importantes; (ii) los procesos que ocurren en los ecosistemas de altitud para la producción de MMHg. Para dar respuesta a estas preguntas, en el presente trabajo se ha utilizado tecnologías analíticas modernas (GC-ICP-MS) y métodos analíticos nuevos.

La producción de MMHg es un proceso clave que dirige la bioacumulación del Hg en la cadena alimentaria y los procesos de metilación y demetilación son los mayores patrones de transformación que regulan la producción neta de MMHg.

4. Objetivos de la tesis

4. Objetivos de la tesis

El presente estudio realizado en el lago Uru-Uru, ecosistema acuático que se encuentra en una región de condiciones ambientales extremas y sometido a fuertes presiones antropogénicas mineras y urbanas, tiene como objetivos:

- Documentar los niveles de concentración de las diferentes especies de Hg, metales, metaloides (tales como Fe, Mn, Sb, Ti, W) y elementos mayoritarios en diferentes matrices del lago (aguas, sedimentos y aguas intersticiales), con respecto a cambios temporales de la región (época seca y húmeda) y espaciales del lago (transecto Norte-Sur).
- En base a los resultados obtenidos en el objetivo precedente estudiar los efectos de los efluentes mineros y urbanos, sobre los niveles de distribución de monometilmercurio en el lago poco profundo Uru-Uru.
- Documentar la reactividad y la transformación de las especies de Hg y su flujo entre los diferentes compartimientos (agua/sedimento/material particulado/agregados bio-orgánicos flotantes/perifiton de totoras) respecto a cambios temporales (época húmeda y seca) y espaciales (sitios Norte y Sur). Para este objetivo son determinados los potenciales de metilación (M) y demetilación (D) en los diferentes compartimientos, mediante experimentos, *in situ*, en los que se utiliza trazadores isotópicos estables enriquecidos en ^{199}IHg y MM^{201}Hg .

5. Capítulo II: Synergistic effects of mining and urban effluents on the level and distribution of methylHg in a shallow aquatic ecosystem of the Bolivian Altiplano

Introducción

En los sitios Norte (contaminado) y Sur (no contaminado) de lago Uru-Uru se observaron altos porcentajes de MMHg (23-68%) en forma disuelta respecto del HgT. En este ecosistema las incidencias de radiación solar y UV son las más elevadas a nivel terrestre, pero parece que su efecto es limitado para una efectiva descomposición del MMHg y el consecuente proceso de fotoreducción del Hg²⁺. Por lo que se piensa que deben existir otros patrones u otros factores que rigen y regulan el comportamiento del MMHg en la columna de agua.

Por otro lado, las diferentes formas mercuriales (especies), medidas a lo largo del lago Uru-Uru, pone en evidencia la alta reactividad de este elemento. Sin embargo aún se desconoce su fuente, la cual probablemente podría ser de origen antropogénico o natural o ambas. Por lo que en este capítulo se aborda el estudio de la influencia de las descargas de metales pesados, flujos ácidos mineros y flujos urbanos con altos contenidos de materia orgánica, sobre la distribución del mercurio en la columna de agua del ecosistema acuático del Uru-Uru.

Para este estudio se ha realizado el seguimiento espacio-temporal de la distribución de las diferentes especies de Hg, metales pesados, metaloides y elementos mayoritarios en las aguas, aguas intersticiales y sedimentos del lago. Los resultados obtenidos muestran altas concentraciones de Hg, metales pesados, metaloides en los sedimentos y aguas colectados a lo largo del transecto del lago y en la confluencia de las aguas del lago con los efluentes de mina, aguas abajo del lago. Correlaciones entre el Hg y elementos típicos mineros, indican que la principal fuente de Hg está relacionada con las actividades mineras. Los altos porcentajes de MMHg en forma disuelta se llegan a ~50% en promedio a lo largo del transecto del lago y en las dos épocas del año. En condiciones de pH alcalino probablemente la alta disponibilidad de MMHg esté relacionada con la formación de complejos estables cuyos ligandos podrían ser de naturaleza orgánica o que se encuentre en forma de coloides, limitando la fotoreducción del Hg. Los coeficientes de partición y flujos difusivos calculados en base a las concentraciones de MMHg y Hg ambos en forma disuelta, en las aguas intersticiales, sedimentos y columna de agua muestran que durante la época seca existe un aporte significativo de MMHg desde la capa superficial de los sedimentos hacia la columna de agua, pero no significativo para la época húmeda. Es probable que en esta época existan

aportes adicionales de MMHg en la columna de agua del lago desde los suelos y/o aportes debidos a fenómenos de bioturbación y advección física que ocurren en el medio.

Synergistic effects of mining and urban effluents on the level and distribution of methylHg in a shallow aquatic ecosystem of the Bolivian Altiplano

L. Alanoca^{1,2}, S. Guédron^{*2,3,4}, D. Amouroux^{5,6}, S. Audry¹, M. Monperrus⁵, E. Tessier⁵, S. Goix¹, D. Acha⁶, P. Seyler¹ and D. Point^{1,6}.

¹Géosciences Environnement Toulouse, UMR5563 - IRD UR 234, Université Paul Sabatier, 14 Avenue Edouard Belin 31400 Toulouse, France.

²Laboratorio de Hidroquímica - Instituto de Investigaciones Químicas - Universidad Mayor de San Andres, Campus Universitario de Cota Cota, casilla 3161, La Paz, Bolivia.

³Institut de Recherche pour le Développement, ISTERre– UMR 5275, F-38041 Grenoble, France.

⁴Université Grenoble Alpes, Institut des Sciences de la Terre (ISTERre), F-38041 Grenoble, France.

⁵Laboratoire de Chimie Analytique Bio-inorganique et Environnement (LCABIE), Institut des Sciences Analytiques et de Physico-Chimie pour l'Environnement et les Matériaux, IPREM UMR 5254 CNRS - Université de Pau et des Pays de l'Adour, Hélioparc Pau Pyrénées, 2, av. P. Angot, 64053 Pau cedex 9, France.

⁶Laboratorio de Calidad Ambiental (LCA) – Instituto de Ecología - Universidad Mayor de San Andres, Campus Universitario de Cota Cota, casilla 3161, La Paz, Bolivia.

***corresponding author:**

S. Guédron

Email: stephane.guedron@ird.fr

Abstract

Lake Uru-Uru (3686 m a.s.l.) located on the Bolivian altiplano region receives both mining effluents and urban wastewater discharges originating from surrounding local cities under rapid development.

We followed the spatio-temporal distribution of different Hg (Hg) compounds and other metal(oid)s (e.g., Fe, Mn, Sb, Ti and W) in both water and sediments during the wet and dry seasons along a North-South transect of this shallow lake system. Along the transect, highest Hg and metal(oid) concentrations in both water and sediments were found downstream the confluences with mining effluents. Although a dilution effect was found for major elements during the wet season, mean Hg and metal(oid) concentrations did not significantly differ from the dry season due to the rise of acid mine drainage (AMD) inputs into the lake from upstream mining areas. In particular, high filtered ($< 0.45\mu\text{m}$) mono-methylHg (MMHg) concentrations ($0.69 \pm 0.47 \text{ ng L}^{-1}$) were measured in surface water representing $49 \pm 11\%$ of the total filtered Hg concentrations (THg_F) for both seasons. Enhanced MMHg lability in relation with the water alkalinity, coupled with abundant organic ligands and colloids (especially for downstream mining effluents), are likely favoring factors for Hg methylation, while inhibiting Hg photodegradation. Lake sediments were identified as the major source of MMHg for the shallow water column. During the dry season, diffusive fluxes were estimated to $227 \text{ ng m}^{-2} \text{ day}^{-1}$ for MMHg. This contribution was found negligible during the wet season due to the probable shift of the redox front downwards in the sediment. During the wet season, the results obtained suggest that various sources such as mining effluents and benthic or macrophytic biofilms significantly contribute to MMHg inputs in the water column.

This work demonstrates the seasonally dependent synergistic effect of AMD and urban effluents on shallow productive and evaporative high altitude lake ecosystems promoting the formation of natural organometallic toxins like MMHg in the water column.

5.1 Introduction

As early as the sixteenth century, major expeditions were searching for gold, silver and other precious metals in the “New World” (Nriagu, 1994c). Amongst countries occupied by the Spanish, Bolivia became one of the major mining center of the new world. In particular, the region of Oruro-Potosí in the Bolivian Altiplano, being one of the world's largest silver resource (Garcia-Guinea and Harffy, 1998; Sillitoe et al., 1998), was the largest mining region occupied by the Spanish monarchy since 1545. Currently, Bolivian mining activities are essentially cooperative and semi-industrial with approximately 60,000 miners, representing almost 90% of national mining employment (Michard, 2008). These mining activities are mostly dedicated to silver (Ag), gold (Au), bismuth (Bi), copper (Cu), zinc (Zn), tungsten (W) and more specifically for tin (Sn) and antimony (Sb) extraction (Montes de Oca, 1989).

From these extractive activities, important volumes of mine tailing and acid waters from ore-washing operations are deposited or discharged in the surrounding mining soils or directly in rivers. Downstream the Oruro mining region, Lakes Uru-Uru and Poopó are both receiving acid mine drainage (AMD) from which results an important contamination of surface water and sediments (Garcia Moreno, 2006; Rötting et al., 2009; Tapia et al., 2012). In addition, elevated Hg concentrations, higher than $0.5 \mu\text{g g}^{-1}$, have been reported in fish and bird (Garitano-Zavala et al., 2010; Molina et al., 2012).

In many mining districts around the world, Hg contamination have been highlighted as a major concern for population since Hg is known to bioaccumulate in trophic chain and can cause major health disease specifically under its organometallic form (i.e., monomethylHg – MMHg) which can induce nervous system dysfunction (Lebel et al., 1996; Bose-O'Reilly et al., 2008; Benefice et al., 2010). Very little information is available concerning the speciation and reactivity of Hg compounds in such high altitude lakes impacted by mining activities and the associated biogeochemistry of this contaminant. Indeed, MMHg is known to be produced under suboxic to anoxic environments and favored by microorganisms such as sulfate and iron reducing bacteria (Benoit et al., 2002; Fitzgerald et al., 2014), and/or from abiotic pathways (Weber, 1993). Important to note is that MMHg concentrations reflect a balance between the production and degradation pathways, with MMHg degradation being microbially mediated (e.g., oxidative and reductive demethylation) or resulting from photodegradation (Fitzgerald et al., 2007; Lin et al., 2012). High altitude lake ecosystems (above 3700 m a.s.l.) from the Bolivian Altiplano region, combine several of these conditions since their sedimentary substratum is mainly composed of sulfate-rich alluvium (Tapia and Audry, 2013) and, lower dissolved oxygen contents. Preliminary field investigations (Alanoca

et al., 2016) conducted in Lake Uru-Uru ecosystem using enriched stable isotopes revealed significant methylation and demethylation transformation rates. The sediment compartment was found to represent a major source of MMHg formation (2.0 to 19.7 ng MMHg g⁻¹ d⁻¹), although floating organic aggregates were also found to promote MMHg formation. Periphyton associated with aquatic Totorá plants (*Schoenoplectus totora*) was found to play a role in MMHg degradation. Strong diurnal and seasonal MMHg variations were also reported suggesting that temperature and oxygen production/respiration gradients occurring in high altitude lake systems of the Bolivian Altiplano region are likely key parameters influencing Hg biogeochemistry.

In this study, we discuss the particles reactivity and partition of different Hg compounds (i.e., Hg, MMHg, dimethyl-Hg - DMHg and dissolved gaseous Hg - DGM), along with various metals and metalloids concentration, along a North-South transect across Lake Uru-Uru during the dry and wet seasons. The considered compartments were the filtered water phase, suspended solids, sediments and pore-waters. This complementary and dedicated level of measurements across a contamination gradient provides relevant information to document the spatio-temporal reactivity and fate of Hg in this high altitude lake ecosystem with regard to changes in physico-chemical parameters, carrier phases (dissolved ligands and solid particles), and Hg contamination sources.

5.2 Materials and methods

5.2.1 Study area

5.2.1.2 *The Bolivian Altiplano: general settings*

The Bolivian Altiplano region is a high altitude plateau (height average ~ 3750 m. a.s.l.) located in the west-central South America. The Altiplano is an endorheic basin lying in the central Andes, occupying parts of northern Chile and Argentina, western Bolivia and southern Peru.

The climate is semi-arid to arid, with mean annual temperatures that vary from 3°C near the western mountain range to 12°C near Lake Titicaca; and total annual rainfall that ranges between less than 200 mm to the south west to 1400 mm near and over Lake Titicaca (Thompson et al., 1985; Condom et al., 2004). The diurnal cycle of temperature is very wide, with maximum temperatures in the order of 12 to 24°C and the minimum in the order of -20 to 10°C. The coldest temperatures occur during the months of June and July, which correspond to the Austral winter (Thompson et al., 1985; Baker and Fritz, 2015). The seasonal cycle of rainfall is marked, with the rainy season concentrated between December and March.

Due to its high altitude, the atmospheric pressure (and oxygen content) are low while solar radiations are high. The south part of the Altiplano basin receives annually $39.4 \cdot 10^9 \text{ m}^3$ of water from which 4 % originated from the Rio Desaguadero (Coudrain et al., 2002). Evaporation is estimated to be $\sim 1665 \text{ mm year}^{-1}$ (CAMINAR, 2008).

5.2.1.2 Lake Uru-Uru

Lake Uru-Uru is located in the central part of the Bolivian Altiplano region (Fig. 26), in the southern part of Oruro city where numerous mining and smelting activities are concentrated. This aquatic ecosystem is a part of the TDPS (Titicaca-Desaguadero-Poopó-Salar) watershed and is a man-made reservoir resulting from the creation of a dam which allowed the filling of the Santo Tomas plain with the Rio Desaguadero waters originating from the Lake Titicaca. Lake Uru-Uru surface area and depth vary between 120 and 350 km^2 and 0.25 to 1 m, respectively, as function of the dry and wet seasons. A strong contrast exists between the northern and southern parts of the lake with high density of sedge (*Schoenoplectustotora*), grass (*Ruppia*) and algae (*Characeae*) in the southern part compared to the north (Tapia and Audry, 2013). A previous investigation (Alanoca et al., 2016) studied 24h biogeochemical cycles and demonstrated that diurnal variability (e.g., temperature, oxygen) in Lake Uru-Uru can overwhelm seasonal variations, with the strongest diurnal gradients being observed during the dry season.

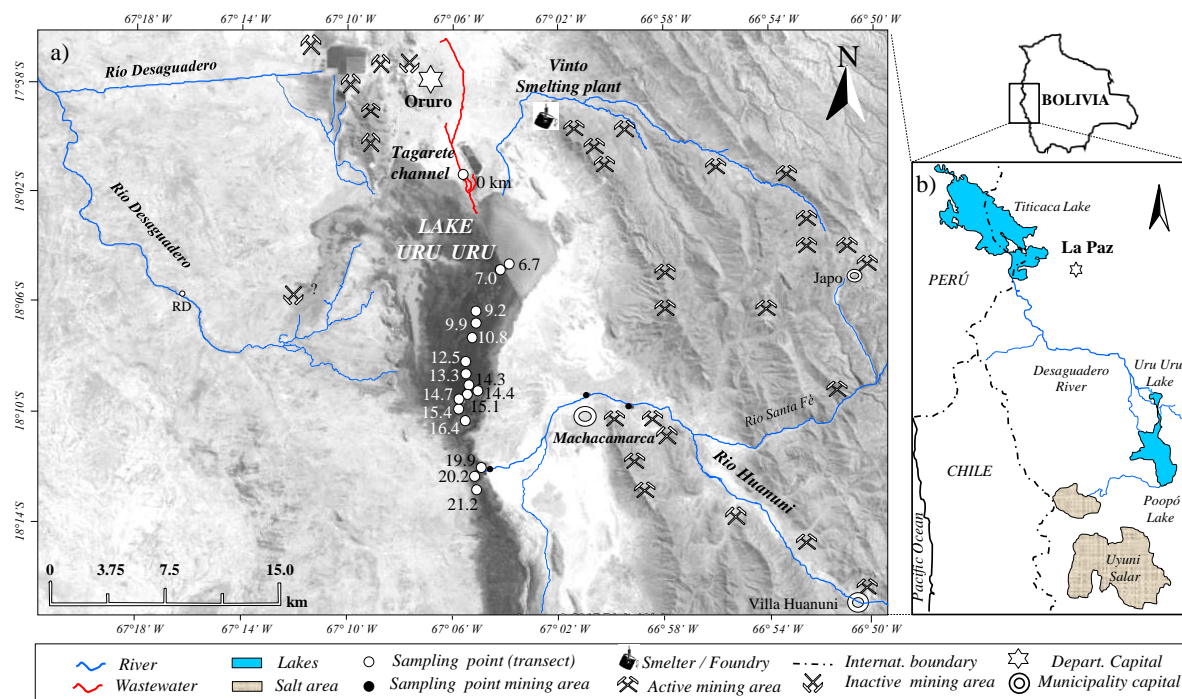


Figure 26 : Map of Lake Uru-Uru in the Bolivian Altiplano, with sampling locations (white circles) along the transect (presented as kilometric points from the Tagarete wastewater channel). The main rivers affected by mining or urban effluents are also reported.

5.2.1.3 Historical and current anthropogenic (urban and mining) activities in the watershed

Mining is the major activity and source of revenue for the local inhabitants of the region of Oruro (Quiroga, 2002). The region is located in the Bolivian tin-silver belt deposits which are associated typically with felsic volcanic domes of broadly rhyodacitic composition. These fractionated igneous rocks are assignable to ilmenite series (Sillitoe et al., 1998). The tin-silver deposits are characteristically of vein type, with the ore comprising polymetallic massive sulphides accompanied by only relatively minor amounts of gangue. Well-developed metal zoning typifies many of the vein systems, with base metals and silver tending to increase both upwards and outwards at the expense of tin, bismuth and tungsten (Turneure, 1960; Kelly and Turneure, 1970).

Río Desaguadero, the main tributary of Lake Uru-Uru, is entering the lake in (i) the North-East part where it drains the active San José mine area and (ii) in the western part; an area of historical mining (Tapia et al., 2012) (See Fig.1). In the northern part of the Lake, Río Tagarete, a second tributary, drains the untreated wastewater from the city of Oruro. A third tributary, located in the North East, flows through the Vinto (Sb-Sn) smelting area and the mining region of the San José mine (Garcia Moreno, 2006). Finally, in the southern part of the Lake, the Huanuni River drains the Huanuni mining area (receiving direct dumping of the untreated tailings of the state-owned Huanuni Sn mine) and also receives domestic sewage from this urban area (Fig. 1). Dominant mineral deposits are composed of hydrothermal ores dominated by cassiterite (SnO_2) accompanied with various silver bearing sulfo-salts enriched in W, Sb, Ag, Zn and Pb (Moricz et al., 2009). In the entire mining district, mineral separation is performed by grinding the ore and metal extraction is performed according to the flotation process (addition of chemical flotation agent (xanthate) and sulfuric acid) combined with physical separation of the tin and silver minerals from ore. Finally, mine tailings are generally deposited into the bordering rivers generating AMD leading to the drop of river pH below 2 (Moricz et al., 2009). In the case of gold extraction (mostly in the Oruro city area), Au is mostly reported to be recovered by cyanidation and smelting (Garcia-Guinea and Harffy, 1998). However, many artisanal small-scale gold mining activities are present in the area and their processes are barely documented. Although historical mining activities were known to use large amounts of Hg for Ag extraction, it is unclear if current mining processes (including Ag and Au extraction) use Hg for metal extractions or if Hg originates from the ores (or both).

5.2.2 Sample strategy

5.2.2.1 Sampling Strategy

Surface water and surface sediments (0-2 cm) were collected in the late dry season (October 2010) and wet (May 2011) to characterize the major hydrological contrast, along a North-South transect in the Lake Uru-Uru and its tributaries (i.e., Río Desaguadero, El Choro and Río Huanuni). Two additional samples were collected in the northern part of Lake Poopó (Fig. 1). All samples were collected between 12:00 and 15:00 PM (the period of maximum insolation), for a meaningful comparison of samples collected along the transect to minimize the confounding effect of diurnal variability (Alanoca et al., 2016).

5.2.2.2 Sample conditioning

All details for the sampling and analytical procedure are described in Alanoca et al., (2016a) (Alanoca et al., 2016) and supplementary information (SI.1). Briefly, all filtered and unfiltered surface water samples for Hg speciation were collected in acid-washed FEP Teflon containers (Cossa et al., 1995), filtered with 0.45- μm PVDF filters (Millipore, Bedford, MA, USA) and acidified with HCl (1 %, v/v, Ultrex grade - Baker). Besides, filtered subsamples for metals and cations were stored in acid washed Polypropylene 15 mL vials and acidified with HNO₃ (1% v/v, Ultrex grade - Baker). Filtered subsamples for dissolved organic carbon (DOC), were stored in 40-ml pre-burnt (550°C) borosilicate vials and acidified with H₃PO₄ bi-distilled to 2% v/v. Filtered samples for anions were stored in unwashed 15 mL Polypropylene and stored frozen (-20°C) until analysis. Physico-chemical parameters (temperature, pH, conductivity, dissolved O₂) were measured at each site in parallel to water samplings.

Surface sediments were recovered using a Large Bore Interface Corer (Aquatic Research Instruments®) equipped with a polycarbonate core tube (60 cm length, 10 cm inner diameter). Surface sediment from cores were subsequently extruded, sliced with an acid cleaned plastic cutter and immediately collected in acid cleaned 200 mL propylene centrifuge vials, N₂-flushed and centrifuged at 4000 r.p.m. for 20 min. For each sample, the supernatant (i.e. porewater) was divided into three aliquots for nutrient, anions and metal/metalloids analyses.

5.2.3 Analytical methods

All details for QA/QC are given in SI.1.

5.2.3.1 Surface and pore water analysis

55 elements (Ca, Li, Be, Na, Mg, Al, P, K, Ti, V, Cr, Mn, Fe, Co, Ni, Cu, Zn, As, Se, Sr, Mo, Ag, Cd, Sn, Sb, Pb, U, B, Si, Ga, Ge, Rb, Nb, In, Te, Cs, Ba, La, Ce, Pr, Nd, Sm, Gd, Dy, Ho, Er, Tm, Yb, Lu, Hf, Ta, W, Tl, Th and Eu) were determined by means of atomic absorption

spectroscopy for major elements, and by means of ICP-MS (quadrupole 7000ce, Agilent Technologies) for trace elements, which enabled multiple elements to be determined in the filtered water samples. Anions were determined by means of ionic chromatography, using a Dionex ICS 2000 chromatograph. The detection limit (DLs) for SO_4^{2-} , Cl^- , and NO_3^{1-} , was 0.02, 0.04 and 0.002 mg L^{-1} , respectively, with reproducibility of 5%. DOC was determined by means of the Shimadzu TOC-VCSN organic carbon analyzer. Organic and inorganic carbon and sulfur in sediments were analyzed by means of a Horiba Jobin Yvon Emia-320v C/S analyzer.

Hg compounds analyses in water were performed by capillary gas chromatography connected to an inductively coupled plasma mass spectrometer (GC-ICPMS, X Series II, Thermo Fisher). Analytical set-up and methodology for the GC-ICPMS for Hg speciation analysis by species specific isotope dilution are described in (Monperrus et al., 2005b; Monperrus et al., 2008) (SI.1). Gaseous Hg species (i.e., dissolved gaseous Hg (DGM) and dimethylHg (DMHg)) were purged (generally within ~0.5 h after sampling) and collected on gold-coated sand (Brooks Rand®) and activated charcoal (Carbotrap®, B, mesh 20-40, Sigma-Aldrich) traps, respectively. The analysis of the gaseous Hg species (i.e. Hg° and DMHg) was carried out by cryogenic trapping gas chromatography connected to an inductively coupled plasma mass spectrometer (CT-GC-ICPMS) according to previous works (Bouchet et al., 2011; Bouchet et al., 2013).

5.2.3.2 Sediment analysis

Solid samples (sediment, and suspended solids) were freeze-dried and crushed to obtain a size smaller than 63 μm for elemental analysis. Total particulate organic carbon ([TOC]) concentrations were determined from the dry combustion of solid powder sample aliquots using a C/S Horiba Jobin Yvon Emia-320v auto-analyzer.

Sediment digestion was performed using ~ 200 mg of freeze-dried sediment digested in a mixture of HCl (2 ml, Ultrex grade - Baker), HNO_3 (9 ml, Ultrex grade - Baker) and HF (3 ml, Ultrex grade - Baker) in a microwave system (CEM Mars System 5 model). Digestion solutions were then diluted and subsequently measured by ICP-MS (model 7500ce, Agilent Technologies) to assess the total amount of metals (Al, Ca, Mg, Fe, Cr, Cd, As, Cu, Mn, Ni, Pb, Se, and Zn) in each sediment samples. Accuracy was checked using a certified reference material (CRM), namely PACS-2 (National Research Council of Canada) for QA/QC (give replicates and values are given in table in SI).

Hg compounds analysis in sediments were also performed by GC-ICPMS and are described elsewhere (Monperrus et al., 2008). Quantification of Hg species was carried out using

species specific isotope dilution and by applying isotope pattern deconvolution for data treatment.

Total particulate Hg concentrations ($[THg_P]$) was obtained by summing both MMHg and IHg. Concentrations obtained for repeated analyses of CRMs never exceeded the published range of concentrations (IAEA 405: $818 \pm 17 \text{ ng g}^{-1}$ and $5.29 \pm 0.24 \text{ ng g}^{-1}$ for THg and MMHg, respectively). The detection limits, were 0.20 and 0.01 ng g^{-1} , for THg and MMHg, respectively.

5.2.4 Statistical treatment and data presentation

Correlation coefficient (R) and p values are reported in the manuscript for the computed linear regressions. Pair wise slope comparisons for regressions built from individual studies were realized with a t test. We also used non-parametric tests, the Mann-Whitney rank sum test (U test), or the Kruskal-Wallis one way analysis of variance on ranks (H test), to compare two, or more than two sets of data, respectively, and pair wise multiple comparison according to Dunn's method to isolate the set or sets that differed from the others. Linear regressions were performed only when normality test, constant variance test and alpha power of the performed regression (α test, $p > 0.8$) passed. When datasets did not follow a Normal distribution, we performed a Spearman rank order correlation test (Rho test). All statistical analyses were performed using the package Sigmastat® (Systat Software Inc.) or R software (R.2.14.2). All data are presented in the manuscript and supplementary information 2 (S.I.2) as mean \pm SD and complete data set is presented in supplementary information 3 (S.I.3).

5.3 Results and discussion

5.3.1 Geochemistry and MMHg content in Lake Uru-Uru

5.3.1.1 Eutrophication in high altitude ecosystem context

The water cycle of this high altitude endorheic lake system is dominated by evaporation due high solar radiation which concentrates salts in the lake as evidenced by its high electrical conductivity ($\chi = 5.5 \pm 1.5$ and $3.6 \pm 2.4 \text{ mS cm}^{-1}$ in the dry and wet season, respectively). Lake Uru-Uru water is characterized by alkaline conditions over the year (pH mean \pm SD = 8.3 ± 0.6) with a predominance of sulfate (7.4 ± 2.3 and $3.4 \pm 3.0 \text{ g L}^{-1}$, for the dry and wet seasons, respectively) which originates from the sulfate rich substratum (e.g., gypsum) and bicarbonates ($\text{HCO}_3^{-1} = 229 \pm 47$ and $167 \pm 33 \text{ mg L}^{-1}$ in the dry and wet season, respectively). This brings a strong buffering capacity of the lake water compartment.

Particularly high electrical conductivity were recorded downstream the two main tributaries i.e., (i) in the northern part of the lake (Desaguadero and Tagarete river sinlets - Km 7) for both season and (ii) at the confluence of the Rio Huanuni (Km 20) only during the dry season (Fig. 27). Both Oruro and Huanuni areas are the two main sources of contaminants discharging combined urban wastewater and mining effluents which are illustrated by high organic matter (OM) inputs (e.g., DOC – Fig. 27) and metal(oid) (e.g., Hg, Fe, Mn, W, Sb - Fig. 27 and SI. 2) inputs into the lake. The high contents in nutrients (e.g., PO_4^{3-}) and metal(oid)s measured in Lake Uru-Uru water are in the range of those reported for wastewaters and urban impacted aquatic ecosystem around the world (Oliveira et al., 2007; Balogh and Nollet, 2008; Guédron et al., 2014), typical of eutrophicated conditions, but under high diurnal oxygen gradients. Such elevated loads of nutrients stimulate photosynthesis, and OM (e.g., $\text{DOC} = 16.6 \pm 3.4 \text{ mg L}^{-1}$ for both season) productivity, which result in a high respiration of aquatic (micro) organisms (mean dissolved oxygen = $8.5 \pm 3.3 \text{ mg L}^{-1}$). However, due to the extremely high diurnal biogeochemical gradient (e.g., strong diurnal insolation and temperature gradients), diurnal cycles showed that minimum O_2 concentrations in the water column drop to less than 3 mg L^{-1} during the night (Alanoca et al., 2016). Since samples were collected in the period of maximum insolation and therefore of maximum photosynthesis, the promoted DO data likely reflect the maximum O_2 concentration (Alanoca et al., 2016).

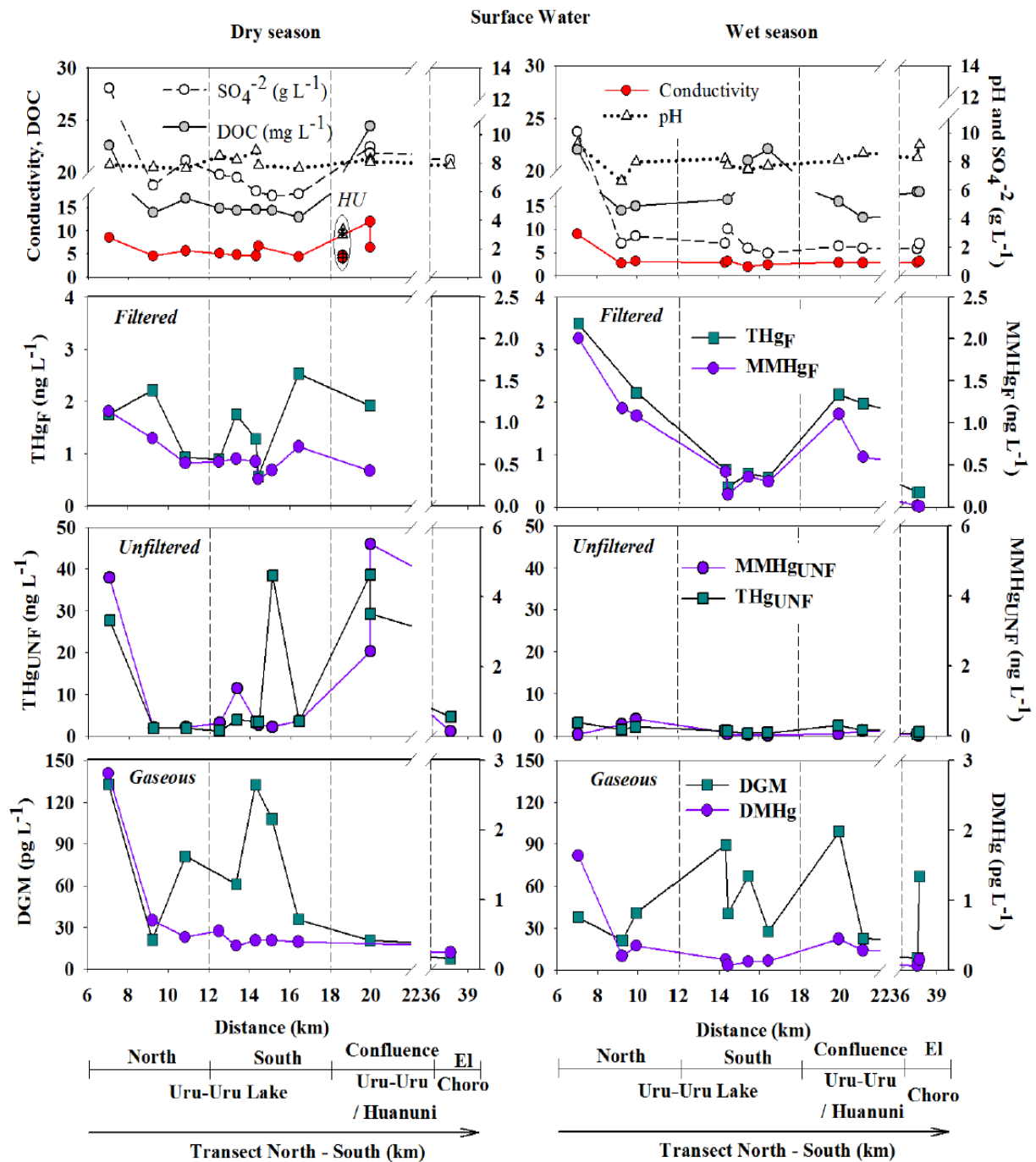


Figure 27 : pH, electrical conductivity and concentrations of dissolved organic carbon (DOC), sulfate (SO_4^{2-}) in filtered surface water (upper 2 panels), filtered (F) and unfiltered (UNF) Hg (Hg) and monomethylHg (MMHg), dissolved gaseous Hg (DGM) and dimethylHg (DMHg) concentrations in surface waters (lower 6 panels) along the Lake Uru-Uru transect during the late dry season (left) and the late wet season (right). Additional data of pH and electric conductivity are also given for Rio Huanuni (HU) in the first panel.

5.3.1.2 MMHg levels and distribution in the water compartment

Levels of the total filtered Hg concentrations ($THg_F: 1.4 \pm 1.0 \text{ ng L}^{-1}$; Fig. 27) concentrations in Lake Uru-Uru are in the upper range of reported concentrations for THg in pristine lakes

around the world (Lindström, 2001; Bowles et al., 2003; Hammerschmidt et al., 2006; Muresan et al., 2007; Maia et al., 2009) while filtered MMHg ($0.69 \pm 0.47 \text{ ng L}^{-1}$) are higher than concentrations reported in altitude lake ecosystems, e.g., compared to the southern oligotrophic Moreno Lake (Patagonia, at 768 m, 0.002 to 0.01 ng L^{-1}) (Arcagni et al., 2013) or in the hyper eutrophic contaminated Dianchi Lake (Tibet, 1881 m, 0.07- 0.19 ng L^{-1}) (Wang et al., 2012). The most striking finding of our study is the extremely high percentage of filtered MMHg representing 47 ± 14 and 51 ± 7 % of the THg_F concentrations along the transect for both dry and wet seasons, respectively. Such high filtered MMHg contribution is probably the highest ever reported in high-altitude lake ecosystems (Wang et al., 2012). Although, high filtered MMHg contribution were only reported in lake anoxic hypolimnion (Feyte et al., 2012; Garcia Bravo et al., 2014), typical percentages of MMHg rarely exceed 10% in shallow lakes ecosystems (Fitzgerald et al., 2014). This confirms the strong *in situ* MMHg production that operates at the entire lake ecosystem level, as previously documented at two particular locations (Alanoca et al., 2016). These high MMHg concentrations and percentages of MMHg/THg in the filtered phase are likely related to the abundance of organic ligands (e.g., sulfur functional groups of OM) and in a lesser extent of inorganic (e.g., Cl^-) ones that may enhance MMHg solubility. Besides geochemical parameters that favors MMHg solubility, important local production and/or restricted degradation may favor such levels. Indeed, the morphology of the lake (e.g., flat basin, shallow water column) promotes large exchanges with the sediment compartment (e.g., low dilution of benthic fluxes) and the high dissolved and particulate OM loads which restrict the penetration of UV radiations likely inhibiting MMHg photodegradation. For the latter, the low measured DGM that never exceeded 13% of filtered THg ($\text{DGM} = 4.8 \pm 4.6$ % of THg for both seasons) suggest that both photochemical and bacterial reduction of Hg compounds are low as confirmed by *in situ* incubations (Alanoca et al., 2016). This likely favors Hg methylation pathways in the net balance towards MMHg production. In opposition to MMHg, dimethylHg (DMHg) was found marginally low, and remained at a baseline level of $0.58 \pm 0.72 \text{ pg L}^{-1}$ for both seasons. This accounts for less than 1 % of filtered MMHg. Only a significant rise was observed in the northern part of the lake (km 7 – downstream Oruro city) which reached 2.8 and 1.6 pg L^{-1} for the dry and wet season, respectively (Fig. 27). Such low DMHg levels highlight that DMHg is not a major end-product for MMHg and Hg evasion from the ecosystem.

Spatial distribution of filtered and particulate THg and MMHg showed the highest concentrations downstream Oruro (km 7) and at the confluence with the Río Huanuni (km 20) during the dry season. Aside from these two hotspots, filtered THg and MMHg concentrations

remain between 1 and 2 ng L⁻¹, and 0.15 and 0.7 ng L⁻¹ over the year, respectively. During the wet season, unfiltered THg and MMHg concentrations (expressed in ng L⁻¹) were found relatively low and close to filtered concentrations. During the dry season, unfiltered THg and MMHg concentrations downstream mining areas were more than ten times higher than those of the wet season. Such change in unfiltered concentrations can be attributed to (i) dilution with fresh eroded particles with a lower enrichment in Hg during the wet season, and (ii) the presence, during the dry season, of floating organic aggregates enriched in Hg ($99.9 \pm 14.3 \text{ ng g}^{-1}$) and MMHg ($13.5 \pm 0.8 \text{ ng g}^{-1}$) in surface water (Alanoca et al., 2016).

This suggests that the major potential sources of MMHg are likely (i) the sediment compartment (Alanoca et al., 2016) and (ii) organic substrates present in the water column. In the second case, the abundance of OM and sulfates in the water column likely favor microbially mediated Hg methylation (i.e., SRB) especially at night when respiration processes are dominant (Alanoca et al., 2016). For example, large areas of the lake are covered by benthic macrophytes (e.g., characeae) and their associated biofilms may be important MMHg contributors as identified in the near Lake Titicaca (unpublished data). Beside *in situ* formation of MMHg, other external sources originating mainly from mining effluents should also be taken into consideration.

5.3.1.3 Mining effluents: a source of Hg and dissolved colloidal carrier phase

The fact that filtered THg remained in the same concentration range for both seasons suggests the existence of another source contributor of Hg during the wet season. The contribution of upstream mining inputs might be significant source during the wet season. While mean concentrations of major elements (e.g., SO₄²⁻, K⁺, Mg²⁺ and Na⁺ – SI. 2 and 3) decrease by 2.5 to 2.8 fold during the wet season along the transect due to dilution by fresh waters, almost no dilution effect is observed for THg, MMHg and several metal(oid)s (e.g., mean concentration ratio between dry and wet season for THg, MMHg, Fe, Ti and W are 1.3, 1.0, 0.5, 1.4 and 0.8, respectively). This likely results from the enhanced leaching and erosion of dissolved and particulate Hg and metal(oid)s from the upstream mining area (e.g., tailings) during the wet season illustrated by the rises in filtered and particulate metal(oid)s concentrations (Fig. 27 and S.I.3) downstream mining effluents. Waters originating from the mining area are very acidic (e.g., pH = 3.1 ± 0.3 in the Huanuni River – Fig. 27). These low pH conditions lead most of metals and metalloids to remain in their reduced form. At the confluence with the lake, the sharp rise in pH to above 8 may be accompanied by a drop in solubility of Fe, Al and Mn allowing their precipitation as oxides (e.g., ferrihydrite or Fe(oxy)hydroxyl-sulfate), thus

co-precipitating other dissolved metals (Webster et al., 1998; Lee et al., 2002; Johnson and Hallberg, 2005).

This is consistent with a sharp increase in metal concentrations in sediments observed downstream Huanuni (see following section 3.2), although metal concentrations in filtered surface water remained 4 to 50 times higher than the mean concentrations measured in the central part of the lake (Fig. 27). Since filtered Fe concentration (i.e., $> 120 \mu\text{g L}^{-1}$ downstream the Huanuni River for both seasons) largely surpasses the solubility of Fe at pH 8 (Cornell and Schwertmann, 2006), this likely indicates the occurrence of filter-passing colloidal Fe. The occurrence of filter-passing colloidal material (e.g., FeS and possibly other metal sulfides) may explain the high iHg and MMHg concentrations measured in the filtered phase downstream locations influenced by mining effluents (Dyrssen and Wedborg, 1991 ; Guédron et al., 2016b). These observations are consistent with the Kimball et al. (1995) (Kimball et al., 1995) study showing how iron dominated colloidal composition was associated with substantial concentrations of other trace elements in the Arkansas River water downstream from the mining inflow. The correlation found, for the wet season, between (i) filtered Fe and THg concentration ($R = 0.97$, $p < 0.01$ - Fig. 28) at the confluence with the mining areas, (ii) filtered THg and MMHg ($R = 0.96$, $p < 0.01$) and (iii) unfiltered and filtered MMHg concentrations ($R = 0.98$, $p < 0.01$ - that are in the same range of concentration) suggests that both Hg species are likely associated with similar colloidal carrier phases (e.g., colloidal FeS and/or colloidal OM). In contrast, at the same location during the dry season, MMHg is suspected to be dominantly bound to coarser particles (e.g., floating organic aggregates) (Alanoca et al., 2016). Thus, based on the assumption that Hg originates dominantly from urban and mining effluents, we can suggest that during the wet season, colloidal iHg originating from mining areas may be more reactive and/or available for methylation (Hsu-Kim et al., 2013).

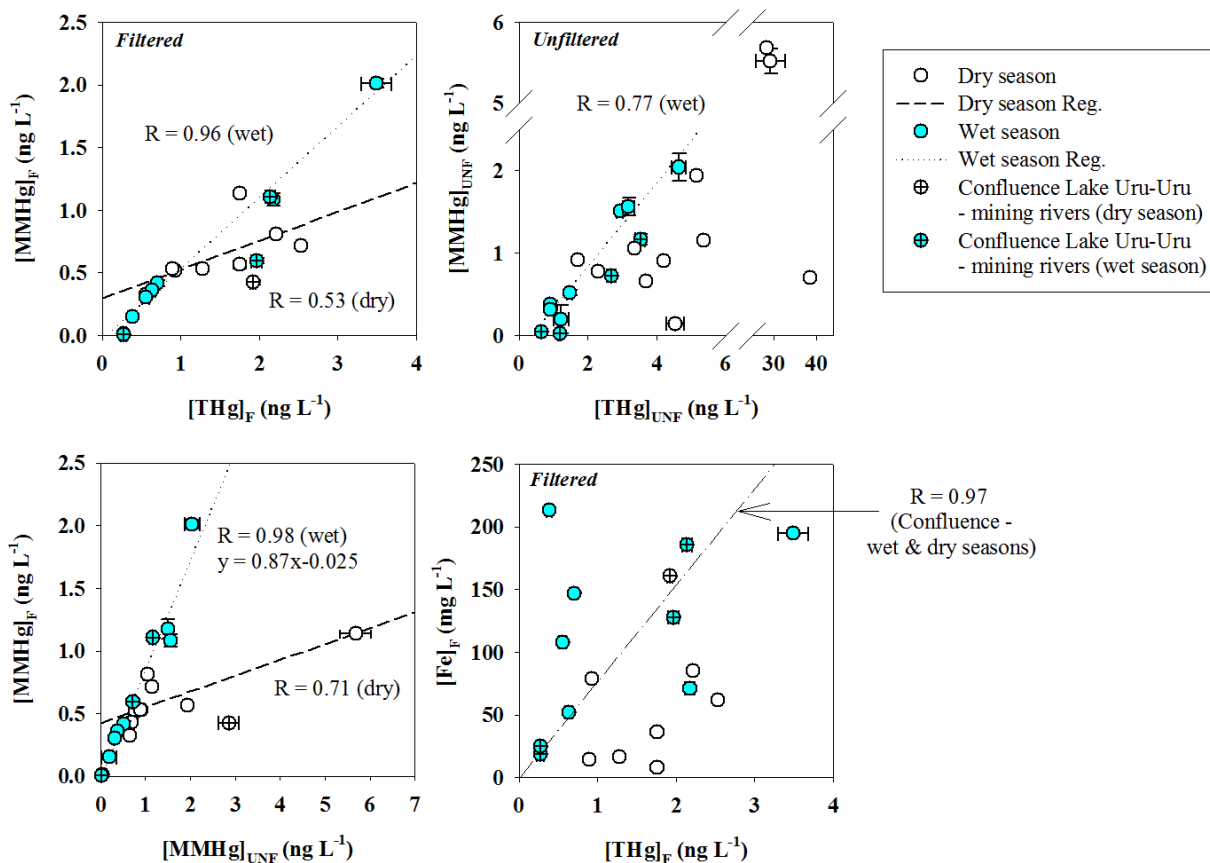


Figure 28 : Linear regressions for filtered (F) and unfiltered (UNF) total Hg (THg) vs. monomethylHg (MMHg) concentrations (upper 2 panels), filtered vs. unfiltered monomethylHg concentrations (lower left panel) and filtered iron (Fe) vs. total Hg (THg) concentrations (lower right panel) in surface waters collected along the Lake Uru-Uru transect (empty symbols) and downstream the confluence with mining effluents (crossed symbols) during the late dry season (white symbols) and the late wet season (blue symbols).

5.3.2 Sediment of Lake Uru-Uru: a major source of MMHg for surface water

5.3.2.1 Source of THg in surface sediment

In opposition to surface water, surface sediments (0 – 2 cm) give an integrated (i.e., almost annual) picture of metal distribution in the lake (Fig. 29). THg and MMHg concentrations in surface sediments depict similar trends as for surface water with highest concentrations measured downstream Oruro (km 7) and the confluence with the Río Huanuni (km 20) while in-between THg and MMHg concentrations remain at similar baseline concentrations (i.e., 100 ± 53 ng g⁻¹ and 0.35 ± 0.20 ng g⁻¹ for THg and MMHg, respectively) for both seasons. Besides, a single artifact was observed in the central part of the lake (at km 15) where particulate Hg concentrations rise downstream the confluence with the southern arm of the Desaguadero River. No current mining activities are known in this area although ancient mining activities have been reported, suggesting a possible leaching of ancient mining areas. As

discussed in the previous paragraph, at the confluence with the lake, the sharp rise in pH to values above 8 is suggestively accompanied by an important precipitation and sedimentation of almost all metals. This is in line with the results of (Tapia and Audry, 2013), reporting a very active redox loop through Fe-oxyhydroxide precipitation in the southern part of the Lake Uru-Uru (e.g., downstream Huanuni area). In addition, the dense totora vegetation (stems covered by periphyton) of the lake is likely to enhance the trapping and sedimentation of such particles. This is verified by the high concentration of trace metal(oid)s (e.g., Hg, Sb, Ti, W, Cu, Cd, As) in sediments downstream Oruro and Huanuni mining areas which exceed the values of the local geochemical background levels reported by Tapia et al., (2012b) (Tapia et al., 2012). In addition, correlations were found between THg and tracers of exploited ores (i.e., $R = 0.61$ and 0.75 , $p < 0.01$ for Sb and W, respectively-S.I. 4) (Turneure, 1960; Kelly and Turneure, 1970; Moricz et al., 2009), confirming that mining activities are likely the major source of Hg to the lake.

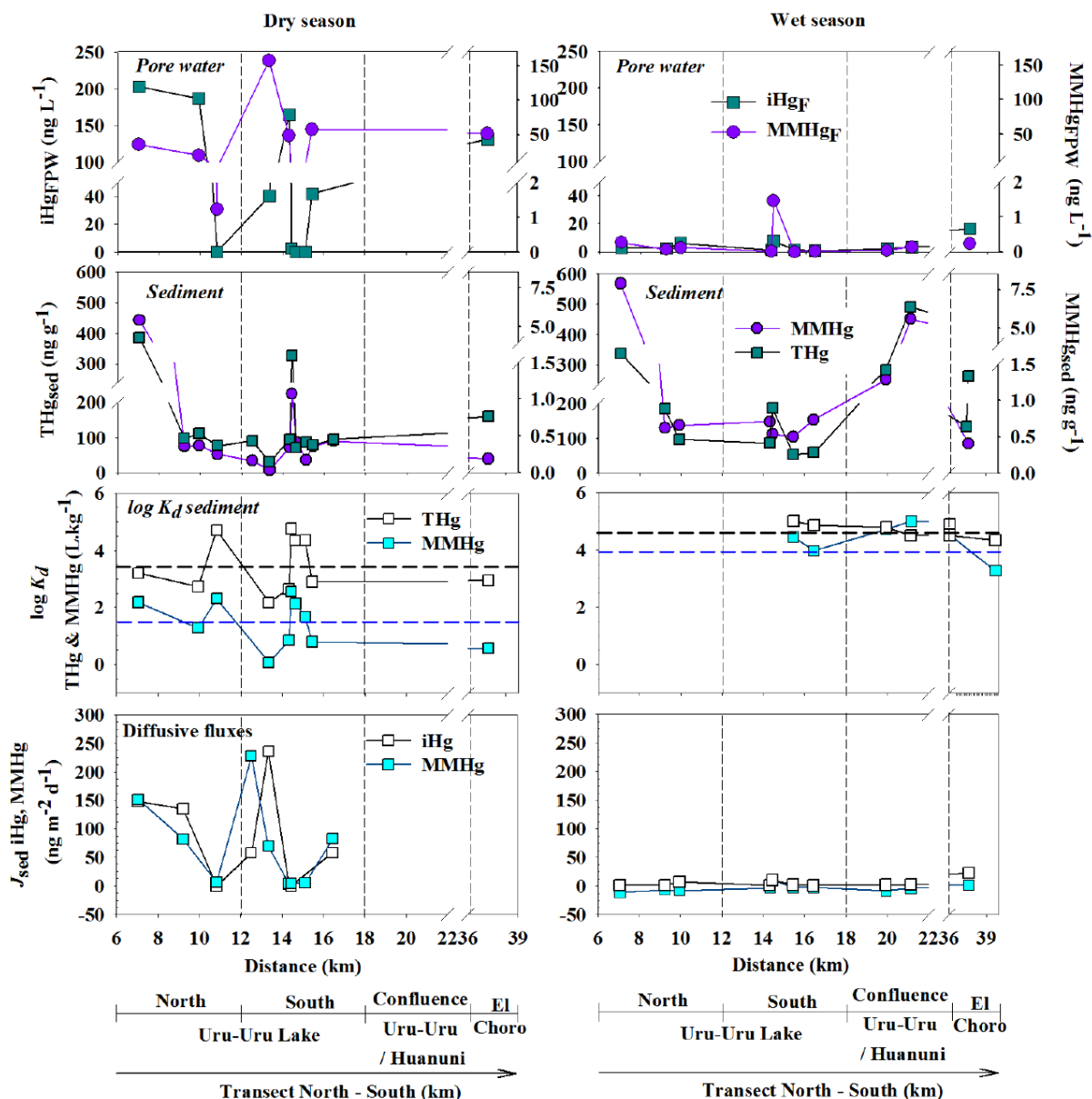


Figure 29 : Upper 4 panels: filtered (F) and unfiltered (UNF) inorganic Hg (iHg) and monomethylHg (MMHg) concentrations in surface sediment pore water and total Hg (THg) and monomethylHg (MMHg) concentrations in surface sediments of Lake Uru-Uru. Lower 4 panels: log partitioning coefficient ($\log K_d$) and daily diffusive fluxes of THg (iHg) and MMHg in surface sediments (PW and solid) of Lake Uru-Uru for the end of the dry season (October 2010 – left panels) and of the wet season (May 2011 – right panels). Dotted line refers to mean $\log K_d$ values of THg (black dotted line) and MMHg (blue dotted line).

5.3.2.2 Seasonal contribution of MMHg from sediment to lake water

MMHg concentrations and partition measured in the sediment ($\text{MMHg} = 0.6 \pm 0.5 \%$ of THg_{sed} – Fig. 29) display a similar pattern for both seasons with a marked increase downstream mining effluent inputs for both seasons. Assuming that MMHg concentration in surface sediment are representative of net Hg methylation (i.e., MMHg accumulation), our

result highlights that both the northern and southern parts of the lake (i.e., downstream mining effluents) are the major MMHg accumulation areas. In opposition, iHg and MMHg concentrations in surface sediment pore water (PW) display very different patterns between the two seasons. During the dry season both iHg_F and $MMHg_F$ in PW show large fluctuations with concentrations rising above 200 ng L^{-1} for iHg_F and between 20 and 150 ng L^{-1} for $MMHg_F$ downstream mining effluent areas (Fig. 29). During the wet season, $PWiHg$ and $MMHg$ remain in a lower range of concentration around 2.9 ± 0.8 and $0.1 \pm 0.1 \text{ ng L}^{-1}$, respectively. This seasonal drop of PW concentrations is also found for the percentages of MMHg which represents $57 \pm 35 \%$ and $5 \pm 6 \%$ of THg_{FPW} for the dry and wet season, respectively. Partition coefficient ($K_d = [Hg_{sed}]/[Hg_{FPW}]$) for THg and MMHg in surface sediment illustrate well the seasonal change of Hg partitioning since $\log K_d$ rise from 3.5 ± 1.0 and 1.5 ± 1.0 (dry season) to 4.6 ± 0.3 and 3.9 ± 0.8 (wet season) for iHg and MMHg, respectively (Fig. 28). Such change in partition between the filtered and solid phases is likely related to the redox state of surface sediment. Thus, we can suggest that low $\log K_d$ measured during the dry season are related to the stagnant and shallow water column (due to evaporation) promoting anoxia and element saturation in PW during the dry season. In contrast, during the wet season, freshwater inputs may favor O_2 penetration into the surface sediment displacing the redox front deeper in the sediment (Tapia and Audry, 2013). This suggestion is in accordance with thermodynamic modeling studies (Khwaja et al., 2006 ; Skyllberg, 2012) which showed that the maximum $\log K_d$ for Hg is obtained under oxic conditions, in the absence of inorganic sulfides. Then, considering a more pronounced oxygen-depletion of surface sediment during the dry season (Tapia et al., 2012), the solubility of Hg would increase because of an increasing dominance of HgS_2H^- and HgS_2^{2-} in the pore water solution (Skyllberg, 2012) of such neutral to alkaline and sulfate rich environment. At such pH, it is also probable that the limiting effect of S(-II) concentration for precipitation of $\beta\text{-HgS}(s)$ increases (Skyllberg, 2012). Therefore, the seasonal variation of $\log K_d$ for Hg and MMHg likely illustrate that (i) during the dry season sulfides are formed and build up in the anoxic PW making $\log K_d$ decrease because of the formation of soluble Hg-sulfides and potentially polysulfides while (ii) during the wet season, likely characterized by more oxygenated surface sediments, the formation of authigenic Fe oxyhydroxides (Muresan et al., 2004; Muresan et al., 2008; Feyte et al., 2012) is favored and acts as a trap for dissolved Hg species making $\log K_d$ to increase.

From these results, a large seasonal change in the diffusive Hg fluxes contribution of surface sediment to the water column is expected. Indeed, based on the assumption that the shallow water column is well homogenized, we calculated diffusive fluxes using Fick's first law

(details of the calculations are given in S.I.) (Guédron et al., 2012): $J_{sed} = -\phi D_{sed}(\partial C/\partial z)$. Spatial variation of diffusive fluxes (Fig. 29) shows that during the dry season, both iHg and MMHg exhibit positive J_{sed} indicating a slight upward-directed flux (efflux from the sediment into the overlying water column). In contrast, during the wet season J_{sed} for iHg are slightly positive (slight upward-directed flux) and J_{sed} for MMHg are close to zero or negative indicating a downward-directed flux (influx from the water column into the sediment).

Therefore, both $\log K_d$ and J_{sed} highlight surface sediment PW as a major source of MMHg for surface waters during the dry season while it appears limited during the wet season when the water column is higher. This observation is consistent with lower methylation capacity found in sediments during the wet season by previous *in situ* Hg methylation (M) and MMHg demethylation (D) potentials experiments performed in Lake Uru-Uru (Alanoca et al., 2016). However, we cannot exclude a significant contribution of sediments during the wet season since probable high diurnal change in the position of the redox front in the sediment may favor positive fluxes during the night (when photosynthesis is stopped and respiration consumes O_2). This suggestion is pertinent since Alanoca et al. (2016a) have demonstrated large variation of MMHg concentrations in the water column during a 24-hour cycles with maximum concentrations measured in the absence of sunlight when the water column becomes O_2 depleted. Note that the contribution of the Lake Uru-Uru surface sediment to the water column concentration of MMHg, roughly estimated here from diffusion only, is probably an underestimation. Such contribution should be largely superior when taking into account bioturbation and physical advection that would result in enhanced fluxes of MMHg into the water column.

5.4 Conclusion

We showed in this study that current and historical mining activities combined with untreated urban effluents promote high loads of Hg and metal(oid) to the shallow productive and high altitude (3686 m a.s.l.) lake Uru-Uru. High percentages MMHg concentrations standing around 50 % of THg_F for both seasons were found along the North-South transect of the eutrophic Uru-Uru Lake where abundant OM may favor both Hg methylation and preservation in the water column. In addition, the alkaline pH and the abundant organic ligands and colloids (especially downstream mining effluents) seems to favor the lability of MMHg in the water column. Surface sediments were identified as a major MMHg source for the water column during the dry season while during the wet season its contribution appears

limited. However, the calculation of MMHg diffusive fluxes from the sediment to the water column during the wet season was probably underestimated since intense diurnal biogeochemical variations and fluxes related to bioturbation and physical advection were not considered. Other unidentified sources (e.g., urban and mining effluents and biofilms covering benthic macrophytes) may also significantly contribute to MMHg inputs or *in situ* production in the lake during the wet season. In particular, the important discharge of Hg originating from the AMD (probably associated to colloids) was considered as a potential significant source of both iHg and MMHg. Such high levels of filtered MMHg in the water column is likely plausible hypothesis behind the high MMHg levels reported in the local trophic chains (Molina et al., 2012). Important efforts must be taken regarding Hg and other metal emissions from mining area to reduce the trophic transfer and environmental concerns.

Conclusiones

En este estudio se demuestra que el compartimiento de almacenamiento de Hg, metales y metaloides en el lago Uru-Uru es el sedimento. Este almacenamiento, por una parte es promovido por efluentes de actividades mineras (iniciadas el año 1557 y continúa hasta nuestros días) y por otra parte por efluentes urbanos, los cuales se han incrementado con el crecimiento demográfico de la ciudad de Oruro y el aumento de centros mineros.

Se observa que las condiciones fisicoquímicas del lago promueven las reacciones de oxidación/reducción, probablemente dando lugar a la formación de diferentes formas de compuestos metálicos. En el caso del Hg, las concentraciones de la especie mercurial MMHg medidas a lo largo del transecto Norte-Sur del lago (en promedio $49 \pm 11\%$), hasta ahora son las más altas registradas para ecosistemas acuáticos. En este estudio se ha observado que el compartimiento de los sedimentos es la fuente emisora principal de MMHg hacia la columna de agua durante la época seca y limitada durante la época húmeda. Sin embargo no se debe descartar que los flujos de MMHg pudieran ser producidos por fenómenos de bioturbación y advección física, considerando la poca profundidad del lago. Otras fuentes de MMHg y IHg podrían ser atribuidas a los aportes de los flujos de aguas ácidas de minas, flujos de aguas servidas (agua residual doméstica), escorrentías formadas en los suelos por las lluvias, los provenientes del biofilm de las totoras y los producidos por los agregados bio-orgánicos flotantes en ambas épocas del año.

La alta producción primaria, el pH alcalino, las altas concentraciones de materia orgánica y las elevadas concentraciones de metales pesados, pueden ser los factores que posibilitan que el MMHg se encuentre en la columna de agua, en un gran porcentaje en forma complejos de ligandos orgánicos húmicos o en formas coloidales.

6. Capítulo III: Diurnal variability and biogeochemical reactivity of Hg species in an extreme high-altitude lake ecosystem of the Bolivian Altiplano

Introducción

La concentración neta de MMHg se encuentra regulada por los procesos de metilación de Hg y demetilación de MMHg, procesos que son considerados como los mayores patrones de transformación. Los estudios realizados acerca de la reactividad y transformación del Hg en ecosistemas acuáticos de condiciones ambientales extremas a gran altitud, son muy pocos. El presente trabajo pretende documentar la reactividad y transformación del Hg en el lago Uru-Uru, un esositema poco profundo y muy productivo sometido a fuertes presiones antropogénicas mineras y urbanas, ubicado en el Altiplano Boliviano una región de condiciones ambientales extremas donde la disponibilidad del agua es cada vez más escasa para los habitantes. Concentraciones de diferentes especies de Hg (iHg, MMHg, Hg⁰ y DMHg) e *in situ* potenciales de metilación de Hg (M) y demetilación de MMHg (D) fueron determinados en aguas, sedimentos, agregados bio-orgánicos flotantes y perifiton de totoras del lago Uru-Uru. Las muestras fueron colectadas al final de las épocas seca y húmeda (octubre de 2010 y mayo de 2011 respectivamente), en los sitios Norte y Sur del lago. Las concentraciones de las diferentes especies de Hg variaron significativamente durante el transcurso de 24 horas influenciadas por los fuertes gradientes biogeoquímicos. Las concentraciones de MMHg_{UNF} en la columna de agua variaron de 0,2 a 4,5 ng L⁻¹ mostrando una importante metilación de Hg. Mientras que los rangos de los potenciales de M y de D (<0,1 – 16,5 y <0,2 – 68,3 % d⁻¹ respectivamente) fueron muy variables entre compartimientos, pero superiores durante la época seca. Las metilaciones netas de Hg indican que la influencia urbana y efluentes de la minería en el sitio Norte (NS), promueven la producción de MMHg en aguas (hasta 0,45 ng MMHg L⁻¹ d⁻¹) y en sedimentos (2,0 a 19,7 ng MMHg g⁻¹ d⁻¹). Se ha identificado que la mayor fuente de MMHg son los sedimentos, seguida de los agregados bio-orgánicos (5,8 ng MMHg g⁻¹ d⁻¹) durante la época seca; mientras que el perifiton de las totoras actúa como un demetilador de MMHg (-2,1 ng MMHg g⁻¹ d⁻¹). Este trabajo demuestra que a gran altitud los ecosistemas lacustres productivos pueden promover la formación de MMHg en varios compartimientos.

Diurnal variability and biogeochemical reactivity of Hg species in an extreme high altitude lake ecosystem of the Bolivian Altiplano

L. Alanoca¹, D. Amouroux^{1,2*}, M. Monperrus², E. Tessier², M. Goni³, R. Guyoneaud³, D. Acha⁴, C. Gassie³, S. Audry¹, M. E. Garcia⁵, J. Quintanilla⁵, D. Point¹

(1) Géosciences Environnement Toulouse, UMR5563 - IRD UR 234, Université Paul Sabatier, 14 Avenue Edouard Belin 31400 Toulouse, France.

(2) Laboratoire de Chimie Analytique Bio-inorganique et Environnement, IPREM UMR 5254 CNRS - Université de Pau et des Pays de l'Adour, Hélioparc Pau Pyrénées, 2, av. P. Angot, 64053 Pau cedex 9, France.

(3) Equipe Environnement et Microbiologie, IPREMUMR5254CNRS - Université de Pau et des Pays de l'Adour, Bâtiment IBEAS, BP1153, F-64013 Pau Cedex France.

(4) Laboratorio de Calidad Ambiental – Instituto de Ecología - Universidad Mayor de San Andres, Campus Universitario de Cota Cota, casilla 3161, La Paz, Bolivia.

(5) Laboratorio de Hidroquímica- Instituto de Investigaciones Químicas - Universidad Mayor de San Andres, Campus Universitario de Cota Cota, casilla 3161, La Paz, Bolivia.

*Corresponding author:

D. Amouroux, Email: david.amouroux@univ-pau.fr

Abstract

Methylation and demethylation represent major transformation pathways regulating the net production of methylHg (MMHg). Very few studies have documented Hg reactivity and transformation in extreme high altitude lake ecosystems. Hg (Hg) species concentrations (iHg, MMHg, Hg⁰ and DMHg), and *in situ* Hg methylation (M) and MMHg demethylation (D) potentials were determined in water, sediment, floating organic aggregates and periphyton compartments of a shallow productive Lake of the Bolivian Altiplano (Uru-Uru lake, 3686 m). Samples were collected during late dry season (October 2010) and late wet season (May 2011) at a North (NS) and a South (SS) site of the lake, respectively. Hg species concentrations exhibited significant diurnal variability as influenced by the strong diurnal biogeochemical gradients. Particularly high methylated Hg concentrations (0.2 to 4.5 ng L⁻¹ for MMHg_{UNF}) were determined in the water column evidencing important Hg methylation in this ecosystem. Methylation and D potentials range were respectively, <0.1 – 16.5 and <0.2 – 68.3 % d⁻¹, and were highly variable among compartments of the lake, but always higher during the dry season. Net Hg M indicates that the influence of urban and mining effluent (NS) promotes MMHg production in both water (up to 0.45 ng MMHg L⁻¹ d⁻¹) and sediment compartments (2.0 to 19.7 ng MMHg g⁻¹ d⁻¹). While the sediments compartment appears to represent a major source of MMHg in this shallow ecosystem, floating organic aggregates (dry season, SS), and Totora's periphyton (wet season, NS), were found to act as a significant source (5.8 ng MMHg g⁻¹ d⁻¹), and a sink (-2.1 ng MMHg g⁻¹ d⁻¹) of MMHg, respectively. This work demonstrates that high altitude productive lake ecosystems can promote MMHg formation in various compartments supporting recent observations of high Hg contents in fish and water birds.

Keywords: Hg, biogeochemistry, altiplano, lake, methylation, demethylation, Bolivia

6.1 Introduction

MethylHg (MMHg) is considered as a potent neurotoxin, and represents a significant health concern (Allen et al., 2002). Human MMHg exposure is mainly controlled by the consumption of fish products (Fitzgerald and Clarkson, 1991; UNEP, 2013a). MMHg can be produced in different compartments of the aquatic ecosystem as influenced by biogeochemical conditions (Fitzgerald and Lamborg, 2004; Hintelmann, 2010). In aquatic ecosystems, Hg methylation may take place in the anoxic zone (Eckley and Hintelmann, 2006) or oxic zone (Monperrus et al., 2007a; Ribeiro Guevara et al., 2008; Bouchet et al., 2013), in the first few centimeters of sediments (Hollweg et al., 2009; Bouchet et al., 2013), and in the periphyton mainly associated with the roots of aquatic plants (Guimarães et al., 2000; Gentès et al., 2013). The mechanisms of Hg methylation (M) mainly involve microbial processes linked to the activities of various communities such as sulfate-and/or iron-reducing bacteria (Compeau and Bartha, 1984; Barkay and Wagner-Döbler, 2005) and, to a lesser extent, abiotic processes (Craig and Morton, 1978; Weber, 1993). Overall, net production rates of MMHg, and its bioaccumulation in the food chain of aquatic systems, is drastically regulated by such transformation processes (Hintelmann, 2010).

Mediated by biotic and abiotic processes, MMHg may be methylated and form dimethylHg (DMHg) (Baldi et al., 1995), and/or broken down or demethylated (D), giving rise to inorganic Hg (iHg) and elemental Hg (Hg^0). In sediments, the methylation process involves sulfate-and nitrate-reducing bacteria as well as methanogenic bacteria, along oxidative or reductive pathways (Spangler et al., 1973; Oremland et al., 1991; Schaefer et al., 2004). In the water column most of MMHg demethylation likely originates from photodegradation reactions (Sellers et al., 1996; Hammerschmidt and Fitzgerald, 2006b; Black et al., 2012).

Because of its importance for human health, Hg cycling has been studied in different aquatic systems (oceans, lakes, lagoons, rivers and wetlands). Hg reactivity and transformation in lake and wetland ecosystems is well documented (Hintelmann, 2010), but few studies have been investigated Hg reactivity in extreme high altitude ecosystems (Ribeiro Guevara et al., 2008; Maruszczak et al., 2011, 2011b; Qianggong et al., 2014). Aquatic ecosystems located in the South American Altiplano region at 3800m, exhibits extreme thermal and solar irradiance diurnal variability including intense UV radiations (Blumthaler et al., 1997; Zaratti et al., 2003), contrasted seasonal hydrological cycles, as well as intense primary production (Aguirre et al., 2014). Lake Uru-Uru (3686 m a.s.l.) is part of the lake system occupying the central

Bolivian Altiplano region. This lake ecosystem acts as a sink for several mining and urban waste effluents (Garcia Moreno, 2006; Tapia et al., 2012) while it hosts numerous endemic avian and fish species and has social and economic importance for the region's indigenous population, who live from hunting and fishing (Garcia Moreno, 2006; Aguirre et al., 2014). Elevated Hg levels were documented in different species of water birds and fish from Lake Uru-Uru (Molina et al., 2012; Aguirre et al., 2014).

This work aims at documenting for the first time Hg biogeochemistry and Hg methylation capacity in the case of high Altitude tropical productive lakes, using Lake Uru-Uru as a reference study site. In this lake, a contaminated northern site (NS) and a less impacted southern site (SS) were carefully investigated on a diurnal and seasonal basis with the measurement of different Hg compounds (iHg, MMHg, Hg⁰ and DMHg), and the complementary determination of *in situ* Hg methylation (M) and MMHg demethylation (D) potentials in water, sediment, floating organic aggregates and periphyton compartments collected from Totorá's (*Schoenoplectus californicus*) aquatic plants.

6.2 Materials and methods

6.2.1 Study area

Lake Uru-Uru is a shallow aquatic system (1.5 m av. depth) located at 3686 meters above sea level in the central part of the Bolivian Altiplano region, in South America (Figure 30). Lake Uru-Uru is located downstream of Lake Titicaca and upstream of Lake Poopó and is part of the closed, evaporative endorehic Titicaca-Desaguadero-Poopo-salar (TDPS) basin. During the wet season, Lake Uru-Uru displays a surface area of 350 km², reduced to 120 km² during the dry season. Further details on the study area are provided in the Supplementary Material (SM) section.

6.2.2 Samples collection and processing

Samples of sediment, surface waters and organic substrates were collected from Lake Uru-Uru at two different sites (Fig. 30). The first site (NS) located in the Northern part of the lake, represents a contaminated site, under the influence of both mining and urban effluents originating from the mining city of Oruro (Fig. 30). The second site (SS) is located in the Southern part of the lake and is supposed to represent a less polluted area, although lateral inputs of mining effluent from Río Huanuni may be considered. All samples were taken at the end of the dry season (October 2010) and at the end of the wet season (May 2011) respectively for investigating seasonal differences. Diurnal cycles (24 h) were also

investigated in the water column at the two stations at a 4 h resolution step at the NS site (only for wet season), and at a 2 h resolution step at the SS site (both seasons). Because both NS and SS sites are very shallow (< 1 m) and present a well-mixed water column, water samples were directly hand-collected from a rubber boat at the subsurface (ca. 10-30 cm depth, depending on the seasonal water level).

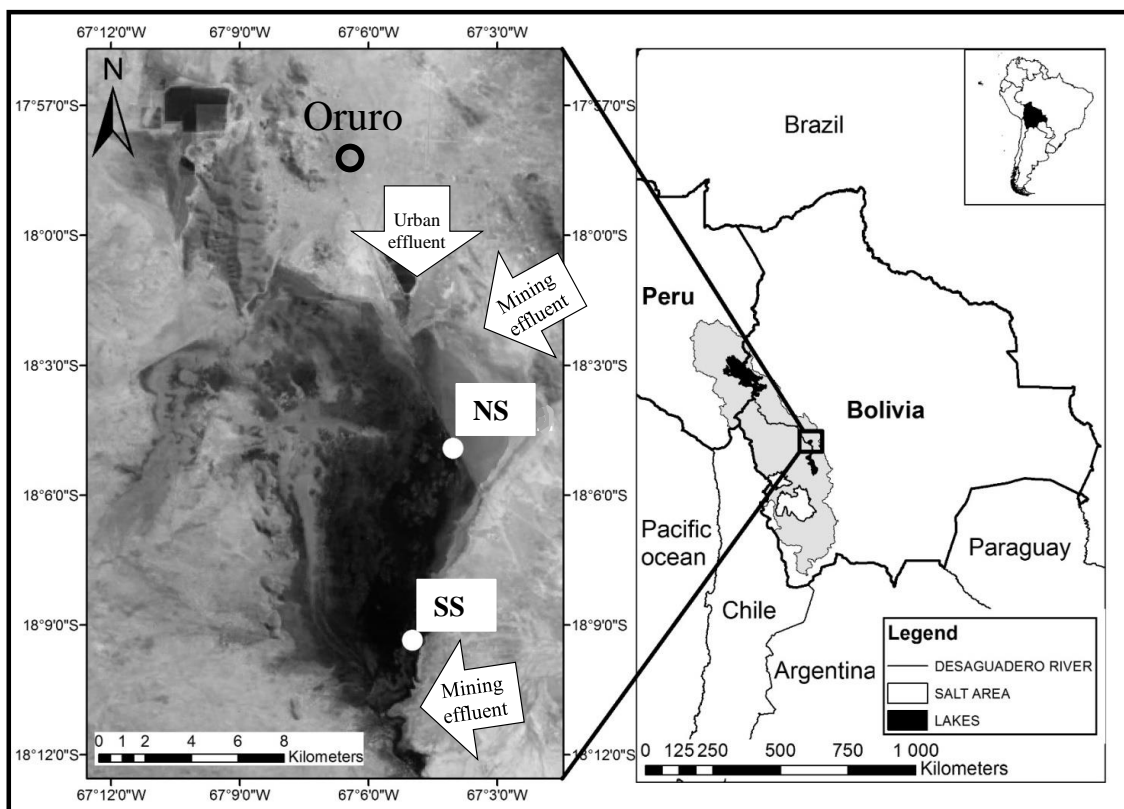


Figura 30 : Map of Lake Uru-Uru and its location in the Bolivian Altiplano (Bolivia, South América), showing the investigated sites in the northern (NS) and southern (SS) part of the lake, during late dry and wet seasons (October 2010 and May 2011). The major sources of contamination are also indicated: urban effluent (north) and mining effluent (south).

Each water sample was divided into three aliquots, two of them subsequently acidified: one was filtered (“dissolved fraction”) using a vacuum filtration pump and 0.45 μm porosity PVDF filters (Millipore, Bedford, MA, USA), while the second was kept unfiltered (total content). A last aliquot was kept intact and directly processed to purge and trap the gaseous Hg compounds (i.e. DGM, DMHg). Further details for surface sediments (0-1 cm) and bio-organic substrates (periphyton, aggregates) sampling are given in the supplementary material (SM) section. For comparison with other lacustrine environments of the TDPS hydrosystem, sediment samples were also taken from Lake Titicaca during the dry season and from Lake Poopó during the wet season. Further details on sample processing and ancillary parameters determination are included in the SM section.

6.2.3 Hg transformations assays

Hg species transformation potentials were determined through *in situ* incubations performed using isotopically enriched Hg species ($^{199}\text{HgCl}_2$ and $\text{CH}_3^{201}\text{HgCl}$) for water, sediment, periphyton and floating organic aggregates, according to the incubation protocol, analyses and calculations of methylation (M), demethylation (D) and reduction (R) potentials described elsewhere (Monperrus et al., 2007a; Rodríguez-González et al., 2013). This methodology, allows the simultaneous and quantitative determination of newly formed and remaining Hg species derived from each isotope, and the determination of specific formation/degradation yields (Monperrus et al., 2007a; Rodríguez-González et al., 2013). Further details on the incubation protocols and the evaluation of the net Hg methylation obtained from the incubation experiments and diurnal cycles are described in the SM section.

6.2.4 Samples analyses methodologies

For water samples, the concentrations of unfiltered and filtered Hg species, such as MMHg, iHg, Hg^0 and DMHg were determined. For solid samples concentration of MMHg and IHg were determined. Hg species analysis in water, sediment and biological substrates were performed by capillary gas chromatography connected to an inductively coupled plasma mass spectrometer (GC-ICPMS, Trace). Analytical set-up and methodology for the GC-ICPMS for Hg speciation analysis are described in detail elsewhere (Monperrus et al., 2005b; Monperrus et al., 2008). The analysis of the gaseous Hg species (i.e. Hg^0 and DMHg) was carried out by cryogenic trapping gas chromatography connected to an inductively coupled plasma mass spectrometer (CT-GC-ICPMS) according to previous works (Bouchet et al., 2011; Bouchet et al., 2013). Other analytical methods used for ancillary parameters are described in SM section.

6.2.5 Bacterial communities characterization

Water samples (triplicates) were concentrated (250 mL for SS and 60 mL for NS) by filtration on sterile cellulose acetate filters (Millipore, 0.22 μm). After filtration, the filters were immediately frozen in liquid nitrogen. Samples from sediments, floating aggregates or Totorá's biofilms were directly sampled in cryovials and frozen in liquid nitrogen. DNA was extracted with the Ultra Clean Soil DNA Isolation Kit using the alternative lysis method (MoBio Laboratories Inc., USA). All extracted genomic DNA samples were stored at -20°C until further processing. T-RFLP was performed as previously used by Gentes et al. (2013).

T-RFLP profiles were compared by Principal Component Analysis (PCA) using MVSP v3.13d software (Rockware Inc., U.K.).

6.2.6 Statistics

For dataset comparison statistical parametric test (Student t test) for normal data distribution and non-parametric test (Kruskal-Wallis test) for non-normal data distribution were considered, using SigmaStat (version 3.0.) or R software (R.2.14.2).

6.3 Results and discussion

6.3.1 Major biogeochemical characteristics

High-resolution diurnal profiles of selected parameters are displayed in Figure 31 (data summary in Table A, SM). At the SS site, relative different trends can be observed during the diurnal cycles and between the dry and wet seasons. Mean diurnal temperature and oxygen concentrations were higher during the dry season compared to the wet season but not statistically different (16.3 and 13.9 °C, 6.5 and 4.6 mg L⁻¹, respectively), while pH values were relatively close (7.9 and 8.1). However, their diurnal gradient amplitude between sunrise and sunset (Fig. 31) was much higher during the dry season (11.9 - 21.5 and 12.4 - 16.0 °C, 7.0 - 8.2 and 7.8 - 8.4, 4.7 - 9.4 and 3.7 - 5.8 mg L⁻¹, respectively). This reflects the change in solar radiations intensity among seasons. Solar radiation levels measured close to the study site in Patacamaya (Oruro Dpt, Bolivia) from September to November 2010 (dry season) and from April to June 2011 (wet season) were, respectively 313.8 ± 55.4 W m⁻² and 243.5 ± 36.2 W m⁻². Conductivity at the SS varied significantly (*s test*, *p* < 0.05) between dry (6.2 mS cm⁻¹) and wet (3.1 mS cm⁻¹) seasons due to the intense evaporation process. At the NS diurnal variations during the wet season, exhibited wider ranges for temperature, pH and oxygen than at SS (9.9 - 16.2 °C, 9.2 - 10.1, 3.3 - 12.5 mg L⁻¹, respectively). Conductivity was higher at the NS site (8.8 mS cm⁻¹) (Fig. 32) compared to SS Site (3.1 mS cm⁻¹) during the wet season. Since bacterial activity is one of the main driver responsible for Hg methylation and demethylation, strong daily variations of temperature, pH and oxygen may strongly affect diurnal Hg cycle at short time scale. While not measured over 24 h, dissolved organic carbon (DOC), particulate organic carbon (POC) and suspended particulate matter (SPM) may influence significantly Hg speciation. For instance, DOC concentrations reach high values for both seasons at SS and NS station (14.4 - 16.4 and 19.8 - 24.5 mg L⁻¹, respectively), while SPM remains rather low (<10 mgL⁻¹) but enriched in organic carbon (10 % of POC).

South site (SS)

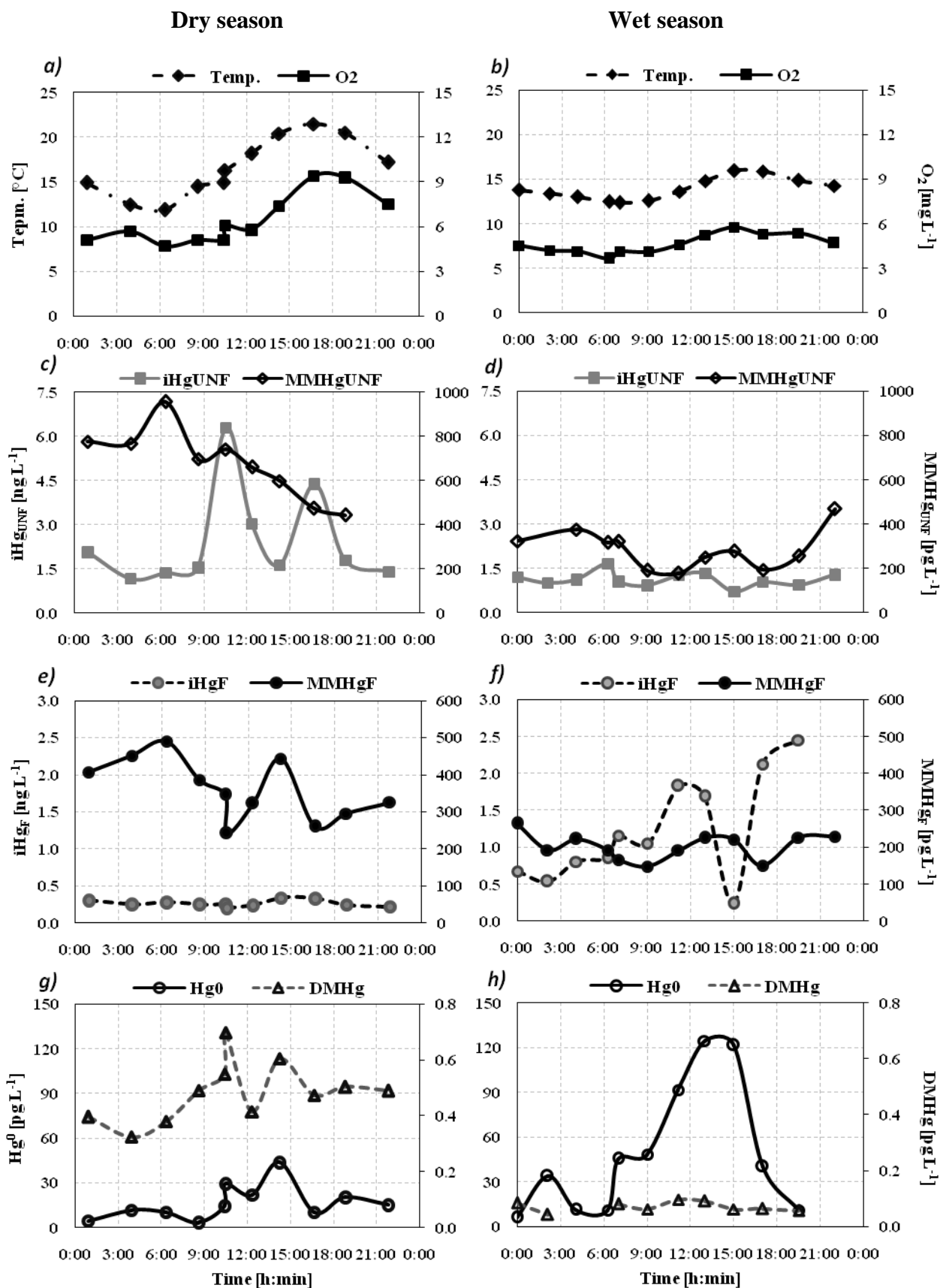


Figure 31: *a–h* Diurnal variability (24 h) of the different Hg species (iHg_{UNF}, iHg_F, MMHg_{UNF}, MMHg_F, Hg⁰, DMHg) in comparison with oxygen and temperature at the southern site (SS) of Lake Uru-Uru for late dry and wet seasons. UNF unfiltered, F filtered.

North site (NS)
Wet season

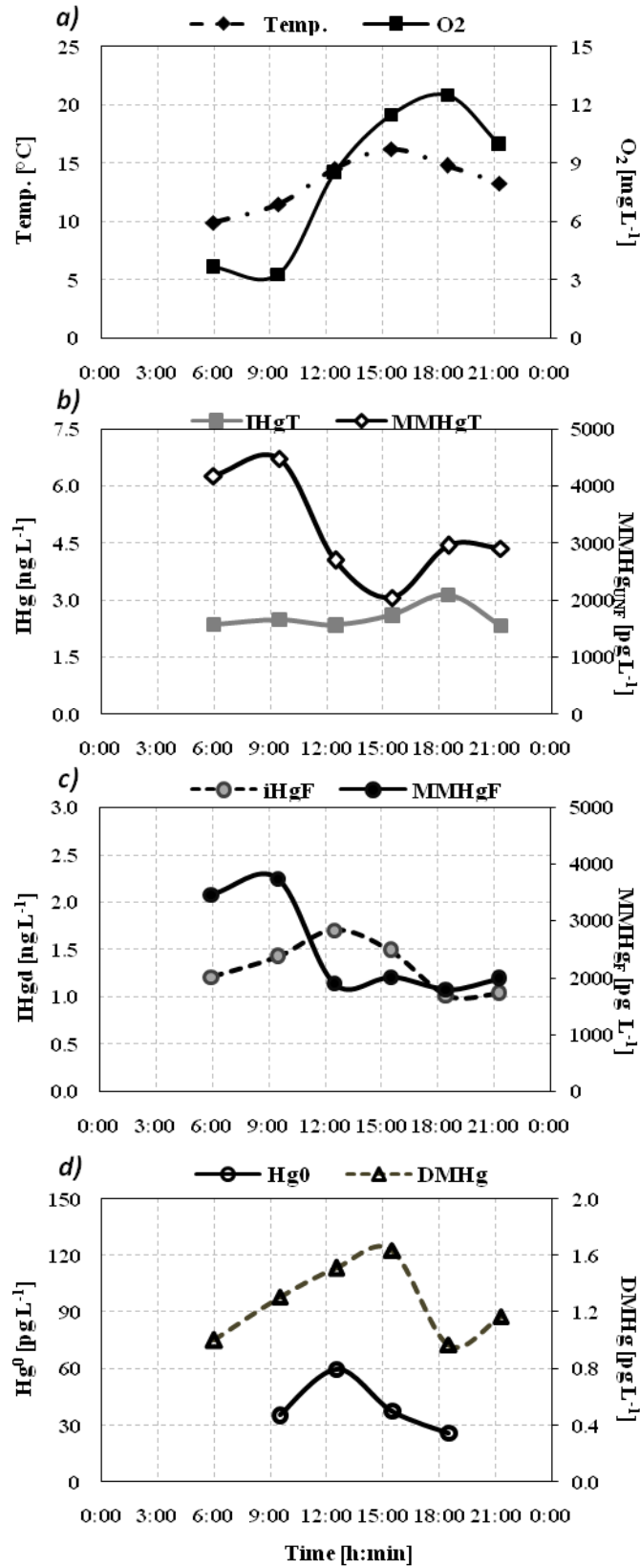


Figura 32: a-d Diurnal variability (24 h) of the different Hg species (iHg_{UNF}, iHg_F, MMHg_{UNF}, MMHg_F, Hg⁰, DMHg) in comparison with oxygen and temperature at the northern site (NS) of Lake Uru-Uru for the late wet season.

6.3.2 Sulfate reducing bacteria communities

The T-RFLP based on *dsr* genes polymorphism, applied to detect sulfate-reducing bacteria, indicated that they were present in all the samples collected at NS and SS in Lake Uru-Uru.

During the dry season, the composition of sulfate reducing bacterial communities in sediments and bio-organic aggregates was homogeneous (Figure 33), but very heterogeneous in water samples. Similar results were obtained in the water samples during the wet season (data not shown). This heterogeneity is probably due to the occurrence in different proportion of particulate material and also to the lower abundances in *dsrAB* genes. The correspondence analysis shows a strong effect of the reducing conditions (sediments vs water) on the samples' *dsrAB* diversity as distributed along the axis 1 (32% of the variance). It also highlights the influence of available organic carbon (water vs bio-organic aggregates) through the axis 2, explaining 30 % of the sulfate reducing bacteria communities composition.

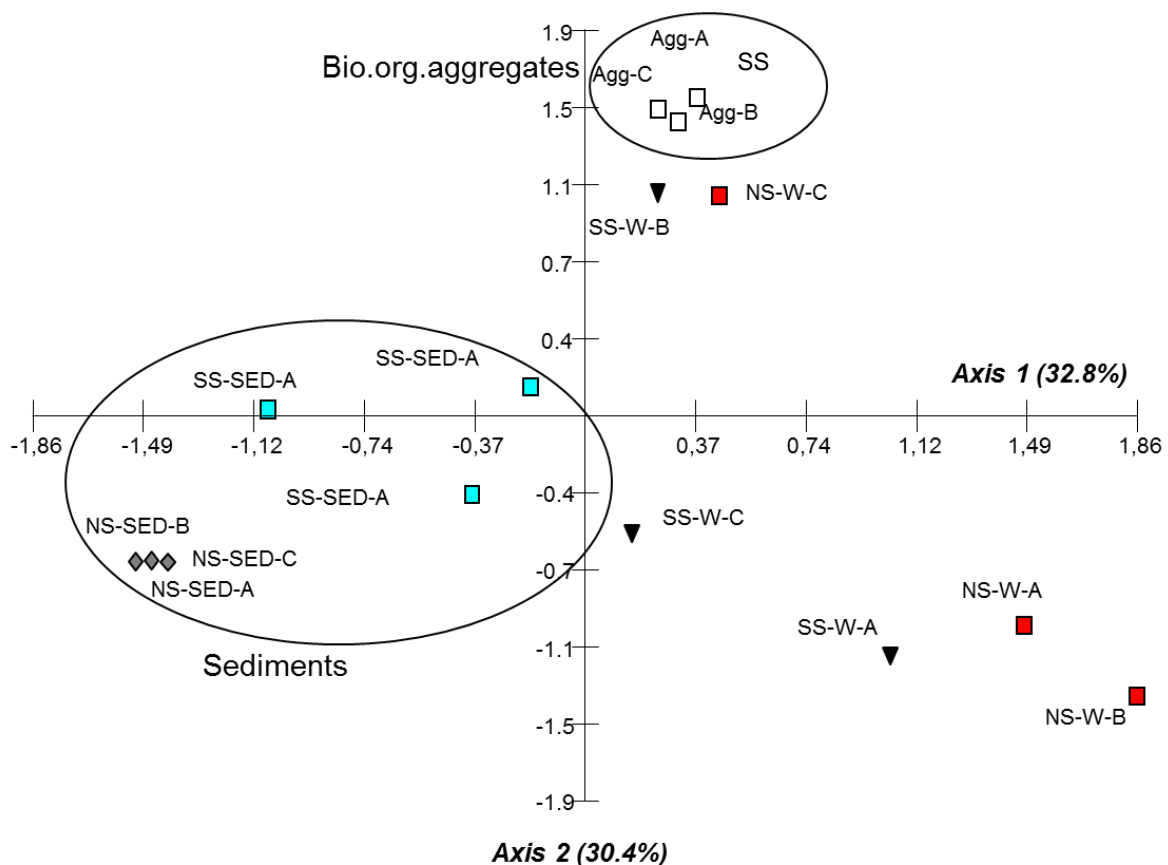


Figure 33 : Correspondence analysis based on T-RFLP results for the *dsrAB* genes in the samples collected during the late dry season at stations SS and NS and in different compartments (W water, Sed sediments, Agg floating bio-organic aggregates). The letters A, B, and C refer to triplicates for each sample

6.3.3 Hg methylation and demethylation in surface sediments

MMHg concentrations in sediments from Lake Uru-Uru were found to range from 0.9 ± 0.2 to 4.0 ± 1.3 ng g⁻¹ and those of iHg from 200 ± 12 to 394 ± 35 ng g⁻¹, with the highest values being observed at the NS site (Table B (SM)). Also, the percentages of organic carbon (~ 5.8 %) and sulfur (~1 %) were similar in magnitude at both sites. Concentrations of MMHg and iHg in sediments from Lakes Titicaca and Poopó were very low in comparison to those in Lake Uru-Uru (Table B (SM)).

6.3.3.1 Methylation

Overall, diurnal M rates in Lake Uru-Uru sediments ranged from 0.14 ± 0.05 to 1.1 ± 0.2 % d⁻¹ (Table 7, Figure 34). Higher M values were found at NS (1.0 - 1.1 % d⁻¹) than for SS (0.14 - 0.25 % d⁻¹) for both seasons ($p < 0.05$). M potentials remained significantly higher in dark conditions at both sites and for both seasons. Complementary data obtained from nearby Lake Titicaca and lake Poopó, showed similar ($p > 0.05$), but low M potentials (give values here), in the same range as those measured at SS for the same season (Table 7). These data probably reflect a baseline value for Hg methylation in undisturbed sediment of the TDPS watershed. The diurnal M potential in the sediments of Lake Uru-Uru are also comparable with other lacustrine or coastal sites previously investigated under similar experimental conditions (Table 8).

Table 7. iHg methylation, methylHg demethylation, and Hg net methylation (mean±SD, $n=3$) estimates in surface sediments and bio-organic substrates (aggregates and periphyton) in the Lake Uru-Uru, under dark and diurnal conditions, during late dry and wet seasons (October 2010 and May 2011) at both southern and northern sites and Lake Titicaca and Popoo (sediments only).

Matrix	Station	Season	Diurnal		Dark		Diurnal Net Methylation ng g ⁻¹ d ⁻¹	Dark Net Methylation ng g ⁻¹ d ⁻¹
			M % day ⁻¹	D % day ⁻¹	M % day ⁻¹	D % day ⁻¹		
Sediment surface	NS	Dry	1.1 ± 0.2	68.3 ± 0.2	5.1 ± 0.5	27.8 ± 3.3	3.4 ± 1.2	19.7 ± 4.0
		Wet	1.0 ± 0.1	10.1 ± 3.2	1.3 ± 0.2	28.8 ± 3.6	2.0 ± 0.5	2.0 ± 1.0
	SS	Dry	0.25 ± 0.04	15.6 ± 1.9	0.35 ± 0.02	28.0 ± 1.3	0.5 ± 0.2	0.6 ± 0.1
		Wet	0.14 ± 0.05	9.2 ± 1.8	0.26 ± 0.04	5.2 ± 0.7	0.19 ± 0.15	0.5 ± 0.1
	TC	Dry	0.10 ± 0.00	78.1 ± 1.9	0.10 ± 0.01	78.1 ± 1.7	-0.17 ± 0.03	-0.17 ± 0.03
	PP	Wet	0.06 ± 0.02	26.0 ± 4.0	< LD	29.1 ± 1.4	-0.02 ± 0.03	-0.03 ± 0.01
Bio-organic aggregates Totoras periphyton	SS	Dry	9.58 ± 0.05	18.0 ± 2.4	16.51 ± 2.8	15.1 ± 2.6	5.8 ± 1.8	12.2 ± 5.1
	NS	Wet	0.1 ± 0.0	13.4 ± 1.3	0.1 ± 0.0	13.0 ± 0.4	-2.1 ± 0.6	-2.1 ± 0.5

Limit of detection of the M and D method: LD = 0.1 % day⁻¹

M Hg methylation, D MMHg demethylation, SS southern, NS northern, TC Lake Titicaca, PP Poopó

Tabla 8. Comparison of potential methylation of iHg and demethylation of MMHg obtained in water, sediment, and bio-organic substrates (e.g., macrophytic and rhizospheric periphyton, or aggregated biofilms) of Lake Uru-Uru with values obtained from incubations in different regions and ecosystems.

Matrix	Location-ecosystem	Tracers and Method	Incubation Time (day)	Diurnal Methylation Yields (% d ⁻¹)	Diurnal Demethylation Yields (% d ⁻¹)	Reference
Waters	Mediterranean Sea (marine surface water)	¹⁹⁹ Hg Me ²⁰¹ Hg	1	0.3 - 6.3	6.4 - 24.5	Monperrus et al., 2007b
	Canada, Lakes (oxycline, water column)	¹⁹⁹ Hg Me ²⁰¹ Hg	1	0.6 - 14.8	0.12	Eckley and Hintelmann, 2006
	France, Arcachon Bay (1 m depth, water column)	¹⁹⁹ Hg Me ²⁰¹ Hg	1	≤0.02 - 0.8±0.2	6.2 ± 2.3 - 11.9 ± 1.4	Bouchet et al., 2013
	Argentina-Moreno lake (water with plankton < 50µm & UV-PA radiation)	¹⁹⁷ Hg	1	23±11	-	Ribeiro Guevara et al., 2008
	France, Adour River estuary (Bay of Biscay, SW) (coastal surface water)	¹⁹⁹ Hg Me ²⁰¹ Hg	1	< 0.01 - 0.4	6.6 - 55.3	Sharif et al., 2014
	Bolivia, Altiplano Lake UruUru (water column)	¹⁹⁹ Hg Me ²⁰¹ Hg	1	0.04 - 4.9	0.4 - 21.0	<i>Present study</i>
Sediments	Brazil, AmazonianLakes	²⁰³ Hg		0.022 - 0.41	-	Guimarães et al., 1994; 1999a
	Brazil, PantanalLake	²⁰³ Hg	3	1.2	-	Guimarães et al., 1998
	Brazil, Sao Paulo, L. do Diogo Lake	²⁰³ Hg	2-5	2.5		Lemos et al., 1999
	France, Mediterranean Sea (coastal surface sediments)	¹⁹⁹ Hg Me ²⁰¹ Hg	1	0.79 - 1.32	0.47 - 1.42	Monperrus et al., 2007
	France, Arcachon Bay (surface sediment)	¹⁹⁹ Hg Me ²⁰¹ Hg	1	0.4±0.004 - 3.2±0.2	47±8 - 72±4	Bouchet et al., 2013
	Bolivia, Altiplano, Lake Uru-Uru (surface sediment)	¹⁹⁹ Hg Me ²⁰¹ Hg	1	0.14 ± 0.05 - 1.1 ± 0.2	9.2±1.8 - 68.3±0.2	<i>Present study</i>
Floating macrophytes	Brazil, Pantanal Ipiranga Lake	²⁰³ Hg	3	2.2 - 3.5		Guimaraes et al., 1998
Phytoplankton	Brazil, Ribeirao das Lajes reservoir	²⁰³ Hg	4	1.5		Coelho-Souza et al, 2006
Periphyton macrophytes - associated	Brazil, eutrophic tropical Lagoinha Lake	²⁰³ Hg	4-12	17 / 1.5 - 7.7		Mauro et al., 2002
Periphyton roots-associated	Bolivia, Amazon, La Granja Lake	²⁰⁰ Hg; ²⁰³ Hg	1	27.5 - 42.7		Acha et al., 2005; Correia et al., 2012
	Bolivia, Amazon Viejo River Lake	²⁰³ Hg	1	3.1 - 4.4		Correia et al., 2012
	Bolivia, Amazon, Salinas Lake	²⁰³ Hg	1	0.19 - 0.21		
	France, SW, Sanguinet lake	¹⁹⁹ Hg Me ²⁰¹ Hg	1	6.0±2.3		Gentes et al., 2013
	France, SW, Aureilhan lake	¹⁹⁹ Hg Me ²⁰¹ Hg		4.7±3.7		
Totoras Periphyton	Bolivia, Altiplano, Lake Uru-Uru	¹⁹⁹ Hg Me ²⁰¹ Hg	1	0		<i>Present study</i>
Bio-organic Aggregate	Bolivia, Altiplano Lake Uru-Uru	¹⁹⁹ Hg Me ²⁰¹ Hg	1	9.58±0.05		

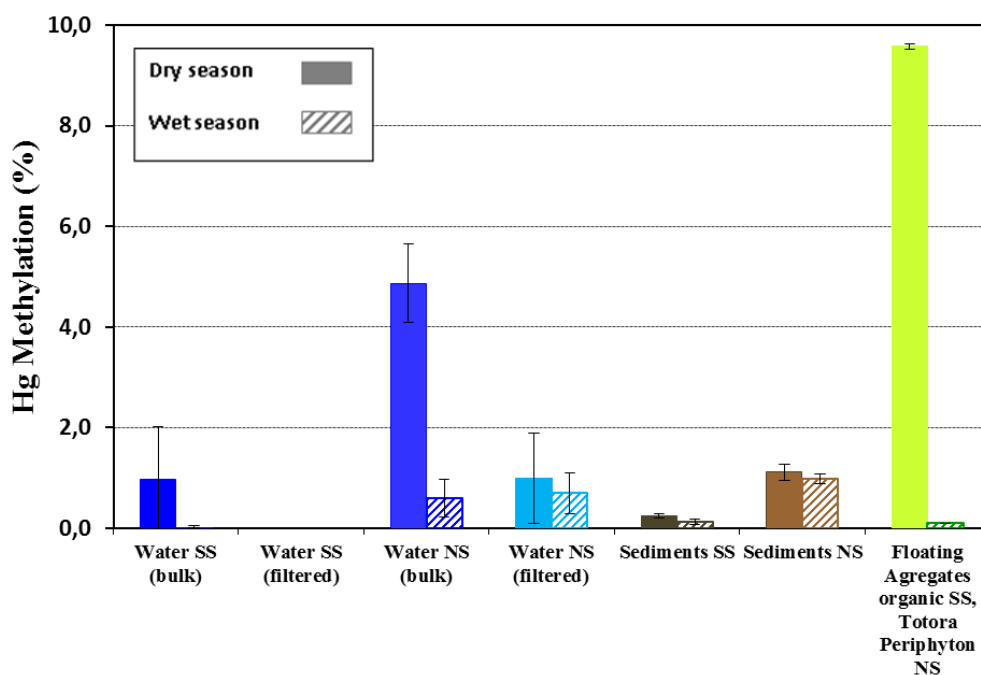


Figura 34 : Diurnal methylation potentials of Hg determined in the different compartments (bulk and filtered water, sediments, bioorganic substrates) at station SS and NS of Lake Uru-Uru for the dry (solid bars) and wet (striped bars)

6.3.3.2 Demethylation

Demethylation potentials in Lake Uru-Uru sediments during the dry season, under daylight conditions, were significantly different between NS and SS sites ($p < 0.05$), exhibiting $68.3 \pm 0.2 \% d^{-1}$ and $15.6 \pm 1.9 \% d^{-1}$ respectively (Table 8, Figure 35). Under dark conditions the D potentials were similar (28 ± 3 and $28 \pm 1 \% d^{-1}$) at both sites. In the wet season the D potentials were significantly lower for both NS and SS (respectively, 10.1 ± 3.2 and $9.2 \pm 1.8 \% d^{-1}$, $p < 0.05$). While under dark condition the D potentials were $29 \pm 4 \% d^{-1}$ for the NS and $5.2 \pm 0.7 \% d^{-1}$ for SS.

In Lake Poopó, D values were similar under daylight and darkness conditions ($26.0 - 29.1 \% d^{-1}$, Table 8) ($p > 0.05$), while much higher D potentials were measured in Lake Titicaca (ca. $78 \% d^{-1}$). In all sediment types from the different lakes of this Altiplano region, D always remains a significant process, as previously shown in sediments from other locations (Table 9). Degradation of MMHg in sediments of Lake Uru-Uru can not be clearly attributed to either light induced or dark processes, but likely involving more specifically different bacteria communities and assemblages. For instance, a study in anoxic sediments found that communities of metallogenic and sulfate-reducing bacteria are involved in MMHg demethylation processes (Oremland et al., 1991). Bouchet et al. (2013) also found significant

demethylation rates in a shallow coastal lagoon under similar experimental conditions (Table 8) which was clearly not enhanced under light exposition.

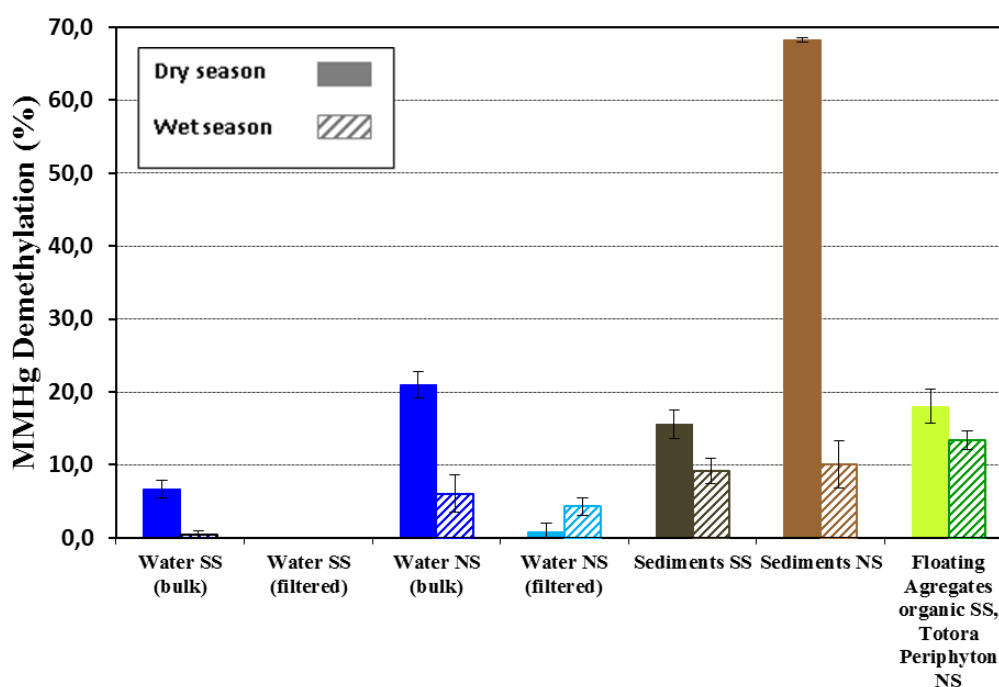


Figura 35 : Diurnal demethylation potentials of Hg determined in the different compartments (bulk and filtered water, sediments, bioorganic substrates) at station SS and NS of Lake Uru-Uru for the dry (solid bars) and wet (striped bars) season

6.3.3.3 Net methylation assessment

The net M calculations (Table 7) indicate that the methylation capacity of sediments was much higher relative to the water compartment, and leading to higher yield during the dry season. The comparison of the two sites shows that MMHg was mainly produced in the sediment at NS, for both seasons (3.4 ± 1.2 and 2.0 ± 0.5 $\text{ng g}^{-1} \text{d}^{-1}$ for the dry and wet seasons, respectively). Although net methylation rates at SS were lower than those at NS, they remained slightly positive (0.5 ± 0.2 and 0.19 ± 0.15 $\text{ng g}^{-1} \text{d}^{-1}$ for the dry and wet season respectively). In contrast, the negative net M in Lakes Titicaca and Poopó suggest that the sediment may not be a significant source, but a sink of MMHg (-0.17 ± 0.03 and -0.02 ± 0.03 $\text{ng g}^{-1} \text{d}^{-1}$, respectively).

6.3.4 Hg species distribution and transformation in the water column

6.3.4.1 Hg species seasonal and diurnal variations

Hg species concentration average and range obtained over the diurnal high resolution sampling at the two sites are reported in Table A (SM). At the SS, higher concentrations of unfiltered Hg (Hg_{UNF}) and unfiltered MMHg (MMHg_{UNF}) were observed during the dry season (3.1 ± 1.7 and $0.7 \pm 0.2 \text{ ng L}^{-1}$, respectively,) than for the wet season (1.4 ± 0.3 and $0.3 \pm 0.1 \text{ ng L}^{-1}$) ($p < 0.05$). This is consistent with the difference observed for conductivity and other metallic cations (data not shown), likely reflecting a concentration effect resulting from the enhanced evaporation at the end of the dry season. At the NS, the concentrations of Hg_{UNF} ($4.6 - 7.0 \text{ ng L}^{-1}$), and MMHg_{UNF} ($2.0 - 4.5 \text{ ng L}^{-1}$) were significantly higher ($p < 0.05$), than at the SS for the two seasons. Interestingly, the relative proportion of filtered MMHg (MMHg_{F}) was found extremely high, representing between 57 ± 5 to $23 \pm 9 \%$ at SS during the dry and wet season, respectively, with a maximum value of $64 \pm 8 \%$ at NS during the wet season. This high-filtered MMHg partition is probably the highest ever reported in high altitude lake ecosystems, compared to the southern oligotrophic Moreno lake (Patagonia, at 768m, 0.4 to 2.4 %) (Arcagni et al., 2013), or in the hypereutrophic contaminated Dianchi Lake (Tibet, 1881 m, 0.2 - 1.5%, (Wang et al., 2012). Concentrations of total filtered Hg ($\text{Hg}_{\text{F}} + \text{MMHg}_{\text{F}}$) at the SS site were $0.6 \pm 0.1 \text{ ng L}^{-1}$ in the dry season, and $1.3 \pm 0.8 \text{ ng L}^{-1}$ during the wet season, although higher values were measured at the NS site $3.8 \pm 0.8 \text{ ng L}^{-1}$ for the same season. Overall ($\text{Hg}_{\text{F}} + \text{MMHg}_{\text{F}}$) values in Lake Uru-Uru are similar to measurements in Moreno Lake ($1 - 5 \text{ ng L}^{-1}$) (Arcagni et al., 2013), or in waters from Andean glaciers (2.2 to 2.6 ng L^{-1}) (Maurice-Bourgoin et al., 2000), with the relative proportion of MMHg being significantly higher.

DGM concentrations were mainly composed by 97.0 to 99.9 % of Hg^0 with only 0-3% DMHg. DGM accounted for 0 to 15% of Hg_{F} . DGM concentrations (as Hg^0) at the SS averaged $16.8 \pm 11.7 \text{ pg L}^{-1}$ during the dry season and $49.7 \pm 43.8 \text{ pg L}^{-1}$ during the wet season. Whereas, the NS exhibits concentrations averaging $39.8 \pm 14.3 \text{ pg L}^{-1}$ in the wet season. The Hg^0 concentrations in Lake Uru-Uru ($3.3 - 124.7 \text{ pg L}^{-1}$) are in the same range as those documented for Alaskan lakes ($20.0 - 46.1 \text{ pg L}^{-1}$) (Tseng et al., 2004) or Canadian lakes ($32.1 - 58.2 \text{ pg L}^{-1}$) (Amyot et al., 1997). Levels of DMHg ($< \text{LD} = 0.04 - 1.64$) are rather low if compared with published marine studies in the Mediterranean Sea ($4 - 84 \text{ pg L}^{-1}$) (Monperrus et al., 2007a) or in the Arctic Ocean ($7.9 \pm 4.4 \text{ pg L}^{-1}$) (Kirk et al., 2008).

The diurnal concentrations of MMHg_T during the wet season decreased from sunrise (~ 6 h) to sunset (~18 h), and increased overnight until sunrise (Fig 31c and 32b). The concentration of Hg^0 in SS and NS (Figure 31h) increased from 06 h, with a peak between 12 h and 15 h to further decrease until sunset. The same behavior was also observed for Hg^0 and DMHg in NS during the wet season (Figure 32d).

Between both seasons MMHg_{UNF} and iHg_{UNF} exhibit different trends at SS that might be related to the occurrence of higher particles contents (and aggregates) during the dry season in the water column. MMHg showed a decreasing trend with increasing oxygen at the SS site during the dry season, and at the NS for the wet season ($r^2 = 0.8$, $p < 0.002$ and $r^2 = 0.8$, $p < 0.05$, respectively, but no trend, for SS during the wet season ($p > 0.05$) (Figure A.a, b in SM). This result suggests that MMHg net accumulation in the water column is likely enhanced when lower oxygen concentrations occur, especially at night when oxygen consumption processes are dominant. Besides MMHg has been reported to be produced within the anoxic layer of lake waters (Eckley and Hintelmann, 2006), no anoxia has been observed in this study. This may suggest that more reductive conditions in the water column likely associated to organic matter mineralization can promote Hg methylation as previously observed (Monperrus et al., 2007a; Bouchet et al., 2013). The occurrence of anaerobic bacteria communities in the water column located into anoxic micro-environments (e.g. particles) playing a role in Hg methylation, such as SRB, has been shown in this study and also previously established in other aquatic systems (Acha et al., 2012). During day-time, water in Lake Uru-Uru exhibited oxygen super saturation demonstrating intense primary productivity when MMHg levels are decreasing. Such photosynthetic activity may inhibit Hg methylation triggered under more reductive conditions. Also, this may be due to increased activity of filamentous algae *Oedogonium* sp. and other algae that have been found to accumulate MMHg (Lanza et al., 2015). The explanation of such decline in MMHg concentrations may also be associated to stronger light induced demethylation (Lehnher and St. Louis, 2009; Black et al., 2012). As shown in figures 31c, 31d and 32b, lower MMHg concentrations coincide with daylight maxima, which mean that solar radiation may influence decline of MMHg . However, the *in situ* incubations described later (“Biogeochemical transformation of Hg species in water” section) have shown that light induced pathways might not be so significant in these waters, since high DOM contents can play an important inhibition effect for UV-light induced demethylation pathways (Lehnher and St. Louis, 2009; Black et al., 2012).

The behavior of volatile Hg species also obeys diurnal changes (Figures 31g, 31h, 32d), Hg⁰ formation processes may be induced by solar radiation (Amyot et al., 1997). Low concentrations of Hg⁰ can be attributed to high-DOC concentrations, which decrease the availability of UV-B radiation to reduce iHg (Amyot et al., 1997). We can also observe (Fig. 31c-h, 32b-d) that a small fraction of decreasing MMHg might be converted to DMHg (Monperrus et al., 2007a). Overall, we have shown that MMHg and iHg in both dissolved and particulate (or total) phases can exhibit strong diurnal variations which are controlled by various biotic and abiotic processes difficult to be constrained for each season and site. Several pathways such as methylation, demethylation or reduction of Hg species in water are able to contribute to these variations (see below “Biogeochemical transformation of Hg species in water” section), while the dynamic exchange with other compartments such as surface sediments and Totorá’s substrates (see “Hg methylation and demethylation in surface sediments” and “Methylation and Demethylation in Bioorganic substrates” sections) might involve other sources and sinks for the water column.

6.3.4.2 Biogeochemical transformation of Hg species in water

6.3.4.2.1 Methylation

M potentials obtained in unfiltered water samples from lake Uru-Uru ranged between <0.02 to 4.9 % d⁻¹. Under light conditions, M potentials obtained from unfiltered water samples varied with seasonal changes at both sites (see Table 9, Figure 34), with higher methylation during the dry season ($p < 0.05$, Kruskal Wallis test). M potentials were 4.9 ± 0.6 and 0.6 ± 0.4 % d⁻¹ at the NS and 1.0 ± 0.9 and 0.04 ± 0.02 % d⁻¹, at the SS, during the dry and wet seasons, respectively. Dark conditions incubations exhibited M potential between 0.7 ± 0.1 and 7.7 ± 1.7 % d⁻¹, for the dry and wet seasons, respectively at the NS site, although no differences were found at the SS site among seasons (0.9 ± 0.8 and < 0.02 % d⁻¹).

For filtered water, M potentials, obtained from light and dark incubations, were lower than M potential measures in unfiltered water ($p < 0.05$). While, M potentials obtained at NS site under light and dark conditions were still significant, those obtained at SS site were below the detection limit ($< LD = 0.02$ % d⁻¹) under light conditions, and rather limited M potentials in dark condition (Table 9). This finding corroborates the observation made on the variations of MMHg concentrations during the 24-hour cycles. This also confirms that Hg methylation is probably mediated by micro-organisms and organic matter in the absence of sunlight and may also benefit from higher temperatures in the dry season. SRB were detected in all matrices,

but the structure of the community was highly variable and specific to the matrix incubated (water, sediments, floating organic aggregates) (Fig. 33).

Table 9. iHg methylation, MMHg demethylation, iHg reduction, and Hg net methylation (mean±SD, n=3) estimates in the water column of the Lake Uru-Uru, under dark and diurnal conditions, during late dry and wet seasons (October 2010 and May 2011) at both southern and northern sites

Matrix	Station	Season	Diurnal		Dark		R	Diurnal	Dark
			M	D	M	D		Net Methylation	Net Methylation
			% d ⁻¹	% d ⁻¹	% d ⁻¹	% d ⁻¹		ng L ⁻¹ d ⁻¹	ng L ⁻¹ d ⁻¹
Unfiltered water-surface	NS	Dry	4.9±0.8	21.0±1.8	7.7±1.7	20.5±1.4	0.6±0.2	0.20±0.30	0.45±0.48
		Wet	0.6±0.4	6.0±2.5	0.7±0.1	3.7±3.9	0.3±0.2	-0.11±0.08	-0.06±0.10
	SS	Dry	1.0±1.0	6.7±1.2	0.9±0.8	4.0±1.9	1.0±0.2	-0.01±0.04	0.00±0.03
		Wet	0.04±0.02	0.4±0.6	< LD	0.2±0.3	0.1±0.1	-0.00±0.00	-0.00±0.00
Filtered water surface	NS	Dry	1.0±0.9	0.8±1.2	0.6±0.2	0.02±0.23		0.01±0.04	0.01±0.00
		Wet	0.7±0.4	4.3±1.2	0.7±1.5	3.0±2.7		-0.06±0.08	-0.03±0.16
	SS	Dry	< LD	< LD	0.7±0.9	< LD		0.00±0.00	0.02±0.02
		Wet	< LD	< LD	0.1±0.1	2.0±0.4		-0.01±0.00	0.00±0.00

Limit of detection of the M and D method: LD = 0.02 % day⁻¹

M Hg methylation, D MMHg demethylation, R iHg reduction, SS southern, NS northern

Comparison to literature values (Table 8) shows that the maximum M potential obtained under light condition (NS: 4.9 % d⁻¹) is significantly higher than the maximum values obtained in the Arcachon Bay (0.8 % d⁻¹; (Bouchet et al., 2013) or in estuarine and coastal waters (0.4 % d⁻¹; (Sharif et al., 2014). However, these significant M potential values remain in the range of M potential rates determined in the anoxic waters of Canadian lakes (0.6 - 14.8 % d⁻¹, (Eckley and Hintelmann, 2006), in oxic waters from the Mediterranean (0.3 - 6.3 % d⁻¹) (Monperrus et al., 2007a) and in Moreno Lake, Argentina (23 ± 11 % d⁻¹) (Ribeiro Guevara et al., 2008).

6.3.4.2.2 Demethylation

Significant demethylation potentials (D) were measured in surface unfiltered water of Lake Uru-Uru (0.4 to 21% d⁻¹), with almost no significant difference between daylight and in dark conditions (Table 9, Figure 35). However, D potentials varied seasonally and among sites, being higher in the dry season compared to the wet season (p< 0.05) and higher at the NS compared to SS for both season (p< 0.05). At NS, D potentials in dry season were significantly higher (21 % d⁻¹) than for the wet season (3.7 - 6.0 % d⁻¹). At SS, D potentials during the dry season were also much higher (4.0 - 6.7 for dark and light) than during the wet season (0.2 - 0.4 % d⁻¹). In filtered water, D was either below the detection limit for SS or lower to the values obtained from unfiltered water (except for wet season /dark conditions in SS). These results suggest that demethylation remains a major pathway in waters of Lake

Uru-Uru, mostly associated to the presence of suspended particulate material and via biotic processes, while direct light induced photochemical pathways appears to be of lower importance. As previously observed in various coastal environments (Bouchet et al., 2013; Sharif et al., 2014) biotic induced demethylation can be a significant pathway to reduce MMHg extent in the water column.

D potentials results for unfiltered water incubation are higher than those measured in the anoxic waters of lakes in Canada (0.12 \% d^{-1}) (Eckley and Hintelmann, 2006); comparable with those measured in a tidal bay by (Bouchet et al., 2013) ($6.2 - 11.9 \text{ \% d}^{-1}$) but lower compared to those recorded in coastal and marine waters; ($6.4 - 24.5 \text{ \% d}^{-1}$) (Monperrus et al., 2007a) and ($6.6 - 55.3\% \text{ d}^{-1}$) (Sharif et al., 2014), respectively (Table 8).

6.3.4.2.3 Reduction

The reduction potential (R) in Lake Uru-Uru was found of limited intensity, and could only be detected during the dry season ($0.6 - 1.0 \text{ \% d}^{-1}$, Table 9). These low R potentials are consistent with the low Hg^0 concentrations measured in the lake (Table A). The high content of DOC found in the Lake is large enough to potentially inhibit UV and visible light radiations that may induces Hg reduction reactions (Amyot et al., 1997). Further on, Hg^0 concentrations can also be limited by concomitant photo-oxidation processes catalyzed by organic radicals (Lalonde et al., 2001; Mason et al., 2001).

6.3.4.2.4 Net Methylation assessment

During the dry season, the diurnal net methylation capacity (see SM for details) obtained from unfiltered water samples at NS was $0.20 \pm 0.30 \text{ ng L}^{-1} \text{ d}^{-1}$ under light conditions, compared to $0.45 \pm 0.48 \text{ ng L}^{-1} \text{ d}^{-1}$ in dark conditions. During the wet season the net methylation capacity exhibits a loss of MMHg within the same range under light ($-0.11 \pm 0.08 \text{ ng L}^{-1} \text{ d}^{-1}$) and dark conditions, ($-0.06 \pm 0.10 \text{ ng L}^{-1} \text{ d}^{-1}$), while this was rather limited when compared to the dry season. At the SS site, net MMHg production for both seasons was found insignificant for both dark and diurnal conditions (Table 9). The rather limited net MMHg production observed in the water column of the lake contrasts with the high MMHg concentrations determined in this compartment (Fig. 31 & 32; Table A). This suggests that MMHg present in the water column likely originates from another source. The comparison between the extent of the diurnal variation of MMHg concentrations in water with the net M potentials integrated for the same compartment during the same period of time (24 hour) (details in SM, Table C) shows that the high accumulation of MMHg measured in water reflects mainly MMHg released from sediment or bio-organic substrates as previously suggested in other ecosystems

(Table 8, (Guimaraes et al., 1999; Guimarães et al., 2000; Point et al., 2007b; Bouchet et al., 2013).

6.3.5 Methylation and Demethylation in Bio-organic substrates

Organic floating aggregates presented higher concentrations of iHg ($86.4 \pm 13.5 \text{ ng g}^{-1}$) than the periphyton associated with the Totorá plant ($33.5 \pm 2.5 \text{ ng g}^{-1}$) (Table B). Similar concentrations of MMHg were found in the Totorá's periphyton ($16.1 \pm 3.2 \text{ ng g}^{-1}$) and in floating organic aggregates ($13.5 \pm 0.8 \text{ ng g}^{-1}$).

The M potential of the floating organic aggregates incubated under sunlight conditions was $9.58 \pm 0.05 \text{ \% d}^{-1}$, and $16.5 \pm 2.8 \text{ \% d}^{-1}$ under dark conditions (Table 7, Figure 34). Diurnal and dark D rates were in a similar range with 18.0 ± 2.4 and $15.1 \pm 2.6 \text{ \% d}^{-1}$, respectively. This indicates that in floating organic aggregates, methylation takes place principally by means of dark biotic mechanisms. This process is probably linked to sulfate-reducing bacterial community identified in this matrix, which is also different from other SRBs communities found in the waters and sediments of Lake Uru-Uru (Fig. 33). The formation of anoxic niches in the organic aggregates may also promote Hg methylation mediated by anaerobic communities. In this sense, it should be taken into account that the particulate matter, and more specifically large and small organic aggregates, may be also components contributing to MMHg burden in the water column as observed during the dry season.

Hg methylation capacity of the periphyton associated with Totorá plants was found negligible ($< \text{LD} = 0.1 \text{ \% d}^{-1}$). However, significant D extents were measured ($13.4 \pm 1.3 \text{ \% d}^{-1}$), with no difference with the incubation made under darkness (Table 7, Figure 34 & 35). Conversely, these results show a high MMHg demethylation capacity involving the participation of diverse aquatic micro-organisms, including bacteria communities. Periphyton associated with Totorá's plant tend to accumulate MMHg. Interestingly, Lanza et al. (2015) suggest that algae found in these periphyton, such as *Oedogonium sp.* can bioconcentrate metals and also MMHg in Lake Uru-Uru showing that periphyton could be beneficial in reducing aqueous MMHg by both accumulation and degradation.

6.3.5.1 Net methylation assessment in Bio-organic substrates

The floating organic aggregates were characterized by a net methylation capacity of $5.8 \pm 1.8 \text{ ng g}^{-1} \text{ d}^{-1}$, which is twice higher under dark conditions, while Totorá's periphyton showed a net demethylation capacity of $2.3 \pm 0.7 \text{ ng g}^{-1} \text{ d}^{-1}$, with no change in dark condition (Table 7). MMHg production in periphyton isolated from Totorá plants seems very low in comparison to

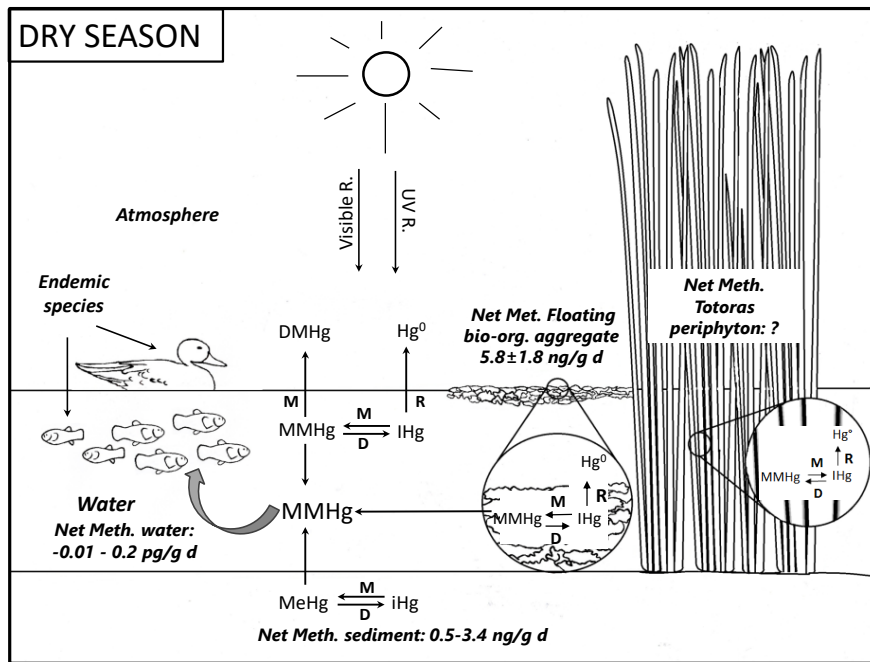
previous experiments with periphyton associated to macrophytes from the Bolivian Amazon (Table 8). Mean while, the diurnal methylation potential of floating organic aggregates ($9.58 \pm 0.05 \% d^{-1}$) was found to be in the same range than the periphyton associated with macrophytes from tropical ecosystems and from other temperate lakes (Table 8).

6.4 Implications for MMHg contamination in Lake Uru-Uru

Lake Uru-Uru (and part of the TDPS watershed, Bolivian Altiplano) acts as a sink for several mining and urban waste effluents (Garcia Moreno, 2006; Tapia et al., 2012). Hg pollution may become an important threat for local population living from hunting and fishing of several endemic species. Potential exposure to elevated MMHg levels was assessed in various species of water birds and fish from Lake Uru-Uru exhibiting Hg levels averaging around 2 and $1 \mu g \cdot g^{-1}$, in birds and fish muscle, respectively (Molina et al., 2012; Aguirre et al., 2014). Thus the elucidation of the main processes controlling the production of MMHg in the Lake is of primary importance and is summarized in Figure 36.

During the dry season, the highest Hg methylation potential was found in floating organic aggregates, followed by sediments (Fig. 36a). A lower methylation capacity in sediments was found during the wet season (Fig. 36b). The origin of the floating organic aggregates and their biological composition is not well understood. Their presence was only reported during the dry season and may result from the decomposition and flocculation of fresh organic matter originating from the autotrophic production of plankton, Titora's periphyton exudates and suspended particulate matter in combination with the higher conductivity reported during this season. The complementary contribution of organic matter originating from the discharge of urban effluents localized in the Northern part of Lake Uru-Uru has also to be considered. Hg methylation potentials measured were low in the water column compared to the sediments. This suggests that the increasing MMHg concentrations measured in the water during the 24-hour cycle may also reflect the contribution of MMHg originating from other aquatic compartments, such as bio-organic substrates during the dry season, but with a constant resupply from the sediment compartment.

(a)



(b)

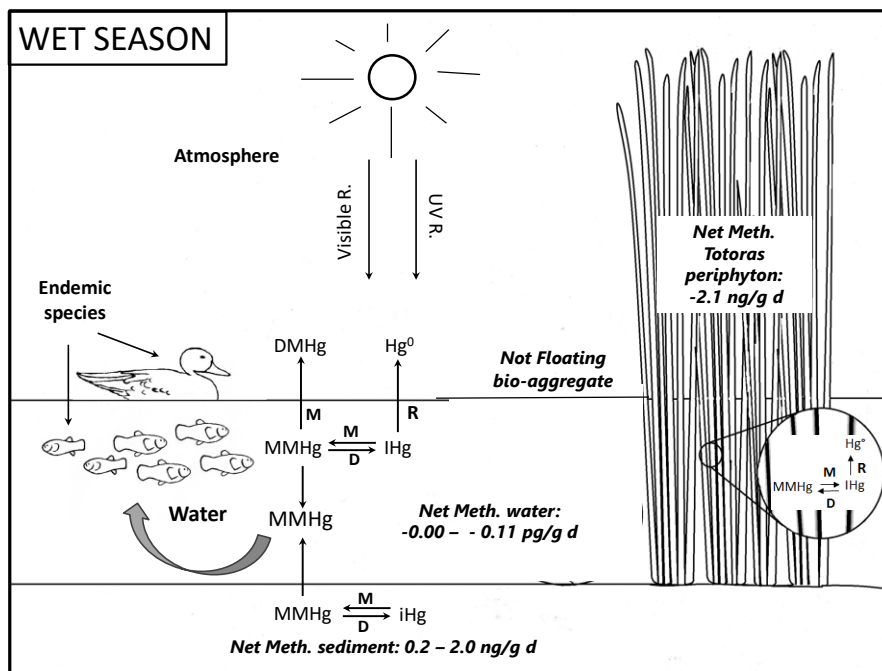


Figura 36: Schematic representation of the potential net methylation of Hg occurring in different compartments of Lake Uru-Uru for a dry season and b wet season. Net methylation are expressed in nanograms per gram per day in order to compare water, sediment, and bio-organic substrate incubation measurements.

Conclusiones

A través del estudio de la reactividad y transformación del Hg realizado en el lago Uru-Uru, ubicado sobre la planicie del Altiplano Boliviano, en una zona intertropical a nivel planetario, se puede llegar a concluir:

1. Que este ecosistema acuático poco profundo es altamente productivo y muestra fuertes gradientes en las características fisicoquímicas a nivel espacial y diurno, las cuales son reguladas por las incidencias de radiación solar según la estación del año.
2. La contaminación minera y urbana observada en la parte Norte del lago influye favorablemente en la producción de MMHg por los diferentes compartimientos estudiados, principalmente en la época seca.
3. En la parte Sur del lago (no contaminado), en la época seca fueron los agregados bio-orgánicos los mayores productores de MMHg ($5,8 \text{ ng MMHg g}^{-1} \text{ d}^{-1}$), seguidos de los sedimentos ($0,5 \text{ ng MMHg g}^{-1} \text{ d}^{-1}$). Sin embargo por la ausencia de los agregados bio-orgánicos en la época húmeda y por su menor masa respecto a la masa de los sedimentos superficiales, los mayores representantes de la producción de mercurio en este ecosistema son los sedimentos.
4. En el sitio Norte se ha identificado que el perifiton de las totoras es el compartimiento que contiene la mayor concentración de Hg, cuyo rol es degradar ó demetilar MMHg en una tasa de $2,1 \text{ ng MMHg g}^{-1} \text{ d}^{-1}$.
5. Estos resultados nos muestran que en los ecosistemas acuáticos intertropicales de altitud, la producción de MMHg es favorecida en ambientes contaminados por materia orgánica y aguas ácidas de mina. Por lo que una bioacumulación y biomagnificación de este tóxico podría ser observada a lo largo a la cadena alimentaria.

7. Conclusiones finales de la tesis

En el lago Uru-Uru un ecosistema acuático de altura, altamente productivo por su ubicación en la región tropical, la reactividad del Hg está regida por las condiciones fisicoquímicas del medio, las cuales se encuentran sujetas a cambios estacionales (época seca y húmeda). Durante la época seca, las fuertes incidencias solares producen la evaporación de sus aguas, dando como resultado el incremento en la salinidad. En la época de lluvias, un efecto de dilución es observado para los elementos mayoritarios, mientras que para el Hg no es significativo. Este medio alcalino de fuertes concentraciones en sulfatos y bicarbonatos posee una gran capacidad tampón adecuado para la precipitación y posterior almacenamiento de Hg y de diversos metales y metaloides en los sedimentos desde la columna de agua. Los almacenamientos de Hg, metales, metaloides y materia orgánica en el lago están promovidos por las actividades mineras y urbanas que se vienen desarrollando en la región.

Los contaminantes (metales, metaloides y materia orgánica) provenientes desde las zonas mineras y urbanas circundantes al lago Uru-Uru, además de las altas concentraciones de fosfatos, le confiere la característica de un lago eutrofizado. Dichas condiciones favorecen la fotosíntesis, la producción primaria de materia orgánica y el incremento de la concentración de oxígeno en la columna de agua durante el día. Mientras que durante la noche el consumo de oxígeno por la respiración de los organismos acuáticos, van disminuyendo creando medios cada vez más anóxicos, favoreciendo la producción de MMHg por las poblaciones de bacterias sulfatoreductoras.

Los altos porcentajes de MMHg en forma disuelta o que se encuentra en la fracción filtrada (~50%), están probablemente relacionadas con la alta concentración de ligandos orgánicos (como ácidos húmicos) y cloruros que mejoran la solubilidad del MMHg.

La autodepuración o desintoxicación de Hg en el lago, que implica la fotodegradación del MMHg y la reducción bacteriana del Hg, probablemente esté limitada por la formación de complejos estables de Hg con ligandos orgánicos (húmicos) difíciles de descomponer, pero además por la alta concentración de materia orgánica que podría restringir la entrada de la radiación UV.

Las altas concentraciones de MMHg y THg en las fracciones filtradas de aguas de los sitios Norte del lago y en la confluencia de las aguas del lago con el río Huanuni durante la época seca y húmeda, indican un mismo origen y un aporte significativo de Hg en forma disuelta desde las áreas mineras durante la época húmeda. Este hecho fue corroborado al observar que durante la época húmeda las dos formas de mercurio (iHg y MMHg), metales y metaloides en forma disuelta no sufren una dilución importante, como la observada en los elementos mayoritarios.

La poca profundidad del lago podría influir en la contribución de MMHg desde los sedimentos por flujos béticos o fenómenos de advección en los sedimentos del lago. Las altas concentraciones de Hg, metales y metaloides en los sedimentos de la confluencia del drenaje del lago Uru-Uru con el río Huanuni y en sitio Norte, son producto de la precipitación de estos elementos por las condiciones básicas del medio (pH básico), los cuales se encontraban en forma oxidada en los drenajes ácidos de minas y en forma reducida al momento de su emisión.

Por una parte los valores de los coeficientes de correlación entre el Fe y THg; THg y MMHg en la fracción filtrada de las aguas de los sitios Norte y confluencia del lago con el río Huanuni, indican que probablemente el hierro se encuentra en forma de coloides de SFe, así como otros metales y las especies de iHg y MMHg, lo que explicaría las elevadas concentraciones de estos compuestos en la columna de agua en ambas épocas.

Por otra parte los coeficientes de correlación encontrados entre el THg y elementos traza (Sb y W dos metales explotados en la región) presentes en los sedimentos, confirma que los desechos originados por las actividades mineras (material inerte y aguas ácidas) probablemente son las mayores fuentes de Hg para el lago, en combinación con los flujos urbanos.

Los coeficientes de partición y los flujos difusivos calculados utilizando la ley de Fick a partir de las concentraciones de $MMHg_F$ presente en las aguas, aguas intersticiales, indican que existe una transferencia importante de MMHg desde los sedimentos hacia la columna de agua durante la época seca y un proceso inverso pero poco significativo durante la época húmeda.

Del estudio realizado acerca de la reactividad temporal del Hg en los sitios puntuales del lago Uru-Uru se concluye que las producciones de MMHg en la columna de agua están regidas por las condiciones de las características fisicoquímicas del sistema acuático. Estas

condiciones están sujetas a cambios de estaciones y los contaminantes inorgánicos y orgánicos presentes en el medio.

La producción de MMHg en la columna de agua es favorecida durante la noche, en condiciones de medios anóxicos (creadas el procesos de respiración) y es promovida por la presencia de poblaciones de bacterias sulfatoreductoras.

Se ha observado que en los sitios más contaminados por desechos mineros y urbanos aumentan la producción de MMHg en la columna de agua y en los sedimentos, como es el caso del sitio Norte del lago Uru-Uru. Sin embargo también deben considerarse, para un lago poco profundo, los aportes de MMHg generados por los incrementos de los flujos bénticos. Si bien las incidencias de radiación solar y UV, podrían favorecer las reacciones de reducción del Hg, esta se encuentra limitada.

Los potenciales de metilación y demetilación medidos en las diferentes matrices nos muestran que estos compartimientos, en menor o en mayor medida son capaces de metilar el mercurio, a excepción del perifiton de las totoras. El perifiton de las totoras mostró tener una gran capacidad para demetilar el MMHg y almacenar este compuesto.

Se ha identificado a los agregados bio-orgánicos flotantes (presentes únicamente durante la época seca) como los mayores metiladores de mercurio, con una capacidad de metilación de $9,58 \pm 0,05$. Con una concentración de $99,9 \pm 14,3 \text{ ng g}^{-1}$ en HgT y de $13,5 \pm 0,8 \text{ ng g}^{-1}$ en MMHg, su aporte podría ser significativo en la columna a agua. Sin embargo considerando la cantidad de masa de los agregados bio-orgánicos flotantes y la masa de capas superficiales de los sedimentos, los mayores aportes de MMHg fueron emitidos desde los sedimentos, durante la época seca. La tasa neta de metilación de Hg de esta matriz, varía entre $0,2$ a $3,4 \text{ ng g}^{-1} \text{ día}^{-1}$ de la época húmeda a la seca. Este hecho es corroborado por el estudio de los coeficientes de partición y los flujos difusivos de MMHg y IHg, cuya dirección de flujo va desde los sedimentos hacia la columna de agua.

De todo el estudio realizado se concluye que el lago Uru-Uru es un ecosistema acuático de alta reactividad para el Hg y la producción de MMHg, controlada por procesos abióticos y bióticos los que a la vez están regulados por factores ambientales naturales y antropogénicos.

Al mismo tiempo nos encontramos en un ambiente donde existe una gran probabilidad de que la forma más disponible de Hg (MMHg), sea incorporada en los diferentes organismos

acuáticos, bioacumulada y biomagnificada a lo largo de la cadena alimentaria, explicando las elevadas concentraciones encontradas en los peces y aves de los lagos Uru-Uru y Poopó por Molina et al. (2012).

El lago Uru-Uru es una clara muestra de los muchos ecosistemas acuáticos de altura del altiplano boliviano impactados por las actividades mineras y/o urbanas, donde los pobladores consumidores de pescado y las especies silvestres, podrían estar expuestos a MMHg.

8. Perspectivas científicas

Después de tener conocimiento de los primeros casos de intoxicación por MMHg en Minamata e Irak por los años 1950, debido a la alta toxicidad y propiedad bioacumulativa del Hg en los organismos, los estudios respecto a la transformación del Hg en diferentes compartimientos acuáticos, terrestres y atmosféricos han cobrado relevancia. Para realizar estos estudios, en el transcurso del tiempo, nuevas e innovadoras herramientas tecnológicas y metodológicas han sido desarrolladas para la determinación de las diferentes especies de Hg en diferentes órdenes de magnitud y por tipo de matriz. El método analítico de la dilución isotópica de doble-spike (DSIDA) (Hintelmann et al., 1997; Monperrus et al., 2005b), el uso de trazadores enriquecidos isotópicamente ($^{201}\text{MMHg}$ y ^{199}iHg), la utilización de equipos combinados GC-ICPMS se han permitido la cuantificación del iHg y MMHg en muestras ambientales y la observación de las transformaciones del Hg.

En los diferentes ecosistemas a nivel del mar o a poca altitud diferentes estudios dan cuenta de la cuantificación de las diferentes especies de Hg así como de los procesos de su transformación. Si bien se cuenta con alguna información de los niveles de Hg en diferentes matrices de ecosistemas de altitud, la información acerca de los procesos de transformación del Hg es escasa para ecosistemas que se encuentran a gran altitud.

En el Altiplano Boliviano fueron encontrados indicios de la bioacumulación del MMHg en peces y aves de dos ecosistemas acuáticos tropicales de altura (Uru-Uru y Poopó), sometidos a fuertes presiones antropógenicas mineras y urbanas.

Por lo que este estudio, a través de instrumentos de última tecnología y metodologías sofisticadas antes descritas, por primera vez, se ha llegado a 1) comprender el ciclo biogeoquímico del Hg en el lago Uru-Uru, los mecanismos que gobiernan su transformación y cuantificar el potencial de metilación del Hg; y 2) cuantificar las diferentes especies de Hg formadas en el lago, comprender su dinámica frente a contaminantes mineros y urbanos; y determinar las posibles fuentes de Hg y MMHg.

En el lago Uru-Uru los agregados bio-orgánicos, una matriz nunca antes estudiada, ha sido el mayor metilador de Hg en la época seca. Estudios posteriores acerca de los mecanismos de metilación de Hg en esta matriz en otros ecosistemas acuáticos, podría ayudar a comprender mejor la transformación del Hg. Mientras que el perifiton de las totoras, por su capacidad de almacenamiento y descomposición de MMHg, podría ser utilizado como detoxificante de MMHg en ecosistemas acuáticos. Sin embargo tal parece que esta capacidad es limitada, dado que la gran densidad de totoras en el lago Uru-Uru no fue suficiente para la

descomposición de las elevadas concentraciones de MMHg. Una evaluación de los niveles de MMHg en ecosistemas similares de altitud podría ayudar en la toma de decisiones políticas que ayuden a proteger y mejorar las condiciones de la vida silvestre y humana.

Frente a los elevados porcentajes de MMHg en forma disuelta en el agua y su inminente bioacumulación en los organismos (peces, aves y humanos consumidores de peces), promovidos por las altas concentraciones de materia orgánica, metales pesados y metaloides, es necesario realizar una evaluación del impacto del Hg en las comunidades consumidoras de pescado del lago Uru-Uru.

Por otra parte será necesario que el gobierno de manera seria y responsable, a través de sus dependencias como son las gobernaciones, ministerios y viceministerios de Medio Ambiente y Aguas y Minería, implenten políticas para el tratamiento de aguas servidas, aguas ácidas de minas y el control de la emisión de residuos sólidos de mina hacia los cuerpos de agua.

Conclusions de la thèse

Dans le lac d'altitude Uru-Uru, hautement productif de par sa situation en région tropicale, la réactivité du Hg est contrôlée par les conditions physico-chimiques extrêmes du milieu, lesquelles sont soumises à des changements saisonniers au cours de l'année (saisons sèche et humide). Pendant la saison sèche, les forts rayonnements solaires accompagnés de sécheresse conduisent à l'évaporation de ses eaux et ainsi à l'augmentation de la salinité. En saison humide, on observe un effet de dilution des éléments majeurs mais cela n'est pas significatif pour le Hg. Ce milieu alcalin à fortes concentration en sulfates et bicarbonates possède une forte capacité tampon adéquate pour la précipitation en ensuite le stockage du Hg et autres métaux et métalloïdes dans les sédiments à partir de la colonne d'eau. Le stockage du Hg, métaux, métalloïdes et matière organique dans le lac sont favorisés par les activités minières et urbaines qui ont lieu dans la région.

Les contaminants (métaux, métalloïdes et matière organique) qui proviennent des zones minières et urbaines aux alentours du lac Uru-Uru, en plus des fortes concentrations en phosphates, lui donnent la caractéristique d'un lac eutrophique. De telles conditions favorisent la photosynthèse, la production primaire de matière organique et l'augmentation de la concentration en oxygène pendant la journée. D'un autre côté, pendant la nuit la consommation de l'oxygène par la respiration des organismes aquatiques diminue cette concentration, créant des milieux chaque fois un peu plus anoxiques, ce qui favorise la production de MMHg par les communautés de bactéries sulfato-réductrices.

Les forts pourcentages en MMHg sous forme dissoute, ou qui se trouvent dans la fraction filtrée (~50%), sont probablement dus à la forte concentration en ligands organiques (comme les acides humiques par exemple) et les chlorures qui augmentent la solubilité du MMHg.

L'autoépuration ou détoxification du Hg dans le lac, qui implique la photodégradation du MMHg et la réduction du Hg^{2+} , est probablement limitée par la formation de complexes stables du Hg avec des ligands organiques (humiques) plus difficiles à dégrader, mais aussi par la forte concentration en matière organique qui peut restreindre la pénétration des rayons UV.

Les fortes concentrations en MMHg et THg dans les fractions filtrées des eaux du site Nord du lac et à la confluence des eaux du lac avec la rivière Huanuni pendant les saisons

sèches et humides indiquent une même origine et un apport significatif de Hg depuis les zones minières pendant la saison humide. Cette hypothèse est ensuite confirmée par l'observation de l'absence d'une dilution importante des 2 formes de Hg (iHg et MMHg), métaux et métalloïdes sous forme dissoute pendant la saison humide, ce qui n'est pas le cas pour les éléments majeurs.

La faible profondeur du lac pourrait influencer la remobilisation du MMHg à partir des sédiments par des flux benthiques ou des phénomènes d'advection dans les sédiments du lac. Les fortes concentrations en Hg, métaux et métalloïdes dans les sédiments à la confluence du drainage du lac Uru-Uru avec la rivière Huanuni au site Nord résultent de la précipitation de ces éléments, lié aux conditions basiques du milieu (pH basique), qui se trouvent sous forme oxydée dans les drainages acides des mines et sous forme réduite au moment de leur émission.

A partir des corrélations observées entre Fe et THg, et entre THg et MMHg, dans la fraction filtrée des eaux du site Nord et à la confluence du lac avec la rivière Huanuni, nous avons conclu que le fer se trouve sous forme de colloïdes S-Fe, tout comme d'autres formes métalliques telles que iHg et MMHg, ce qui expliquerait les concentrations élevées de ces espèces dans la colonne d'eau pour les deux saisons.

Les coefficients de corrélation observés entre THg et les éléments traces (Sb et W) présents dans les minerais exploités confirment que les déchets d'origine minière (matériaux inertes et eaux acides) sont probablement la source principale du Hg pour le lac, en association avec les flux urbains.

Les coefficients de partition et les flux de diffusion calculés avec la loi de Fick à partir des concentrations de MMHg dans les eaux et eaux interstitielles indiquent qu'il existe un transfert important de MMHg des sédiments à la colonne d'eau pendant la saison sèche, et le phénomène inverse pendant la saison humide.

A partir de cette étude réalisée sur la réactivité temporelle du Hg sur des sites particuliers du lac Uru-Uru, nous concluons que la production de MMHg dans la colonne d'eau est contrôlée par les caractéristiques physico-chimiques du système aquatique. Ces conditions sont affectées par les changements saisonniers et par les contaminants inorganiques et organiques du milieu.

La production de MMHg dans la colonne d'eau est favorisée pendant la nuit en conditions anoxiques (résultant du processus de respiration) et est liée à la présence de communautés de bactéries sulfato-réductrices.

Nous avons observé que dans les sites les plus contaminés par les déchets miniers et urbains, la production de MMHg dans la colonne d'eau et les sédiments est accrue, ce qui est le cas au site Nord du lac Uru-Uru. D'un autre côté il faut considérer, pour le cas d'un lac de faible profondeur comme celui-ci, que les apports de MMHg peuvent être dus à l'augmentation des flux benthiques. Bien que les rayonnements solaires et UV puissent favoriser les réactions de réduction du Hg, c'est dans ce cas limité à cause des conditions physico-chimiques du milieu.

Les potentiels de méthylation et déméthylation mesurés dans les différentes matrices montrent que ces compartiments, de façon plus ou moins importante, sont capables de méthyler le Hg, sauf le périphyton des roseaux qui possède une grande capacité à déméthylar et accumuler le MMHg.

Nous avons identifié les agrégats bio-inorganiques flottants (présents seulement pendant la saison sèche) comme étant les meilleurs méthylateurs du Hg, avec une capacité de méthylation de $9,58 \pm 0,05 \text{ \% jour}^{-1}$. Avec une concentration de $99,9 \pm 14,3 \text{ ng g}^{-1}$ en Hg et de $13,5 \pm 0,8 \text{ ng g}^{-1}$ en MMHg, leurs apports pourraient être significatifs pour la colonne d'eau pendant la saison sèche. Néanmoins, considérant la masse de ces agrégats bio-inorganiques flottants et la masse des couches superficielles des sédiments, les plus forts apports en MMHg sont probablement émis depuis le sédiment. Le taux net de méthylation du Hg pour cette matrice varie de 0.2 à $3.4 \text{ ng g}^{-1} \text{ d}^{-1}$ entre la saison sèche et humide. Ceci est confirmé par l'étude des coefficients de partition et des flux de diffusion du MMHg et iHg, dont la direction va des sédiments à la colonne d'eau.

A partir de toute cette étude, nous concluons que le lac Uru-Uru est un système aquatique à forte réactivité pour le Hg et pour la production de MMHg, et est contrôlé par des processus biotiques et abiotiques qui sont eux régulés par des facteurs environnementaux naturels et anthropiques.

En même temps, dans cet environnement il y a une grande probabilité pour que la forme la plus biodisponible du Hg (MMHg) soit incorporée dans les différents organismes aquatiques puis bioaccumulée et bioamplifiée le long des chaînes alimentaires. Cela explique

les fortes concentrations en Hg trouvées dans les poissons et oiseaux des lac Uru-Uru et Poopo par Molina et al., 2012.

Le lac Uru-Uru est clairement représentatif de beaucoup d'écosystèmes aquatiques d'altitude de l'Altiplano bolivien impactés par des activités minières et/ou urbaines, et où les populations qui consomment du poisson et des espèces sauvages peuvent être exposés au MMHg.

Perspectives scientifiques

Après avoir découvert les premiers cas d'intoxication au MMHg à Minamata et en Irak dans les années 1950, dû à sa forte toxicité et sa propriété de bioaccumulation dans les organismes, les études relatives à la transformation du Hg dans différents compartiments aquatiques, terrestres et atmosphériques sont devenues importantes. Afin de réaliser ces études, au cours du temps sont apparus des développements technologiques et méthodologiques nouveaux et novateurs permettant de déterminer les différentes espèces de Hg, à différents ordres de magnitude et dans différentes matrices. La méthode analytique de dilution isotopique double-spike (DSIDA, (Hintelmann et al., 1997; Monperrus et al., 2005b), par l'utilisation de traceurs isotopiques enrichis (MM^{201}Hg et ^{199}IHg) et le couplage GC-ICPMS, ont permis la quantification du MMHg et iHg dans des échantillons environnementaux ainsi que l'étude de leurs transformations.

Dans différents écosystèmes au niveau de la mer ou à faible altitude, multiples études rapportent la quantification des différentes espèces mercurielles dans différentes matrices et leurs processus de transformation. Cependant, bien que l'on trouve des études rapportant les teneurs en Hg dans différentes matrices d'écosystèmes d'altitude, les informations concernant les processus de transformation du Hg à haute altitude sont très limitées.

Sur l'Altiplano bolivien, il existe des études sur la bioaccumulation du MMHg dans les poissons et oiseaux d'écosystèmes tropicaux aquatiques d'altitude (Uru-Uru et Poopo).

Pour notre étude, par l'utilisation de technologies et méthodologies récentes et sophistiquées nous avons pu, pour la première fois, 1) comprendre et documenter le cycle biogéochimique du Hg dans le lac Uru-Uru, les mécanismes qui gouvernent ses transformations, et quantifier son potentiel de méthylation ; et 2) quantifier les différentes espèces de Hg formées dans le lac, comprendre sa dynamique en relation avec des contaminants miniers et urbains, et déterminer les sources possibles du Hg et MMHg.

Dans le lac Uru-Uru les agrégats bio-inorganiques, une matrice qui n'avait encore jamais été étudiée, sont le principal méthylateur temporel (ou saisonnier) du Hg pendant la saison sèche. Cependant il est toujours nécessaire de continuer à faire des recherches sur les mécanismes de méthylation du Hg dans cette matrice et, plus généralement, dans d'autres écosystèmes aquatiques afin de mieux comprendre les transformations du Hg. D'un autre côté, notre étude a démontré que le périphyton de roseau pourrait être utilisé en tant que

détoxificateur de MMHg dans les systèmes aquatiques grâce à sa capacité de stockage et de dégradation du MMHg. Il paraîtrait que cette capacité soit toutefois limitée dans les écosystèmes comme celui du lac Uru-Uru où les concentrations en MMHg biodisponibles sont très élevées bien qu'il y ait une forte densité de roseaux.

En général, l'évaluation des niveaux de MMHg dans différentes matrices d'écosystèmes similaires pourrait aider à la prise de décisions politiques qui aideraient à améliorer les conditions de vie de leurs habitants et protéger la faune sauvage.

En particulier, au regard des pourcentages élevés en MMHg sous forme dissoute dans l'eau et l'imminence de sa bioaccumulation dans les organismes (poissons, oiseaux et humains consommateurs de poissons) qui sont accentués par les fortes concentrations en matière organique, métaux lourds et métalloïdes (dont la source est en relation avec les activités minières et urbaines), il serait nécessaire d'effectuer une évaluation de l'impact du Hg dans les populations consommatrices de poissons du lac Uru-Uru.

D'un autre côté il serait aussi nécessaire que le gouvernement bolivien, de manière sérieuse et responsable par le biais de ses affiliations telles que les Provinces, Municipalités, Ministres et Vice-ministres de l'Eau et de l'Environnement et les Mines, cherche et mette en place des politiques réalistes et applicables pour réguler l'émission et le traitement des eaux usées, des eaux acides des mines, des déchets solides miniers et urbains dans les sols et les systèmes aquatiques.

9. Referencias bibliográficas

Aberg, B., Ekman, L., Persson, G., Snihs, J.O., 1969. Metabolism of methyl mercury (²⁰³Hg) compounds in man: excretion and distribution. *Arch. Environ. Health*; (United States), 478.

Achá, D., Hintelmann, H., Pabón, C.A., 2005. Sulfate-reducing bacteria in floating macrophyte rhizosphere from an Amazonian flood plain lake in Bolivia and their association with Hg methylation. *Appl. Environ. Microbiol.* 71(11), 7531-7535.

Achá, D., Pabon, C.A., Hintelmann, H., 2012. Mercury methylation and hydrogen sulfide production among unexpected strains isolated from periphyton of two macrophytes of the Amazon (English). *Fems Microbiol Ecol* 80, 637-645.

Aguirre, M., Lazzaro, X., Point, D., Pouilly, M., 2014. Línea base de conocimientos sobre los recursos hidrológicos en el sistema TDPS con enfoque en la cuenca del Lago Titicaca. IRD - UICN, Quito, Ecuador, p. 320.

Airey, D., 1983. Mercury in Human Hair Due to Environment and Diet: A Review. National Institute of Environmental Health Sciences. National Institutes of Health. Department of Health, Education and Welfare, p. 303.

Akagi, H., 1999. Improved techniques in the analysis of total and methylmercury in biological and environmental samples. *International Conference - Mercury as a Global Pollutant* 5, 55-55.

Akagi, H., Malm, O., Branches, F.J.P., 1996. Human exposure to mercury due to mining in the Amazon, Brazil - A review. *Environ Sci* 3, 199-211.

Alanoca, L., Amouroux, D., Monperrus, M., Tessier, E., Goni, M., Guyoneaud, R., Acha, D., Gassie, C., Audry, S., Garcia, M.E., Quintanilla, J., Point, D., 2016. Diurnal variability and biogeochemical reactivity of mercury species in an extreme high-altitude lake ecosystem of the Bolivian Altiplano. *Environmental Science And Pollution Research International* 23, 6919-6933.

Alberts, J.J., Schindler, J.E., Miller, R.W., Nutter, D.E., Jr., 1974. Elemental mercury evolution mediated by humic Acid. *Science (New York, N.Y.)* 184, 895-897.

Allard, B., Arsenie, I., 1991. Abiotic reduction of mercury by humic substances in aquatic system — an important process for the mercury cycle. *Water Air & Soil Pollution* 56, 457-464.

Allen, J.W., Mutkus, L.A., Aschner, M., 2001. Mercuric chloride, but not methylmercury, inhibits glutamine synthetase activity in primary cultures of cortical astrocytes. *Brain Res*, 891 148-157.

Allen, J.W., Shanker, G., Tan, K.H., Aschner, M., 2002. The Consequences of Methylmercury Exposure on Interactive Functions between Astrocytes and Neurons. *Neurotoxicology* 23, 755-759.

Amouroux, D., Tessier, E., Pecheyran, C., Donard, O.F.X., European Institute for Marine, S., 1998. Sampling and probing volatile metal(loid) species in natural waters by in-situ purge and cryogenic trapping followed by gas chromatography and inductively coupled plasma mass spectrometry (P-CT-GC-ICP/MS) (English) *MARCH MOR - Marine Analytical Chemistry for Monitoring and Oceanographic Research Workshop* (English). Elsevier, Amsterdam, pp. 241-254.

Amyot, M., Lean, D.R.S., Poissant, L., Doyon, M.R., 2000. Distribution and transformation of elemental mercury in the St. Lawrence River and Lake Ontario (English). *Canadian journal of fisheries and aquatic sciences* (Print) 57, 155-163.

- Amyot, M., Mierle, G., Lean, D.R.S., McQueen, D.J., 1994. Sunlight-induced formation of dissolved gaseous mercury. *Environ. Sci. Technol.* 28, 2366.
- Amyot, M.S., Mierle, G., Lean, D., McQueen, D.J., 1997. Effect of solar radiation on the formation of dissolved gaseous mercury in temperate lakes. *Geochim Cosmochim Acta* 61, 975-987.
- Arcagni, M., Campbell, L., Arribére, M.A., Marvin-DiPasquale, M., Rizzo, A., Ribeiro Guevara, S., 2013. Differential mercury transfer in the aquatic food web of a double basined lake associated with selenium and habitat. *Sci Total Environ* 454, 170-180.
- Arce-Burgoa, O.R., 1990. Fundamental study on processing of ore from the Huanuni mine, Bolivia: Unpublished Ph.D. thesis. Sendai, Japan, Tohoku University, p. 168.
- Arce-Burgoa, O.R., 2009. Metallogeny of Bolivia. *Society of Economic Geologists* 79, 7-15.
- Arce Burgoa, O.R., 2007. Guía a los yacimientos Metalíferos de Bolivia. Minería, Energía y Construcción.
- Artaxo, P., Calixto de Campos, R., Fernandes, E.T., V. Martins, J., Xiao, Z., Lindqvist, O., Fernández-Jiménez, M.T., Maenhaut, W., 2000. Large scale mercury and trace element measurements in the Amazon basin. *Atmos Environ* 34, 4085-4096.
- ATSDR, 1999. Toxicological Profile for Mercury. U.S. Department of Health & Human Services, Agency for Toxic Substances and Disease Registry Atlanta, GA.
- Atwell, L., Hobson, K.A., Welch, H.E., 1998. Biomagnification and bioaccumulation of mercury in an arctic marine food web : insights from stable nitrogen isotope analysis (English). *Canadian journal of fisheries and aquatic sciences (Print)* 55, 1114-1121.
- Avila Salinas, W.A., 1990 Petrología del domo resurgente del Cerro de San Pedro (Oruro, Bolivia). *Revista Tecnica de YPF*, pp. 139-149.
- Baeyens, W., Leermakers, M., 1998. Elemental mercury concentrations and formation rates in the Scheldt Estuary and the North Sea. *Mar Chem* 60, 257-266.
- Baeyens, W., Leermakers, M., Papina, T., Saprykin, A., Brion, N., Noyen, J., De Gieter, M., Elskens, M., Goeyens, L., 2003. Bioconcentration and biomagnification of mercury and methylmercury in North Sea and Scheldt estuary fish. *Arch Environ Con Tox* 45, 498-508.
- Baker, P.A., Fritz, S.C., 2015. Nature and causes of Quaternary climate variation of tropical South America. *Quaternary Science Reviews* 124, 31-47.
- Bakir, F., Damluji, S.F., Amin-Zaki, L., Murtadha, M., Khalidi, A., al-Rawi, N.Y., Tikriti, S., Dahahir, H.I., Clarkson, T.W., Smith, J.C., Doherty, R.A., 1973. Methylmercury poisoning in Iraq. *Science (New York, N.Y.)* 181, 230-241.
- Balarama Krishna M V, R.M., Karunasagar D, Arunachalam J... , 2005. A rapid ultrasound-assisted thiourea extraction method for the determination of inorganic and methyl mercury in biological and environmental samples by CV-AAS. *Talanta* 67, 70.
- Balarama Krishna, M.V., Ranjit, M., Karunasagar, D., Arunachalam, J., 2005. A rapid ultrasound-assisted thiourea extraction method for the determination of inorganic and methyl mercury in biological and environmental samples by CV-AAS. *Talanta* 67, 70.
- Baldi, F., Parati, F., Filippelli, M., Electric Power Research Institute, P.A.C.A.U.S., Environment, C., Atmospheric Environment Service, C., Ontario Hydro, C., State of, F., Department of Environmental Protection, U.S., Food, U.S., Drug Administration, W.D.C.U.S., Frontier, G., Wisconsin Department

- of Natural Resources, U.S., Health Canada, C., 1995. Dimethylmercury and dimethylmercury-sulfide of microbial origin in the biogeochemical cycle of Hg (English)
Mercury as a global pollutant. International conference (English). Springer, Dordrecht, pp. 805-815.
- Balogh, S.J., Nollet, Y.H., 2008. Methylmercury input to the Mississippi River from a large metropolitan wastewater treatment plant. *Sci Tot Environ* 406 145-153.
- Banks, D., Holden, W., Aguilar, E., Mendez, C., Koller, D., Andia, Z., Rodriguez, J., Saether, O.M., Torrico, A., Veneros, R., Flores, J., 2002. Contaminant source characterization of the San Jose Mine, Oruro, Bolivia. *Geological Society Special Publications* 198, 215-239.
- Barbosa, A.C., Boischio, A.A., East, G.A., Ferrari, I., Gonçalves, A., Silva, P.R.M., da Cruz, T.M.E., 1995. Mercury contamination in the Brazilian Amazon. *Environmental and occupational aspects. Water, Air, and Soil Pollution* 80, 109-121.
- Barkay, T., Gillman, M., 1997. Effects of dissolved organic carbon and salinity on bioavailability of mercury. *Applied & Environmental Microbiology* 63, 4267.
- Barkay, T., Kritee, K., Boyd, E., Geesey, G., 2010. A thermophilic bacterial origin and subsequent constraints by redox, light and salinity on the evolution of the microbial mercuric reductase. *Environmental Microbiology* 12, 2904-2917.
- Barkay, T., Kroer, N., Poulain, A.J., 2011. Some like it cold: microbial transformations of mercury in polar regions. *Polar Research (Co-Action Publishing)* 30, 1.
- Barkay, T., Miller, S.M., Summers, A.O., 2003. Bacterial mercury resistance from atoms to ecosystems. *FEMS Microbiology Reviews* 27, 355-384.
- Barkay, T., Wagner-Döbler, I., 2005. Microbial Transformations of Mercury: Potentials, Challenges, and Achievements in Controlling Mercury Toxicity in the Environment. *Advances in Applied Microbiology* 57, 1-52.
- Bastos, W.R., Dórea, J.G., Bernardi, J.V.E., Lauthartte, L.C., Mussu, M.H., Lacerda, L.D., Malm, O., 2015. Mercury in fish of the Madeira river (temporal and spatial assessment), Brazilian Amazon. *Environ Res* 140, 191-197.
- Baya, P.A., 2015. Investigating the sources and fate of monomethylmercury and dimethylmercury in the Arctic marine boundary layer and waters. ProQuest Dissertations & Theses Trent University, Place of Publication: Ann Arbor, MI, USA. Country of Issuing Organization: Canada. Country of Publication: Canada.
- Benefice, E., Luna-Monroy, S., Lopez-Rodriguez, R., 2010. Fishing activity, health characteristics and mercury exposure of Amerindian women living alongside the Beni River (Amazonian Bolivia). *International Journal of Hygiene and Environmental Health* 213, 458-464.
- Benoit, J.M., 2000. Sulfide controls on mercury methylation by sulfate reducing bacteria. United States.
- Benoit, J.M., Ekstrom, E.B., Morel, F.M.M., 2002. Metabolic pathway of mercury methylation. *Abstr Pap Am Chem S* 223, U525-U525.
- Benoit, J.M., Gilmour, C.C., Mason, R.P., 2001. The influence of sulfide on solid-phase mercury bioavailability for methylation by pure cultures of *Desulfobulbus propionicus* (1pr3). *Environ. Sci. Technol.* 35, 127.
- Benoit, J.M., Gilmour, C.C., Mason, R.P., Heyes, A., 1999. Sulfide controls on mercury speciation and bioavailability to methylating bacteria in sediment pore waters. *Environ. Sci. Technol.* 33, 951.

- Bensefa-Colas, L., Andujar, P., Descatha, A., 2011. Intoxication par le mercure. *La Revue de Médecine Interne* 32, 416-424.
- Berlin, M., Mercury, F.L., G., N., Vouk, V., 1986. Handbook on the Toxicology of Metals, 1986 In: Elsevier (Ed.), Amsterdam., pp. 386-445.
- Bertilsson, L., Neujahr, H.Y., 1971. Methylation of mercury compounds by methylcobalamin. *Biochemistry* 10, 2805-2808.
- Bettinelli, M., Spezia, S., Ronchi, A., Minoia, C., 2002. Determination of total urinary mercury by on-line sample microwave digestion followed by flow injection cold vapour inductively coupled plasma mass spectrometry or atomic absorption spectrometry. *Rapid Communications In Mass Spectrometry: RCM* 16, 1432-1439.
- Black, F.J., Poulin, B.A., Flegal, A.R., 2012. Factors controlling the abiotic photo-degradation of monomethylmercury in surface waters. *Geochim Cosmochim Acta* 84, 492-507.
- Bloom, N.S., Crevelius, E.A., 1983. Determination of mercury in seawater at sub-nanogram per liter levels (English). *Mar Chem* 14, 49-59.
- Bloom, N.S., Gill, G.A., Cappellino, S., Dobbs, C., McShea, L., 1999. Speciation and cycling of mercury in Lavaca Bay, Texas, sediments. *Environ. Sci. Technol.* 33, 7.
- Blumthaler, M., Ambach, W., Ellinger, R., 1997. Increase in solar UV radiation with altitude. *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology* 39, 130-134.
- Blumthaler, M., Ambach, W., Rehwald, W., 1992. Solar UV-A and UV-B radiation fluxes at two Alpine stations at different altitudes. *Theoretical and Applied Climatology* 46, 39-44.
- Boadi, W.Y., Urbach, J., Brandes, J.M., Yannai, S., 1992. In vitro effect of mercury on enzyme activities and its accumulation in the first-trimester human placenta. *Environ Res* 57, 96-106.
- Bose-O'Reilly, S., Lettmeier, B., Matteucci Gothe, R., Beinhoff, C., Siebert, U., Drasch, G., 2008. Mercury as a serious health hazard for children in gold mining areas. *Environ Res* 107, 89-97.
- Bouchet, S., 2009. Speciation et Biogéochimie du Mercure aux interfaces Sediment-Eau-Atmosphère des écosystèmes côtiers. Université de Pau et des Pays de l'Adour, Pau, France, p. 263.
- Bouchet, S., Amouroux, D., Rodriguez-Gonzalez, P., Tessier, E., Monperrus, M., Thouzeau, G., Clavier, J., Amice, E., Deborde, J., Bujan, S., Grall, J., Anschutz, P., 2013. MMHg production and export from intertidal sediments to the water column of a tidal lagoon (Arcachon Bay, France). *Biogeochemistry* 114, 341-358.
- Bouchet, S., Tessier, E., Monperrus, M., Bridou, R., Clavier, J., Thouzeau, G., Amouroux, D., 2011. Measurements of gaseous mercury exchanges at the sediment-water, water-atmosphere and sediment-atmosphere interfaces of a tidal environment (Arcachon Bay, France). *Journal Of Environmental Monitoring: JEM* 13, 1351-1359.
- Bouyssié, B., Baco, F., Savory, L., Lobinski, R., 2002. Speciation analysis for mercury in gas condensates by capillary gas chromatography with inductively coupled plasma mass spectrometric detection (English)
7th International Symposium on Hyphenated Techniques in Chromatography and Hyphenated Chromatographic Analyzers (English). Elsevier, Amsterdam, pp. 431-439.
- Bowles, K.C., Apte, S.C., Maher, W.A., Blühdorn, D.R., 2003. Mercury Cycling in Lake Gordon and Lake Pedder, Tasmania (Australia). II: Catchment Processes. *Water, Air, and Soil Pollution* 147, 25-38.

- Braudel, F., 1982. *Civilization and Capitalism, 15th-18th Century: The wheels of commerce*. University of California Press.
- Bravo, A.G., Loizeau, J.-L., Bouchet, S., Richard, A., Rubin, J.F., Ungureanu, V.-G., Amouroux, D., Dominik, J., 2010. Mercury human exposure through fish consumption in a reservoir contaminated by a chlor-alkali plant: Babeni reservoir (Romania). *Environmental Science And Pollution Research International* 17, 1422-1432.
- Brosset, C., Lord, E., 1995. Principal reactions of airborne mercury, ozone and some other microcomponent in pure water or very dilute sulfuric acid. *Water, Air, and Soil Pollution* 81, 241-264.
- Brown, N.L., 1985. Bacterial resistance to mercury — reductio ad absurdum? *Trends Biochem Sci* 10, 400-403.
- Calvert, J.G., Lindberg, S.E., 2005. Mechanisms of mercury removal by O₃ and OH in the atmosphere. *Atmos. Environ.* 39, 3355.
- CAMINAR, 2008. *Catchment Management and Mining Impacts in Arid and Semi-Arid South America, B*. Instituto de Investigaciones Químicas & Centro de Estudios Ecológicos - Universidad Mayor de San Andres La Paz, European Commission & UMSA - CEEDI. La Paz, Bolivia.
- Canario, J., Branco, V., Vale, C., 2007. Seasonal variation of monomethylmercury concentrations in surface sediments of the Tagus Estuary (Portugal). *Environmental Pollution* [1987] 148, 380-383.
- Carpi, A., Lindberg, S.E., 1998. Application of a Teflon (TM) dynamic flux chamber for quantifying soil mercury flux: tests and results over background soil. *Atmos. Environ.* 32, 873.
- Castaña, A., Cutanda, F., Esteban, M., Pärt, P., Navarro, C., Gómez, S., Rosado, M., López, A., López, E., Exley, K., Schindler, B.K., Govarts, E., Casteleyn, L., Kolossa-Gehring, M., Fiddicke, U., Koch, H., Angerer, J., Hond, E.D., Schoeters, G., Sepai, O., Horvat, M., Knudsen, L.E., Aerts, D., Joas, A., Biot, P., Joas, R., Jiménez-Guerrero, J.A., Diaz, G., Pirard, C., Katsonouri, A., Cerna, M., Gutleb, A.C., Ligocka, D., Reis, F.M., Berglund, M., Lupsa, I.-R., Halzlová, K., Charlier, C., Cullen, E., Hadjipanayis, A., Krsková, A., Jensen, J.F., Nielsen, J.K., Schwedler, G., Wilhelm, M., Rudnai, P., Kőzépesy, S., Davidson, F., Fischer, M.E., Janasik, B., Namorado, S., Gurzau, A.E., Jajcaj, M., Mazej, D., Tratnik, J.S., Larsson, K., Lehmann, A., Crettaz, P., Lavranos, G., Posada, M., 2015. Fish consumption patterns and hair mercury levels in children and their mothers in 17 EU countries. *Environ Res* 141, 58-68.
- Celo, V., Lean, D.R.S., Scott, S.L., 2006. Abiotic methylation of mercury in the aquatic environment. *Sci Total Environ* 368, 126-137.
- Cernichiari, E., Brewer, R., Myers, G.J., Marsh, D.O., Lapham, L.W., Cox, C., Shamlaye, C.F., Berlin, M., Davidson, P.W., Clarkson, T.W., 1995. Monitoring methylmercury during pregnancy: maternal hair predicts fetal brain exposure. *Neurotoxicology* 16, 705-710.
- Cernichiari, E., Myers, G.J., Ballatori, N., Zareba, G., Vyas, J., Clarkson, T., 2007. The biological monitoring of prenatal exposure to methylmercury. *Neurotoxicology* 28, 1015-1022.
- Cerrati, G., Bernhard, M., Weber, J.H., 1992. Model reactions for abiotic mercury(II) methylation: kinetics of methylation of mercury(II) by mono-, di-, and tri-methyltin in seawater (English). *Appl Organomet Chem* 6, 587-595.
- Clarkson, T.W., Magos, L., 2006. The Toxicology of Mercury and Its Chemical Compounds. *Critical Reviews in Toxicology* 36, 609-662.
- Clarkson, T.W., Vyas, J.B., Ballatori, N., 2007. Mechanisms of mercury disposition in the body. *American Journal of Industrial Medicine* 50, 757-764.

- COMIBOL, C.M.d.B., Geological, S., 1995. Auditoria Ambiental de la mina Huanuni, Parte 1.
- Compeau, G., Bartha, R., 1984. Methylation and demethylation of mercury under controlled redox, pH and salinity conditions. *Appl. Environ. Microbiol.* 48, 1203.
- Compeau, G.C., Bartha, R., 1985. Sulfate-reducing bacteria: principal methylators of mercury in anoxic estuarine sediment. *Appl. Environ. Microbiol.* 50, 498.
- Condom, T., Coudrain, A., Dezetter, A., Brunstein, D., Delclaux, F., Sicart, J.E., 2004. Transient modelling of lacustrine regressions: two case studies from the Andean Altiplano. *Hydrological Processes* 18, 2395-2408.
- Corbett, C.E.P., El Khouri, M., Costa, A.N., Gyuricza, J.V., Corbett, J.F., Frizzarini, R., de Araújo Andrade, D.C., Cordeiro, Q., Stravogiannis, A., Chassot, C.A., Vieira, J.L.F., Pinheiro, M.d.C., 2007. Health evaluation of gold miners living in a mercury-contaminated village in Serra Pelada, Pará, Brazil. *Archives Of Environmental & Occupational Health* 62, 121-128.
- Cornell, R.M., Schwertmann, U., 2006. *The iron oxides: structure, properties, reactions, occurrences and uses.* John Wiley & Sons.
- Correia, R.R.S., Miranda, M.R., Guimaraes, J.R.D., 2012. Mercury methylation and the microbial consortium in periphyton of tropical macrophytes: Effect of different inhibitors. *Environ Res* 112, 86-91
- Cossa, D., Sanjuan, J., Cloud, J., Stockwell, B., Corns, W., 1995. Automated mercury determination in waters. *Water, air, and soil pollution* 80 1279-1284.
- Costa, M., Liss, P.S., 1999. Photoreduction of mercury in sea water and its possible implications for Hg (super 0) air-sea fluxes. *Mar Chem* 68, 87-95.
- Coudrain, A., Loubet, M., Condom, T., Talbi, A., Ribstein, P., Pouyau, B., Quintanilla, J., Dieulin, C., Dupre, B., 2002. Donnees isotopiques (8786/Sr) et changements hydrologiques depuis 15 000 ans sur l'Altiplano andin. *Hydrological Sciences Journal* 47, 293-306.
- Craig, P.J., Moreton, P.A., 1985. The role of speciation in mercury methylation in sediments and water. *Environmental Pollution. Series B: Chemical and Physical* 10, 141-158.
- Craig, P.J., Morton, S.F., 1978. Kinetics and mechanism of the reaction between methylcobalamin and mercuric chloride. *Journal of Organometallic Chemistry* 145, 79-89.
- Crespo-López, M.E., Macêdo, G.L., Pereira, S.I.D., Arrifano, G.P.F., Picanço-Diniz, D.L.W., Nascimento, J.L.M.d., Herculano, A.M., 2009. Mercury and human genotoxicity: Critical considerations and possible molecular mechanisms. *Pharmacological Research* 60, 212-220.
- Cunningham, C.G., McNamee, J., Pinto Vasquez, J., Ericksen, G.E., 1991. A model of volcanic dome-hosted precious metal deposits in Bolivia. *Economic Geology* 86, 415-421.
- Charlet, L., Bosbach, D., Peretyashko, T., 2002. Natural attenuation of TCE, As, Hg linked to the heterogeneous oxidation of Fe(II); an AFM study. *Chem Geol* 190, 303-319.
- Chen, B., Wang, T., Yin, Y., He, B., Jiang, G., 2007. Methylation of inorganic mercury by methylcobalamin in aquatic systems. *Appl Organomet Chem* 21, 462.
- Chen, C., Amirbahman, A., Fisher, N., Harding, G., Lamborg, C., Nacci, D., Taylor, D., 2008. Methylmercury in marine ecosystems: spatial patterns and processes of production, bioaccumulation, and biomagnification. *EcoHealth* 5, 399-408.

- Chen, J., Pehkonen, S.O., Lin, C.-J., 2003. Degradation of monomethylmercury chloride by hydroxyl radicals in simulated natural waters. *Water Research* 37, 2496-2504.
- Chen, X., Balasubramanian, R., Zhu, Q., Behera, S.N., Bo, D., Huang, X., Xie, H., Cheng, J., 2016. Characteristics of atmospheric particulate mercury in size-fractionated particles during haze days in Shanghai. *Atmos Environ* 131, 400-408.
- Choi, S.-C., Chase, T., Jr., Bartha, R., 1994. Metabolic pathways leading to mercury methylation in *Desulfovibrio desulfuricans* LS. *Appl Environ Microb*, 4072.
- Daga, R., Ribeiro Guevara, S., Pavlin, M., Rizzo, A., Lojen, S., Vreča, P., Horvat, M., Arribére, M., 2016. Historical records of mercury in southern latitudes over 1600 years: Lake Futalaufquen, Northern Patagonia. *Sci Total Environ* 553, 541-550.
- Davis, J.A., Kent, D.B., 1990. Surface complexation modeling in aqueous geochemistry. *Reviews in Mineralogy* 23, 177-260.
- de Lacerda, L.D., Salomons, W., 1997. Mercury from gold and silver mining; a chemical time bomb? Springer : Berlin, Federal Republic of Germany, Federal Republic of Germany.
- de Oliveira Corvelo, T.C., Oliveira, É.A.F., de Parijós, A.M., de Oliveira, C.S.B., do Socorro Pompeu de Loiola, R., de Araújo, A.A., da Costa, C.A., de Lima Silveira, L.C., da Conceição Nascimento Pinheiro, M., 2014. Monitoring mercury exposure in reproductive aged women inhabiting the Tapajós river basin, Amazon. *Bulletin Of Environmental Contamination And Toxicology* 93, 42-46.
- Debes, F., Weihe, P., Grandjean, P., 2016. Cognitive deficits at age 22 years associated with prenatal exposure to methylmercury. *Cortex* 74, 358-369.
- Demuth, N., Heumann, K.G., 2001. Validation of methylmercury determinations in aquatic systems by alkyl derivatization methods for GC analysis using ICP-IDMS (English). *Analytical chemistry (Washington, DC)* 73, 4020-4027.
- DeSimone, R.E., Penley, M.W., Charbonneau, L., Smith, S.G., Wood, J.M., Hill, H.A.O., Pratt, J.M., Ridsdale, S., Williams, R.J.P., 1973. The kinetics and mechanism of cobalamin-dependent methyl and ethyl transfer to mercuric ion. *BBA - General Subjects* 304, 851-863.
- Desrosiers, M., Planas, D., Mucci, A., 2006. Mercury methylation in the epilithon of boreal shield aquatic ecosystems (English). *Environ Sci Technol* 40, 1540-1546.
- Dietz, R., Born, E.W., Riget, F., 2000. Geographical differences of zinc, cadmium, mercury and selenium in polar bears (*Ursus maritimus*) from Greenland. *Sci Total Environ* 245, 25.
- Dietz, R., Outridge, P.M., Hobson, K.A., 2009. Anthropogenic contributions to mercury levels in present-day Arctic animals—A review. *Sci Total Environ* 407, 6120-6131.
- Dill, C., Kuiken, T., Zhang, H., Ensor, M., 2006. Diurnal variation of dissolved gaseous mercury (DGM) levels in a southern reservoir lake (Tennessee, USA) in relation to solar radiation. *Sci Total Environ* 357, 176-193.
- Dong, Z., Jim, R.C., Hatley, E.L., Backus, A.S.N., Shine, J.P., Spengler, J.D., Schaider, L.A., 2015. A longitudinal study of mercury exposure associated with consumption of freshwater fish from a reservoir in rural south central USA. *Environ Res* 136, 155-162.
- Driscoll, C.T., Blette, V., Yan, C., Schofield, C.L., Munson, R., Holsapple, J., Electric Power Research Institute, P.A.C.A.U.S., Environment, C., Atmospheric Environment Service, C., Ontario Hydro, C., State of, F., Department of Environmental Protection, U.S., Food, U.S., Drug Administration, W.D.C.U.S., Frontier, G., Wisconsin Department of Natural Resources, U.S., Health

- Canada, C., 1995. The role of dissolved organic carbon in the chemistry and bioavailability of mercury in remote Adirondack lakes (English)
Mercury as a global pollutant. International conference (English). Springer, Dordrecht, pp. 499-508.
- Dunn, J.D., Clarkson, T.W., 1980. Does mercury exhalation signal demethylation of methylmercury? *Health Physics* 38, 411-414.
- Dyrssen, D., Wedborg, M., 1991 The sulphur-mercury(II) system in natural waters *Water, air and soil pollution* 56 507-519.
- Eckley, C.S., Hintelmann, H., 2006. Determination of mercury methylation potentials in the water column of lakes across Canada. *Sci Total Environ* 368, 111-125.
- Eckley, C.S., Watras, C.J., Hintelmann, H., Morrison, K., Kent, A.D., Regnell, O., 2005. Mercury methylation in the hypolimnetic waters of lakes with and without connection to wetlands in northern Wisconsin. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.* 62, 400.
- Edwards, S.C., Macleod, C.L., Lester, J.N., 1999. Mercury contamination of the eel (*Anguilla anguilla*) and roach (*Rutilus rutilus*) in East Anglia, UK (English). *Environmental monitoring and assessment* 55, 371-387.
- Egeland, G.M., Ponce, R., Bloom, N.S., Knecht, R., Loring, S., Middaugh, J.P., 2009. Hair methylmercury levels of mummies of the Aleutian Islands, Alaska. *Environ Res* 109, 281-286.
- Ekstrom, E.B., Morel, F.M.M., 2008. Cobalt Limitation of Growth and Mercury Methylation in Sulfate-Reducing Bacteria (English). *Environ Sci Technol* 42, 93-99.
- Ekstrom, E.B., Morel, F.M.M., Benoit, J.M., 2003. Mercury methylation independent of the acetyl-coenzyme A pathway in sulfate-reducing bacteria (English). *Applied and environmental microbiology (Print)* 69, 5414-5422.
- Endo, T., Haraguchi, K., 2010. High mercury levels in hair samples from residents of Taiji, a Japanese whaling town. *Mar Pollut Bull* 60, 743-747.
- Fain, X., Grangeon, S., Bahlmann, E., Fritsche, J., Obrist, D., Dommergue, A., Ferrari, C.P., Cairns, W., Ebinghaus, R., Barbante, C., Cescon, P., Boutron, C., 2007. Diurnal production of gaseous mercury in the alpine snowpack before snowmelt. *Journal of Geophysical Research - Part D - Atmospheres* 112.
- Falandysz, J., Bielawski, L., Kannan, K., Gucia, M., Lipka, K., Brzostowski, A., 2002. Mercury in wild mushrooms and underlying soil substrate from the great lakes land in Poland. *Journal of Environmental Monitoring* 4, 473-476.
- Falandysz, J., Dryżałowska, A., Saba, M., Wang, J., Zhang, D., 2014. Mercury in the fairy-ring of *Gymnopus erythropus* (Pers.) and *Marasmius dryophilus* (Bull.) P. Karst. mushrooms from the Gongga Mountain, Eastern Tibetan Plateau. *Ecotoxicology And Environmental Safety* 104, 18-22.
- Fanchiang, Y.-T., Bratt, G.T., Harry, P.C.H., 1984. Methyl Transfer from Methylcobalamin to Diaquocobinamide. *National Academy of Sciences of the United States of America*, p. 2698.
- Fantozzi, L., Ferrara, R., Frontini, F.P., Dini, F., 2007. Factors influencing the daily behaviour of dissolved gaseous mercury concentration in the Mediterranean Sea. *Mar Chem* 107, 4-12.
- Fantozzi, L., Ferrara, R., Frontini, F.P., Dini, F., 2009. Dissolved gaseous mercury production in the dark: Evidence for the fundamental role of bacteria in different types of Mediterranean water bodies. *Sci Total Environ* 407, 917-924.

- Fay, L., Gustin, M., 2007. Assessing the Influence of Different Atmospheric and Soil Mercury Concentrations on Foliar Mercury Concentrations in a Controlled Environment. *Water, Air, and Soil Pollution* 181, 373-384.
- Faz, Á., Zornoza, R., Ángeles Muñoz, M., Acosta, J.A., 2014. Metals and metalloids in primary gold mining districts of Western Bolivia: anthropogenic and natural sources. *Environmental Earth Sciences* 71, 5027-5036.
- Ferrari, C.P., Dommergue, A., Veysseyre, A., Planchon, F., Boutron, C.F., 2002. Mercury speciation in the French seasonal snow cover (English). *Sci Total Environ* 287, 61-69.
- Feyte, S., Gobeil, C., Tessier, A., Cossa, D., 2012. Mercury dynamics in lake sediments. *Geochim Cosmochim Acta* 82, 92-112.
- Filippelli, M., Baldi, F., 1993. Alkylation of ionic mercury to methylmercury and dimethylmercury by methylcobalamin: Simultaneous determination by purge-and-trap GC in line with FTIR. *Appl Organomet Chem* 7, 487.
- Fitzgerald, W.F., Clarkson, T.W., 1991. Mercury and Monomethylmercury - Present and Future Concerns. *Environ Health Persp* 96, 159-166.
- Fitzgerald, W.F., Engstrom, D.R., Mason, R.P., Nater, E.A., 1998. The case for atmospheric mercury contamination in remote areas. *Environ. Sci. Technol.* 32, 1-7.
- Fitzgerald, W.F., Lamborg, C.H., 2004. Geochemistry of mercury in the environment *Treatise on geochemistry*. Elsevier : Oxford, United Kingdom, United Kingdom, pp. 107-148.
- Fitzgerald, W.F., Lamborg, C.H., Editors-in-Chief: Heinrich, D.H., Karl, K.T., 2007. *Geochemistry of Mercury in the Environment. Treatise on Geochemistry* Pergamon, Oxford.
- Fitzgerald, W.F., Lamborg, C.H., Hammerschmidt, C.R., 2007b. Marine biogeochemical cycling of mercury. *Chem. Rev.* 107, 641.
- Fitzgerald, W.F., Lamborg, C.H., Turekian, H.D.H.K., 2014. *Geochemistry of Mercury in the Environment. Treatise on Geochemistry (Second Edition)*. Elsevier, Oxford, 91-129.
- Fitzgerald, W.F., Mason, R.P., Vandal, G.M., 1991. Atmospheric Cycling and Air-Water Exchange of Mercury over Midcontinental Lacustrine Regions. *Water Air Soil Poll* 56, 745-767.
- Fleming, E.J., Mack, E.E., Green, P.G., Nelson, D.C., 2006. Mercury methylation from unexpected sources : Molybdate-inhibited freshwater sediments and an iron-reducing bacterium (English). *Applied and environmental microbiology (Print)* 72, 457-464.
- Fostier, A.H., Forti, M.C., Guimarães, J.R.D., Melfi, A.J., Boulet, R., Espirito Santo, C.M., Krug, F.J., 2000. Mercury fluxes in a natural forested Amazonian catchment (Serra do Navio, Amapá State, Brazil). *Sci Total Environ* 260, 201-211.
- Fostier, A.H., Melendez-Perez, J.J., Richter, L., 2015. Litter mercury deposition in the Amazonian rainforest. *Environ Pollut* 206, 605-610.
- Friske, P.W.B., Coker, W.B., 1995. The importance of geological controls on the natural distribution of mercury in lake and stream sediments across Canada. *Water, Air, and Soil Pollution* 80, 1047-1051.
- Gamby, R.L., Hammerschmidt, C.R., Costello, D.M., Lamborg, C.H., Runkle, J.R., 2015. Deforestation and cultivation mobilize mercury from topsoil. *Sci Total Environ* 532, 467-473.
- Garcia-Guinea, J., Harffy, M., 1998. Bolivian mining pollution: past, present and future. *Ambio*, 251-253.

- Garcia Bravo, A., Bouchet, S., Amouroux, D., Poté, J., Dominik, J., 2011. Distribution of mercury and organic matter in particle-size classes in sediments contaminated by a waste water treatment plant: Vidy Bay, Lake Geneva, Switzerland. *Journal of Environmental Monitoring* 13, 974-982.
- Garcia Bravo, A., Cosio, C., Amouroux, D., Zopfi, J., Chevalley, P.-A., Spangenberg, J.E., Ungureanu, V.-G., Dominik, J., 2014. Extremely elevated methyl mercury levels in water, sediment and organisms in a Romanian reservoir affected by release of mercury from a chlor-alkali plant. *Water Research* 49, 391-405.
- Garcia, E., Amyot, M., Ariya, P.A., 2005. Relationship between DOC photochemistry and mercury redox transformations in temperate lakes and wetlands. *Geochim Cosmochim Acta* 69, 1917-1924.
- Garcia Moreno, M.E., 2006. PhD Thesis, Transport of Arsenic and Heavy Metals to Lake Poopó – Bolivia Natural Leakage and Anthropogenic Effects. Lund Institute of Technology. Lund University, Lund, Sweden. .
- Gårdfeldt, K., Sommar, J., Ferrara, R., Ceccarini, C., Lanzillotta, E., Munthe, J., Wängberg, I., Lindqvist, O., Pirrone, N., Sprovieri, F., Pesenti, E., Strömberg, D., 2003. Evasion of mercury from coastal and open waters of the Atlantic Ocean and the Mediterranean Sea. *Atmos Environ* 37, Supplement 1, 73-84.
- Gårdfeldt, K., Sommar, J., Strömberg, D., Feng, X., 2001. Oxidation of atomic mercury by hydroxyl radicals and photoinduced decomposition of methylmercury in the aqueous phase. *Atmos Environ* 35, 3039-3047.
- Gardner, R.M., Nyland, J.F., Silbergeld, E.K., 2010. Differential immunotoxic effects of inorganic and organic mercury species in vitro (English). *Toxicology letters* 198, 182-190.
- Garitano-Zavala, A., Cotin, J., Borràs, M., Nadal, J., 2010. Trace metal concentrations in tissues of two tinamou species in mining areas of Bolivia and their potential as environmental sentinels. *Environmental monitoring and assessment* 168, 629-644.
- Garreaud, R., Vuille, M., Clement, A.C., 2003. The climate of the Altiplano; observed current conditions and mechanisms of past changes. *Palaeogeography, Palaeoclimatology, Palaeoecology* 194, 5-22.
- Gentès, S., Monperrus, M., Legeay, A., Maury-Brachet, R., Davail, S., André, J.-M., Guyoneaud, R., 2013. Incidence of invasive macrophytes on methylmercury budget in temperate lakes: Central role of bacterial periphytic communities. *Environ Pollut* 172, 116-123.
- George, B.M., Batzer, D., 2008. Spatial and temporal variations of mercury levels in Okefenokee invertebrates: Southeast Georgia. *Environ Pollut* 152, 484-490.
- Gilmour, C.C., Henry, E.A., Mitchell, R., 1992. Sulfate stimulation of mercury methylation in freshwater sediments (English). *Environ Sci Technol* 26, 2281-2287.
- Goix, S., 2012. Origine et impact des pollutions liées aux activités minières sur l'environnement (eau-sol-atmosphère) et la santé, cas de Oruro (Bolivie). SDU2E. Université de Toulouse-Toulouse III, Toulouse, France, pp. 1-306.
- Goldwater, L.J., 1972. *Mercury; A history of quicksilver*, Baltimore Md.
- Goyer, R.A., Clarkson, T.W., 1996. Toxic effects of metals. *Casarett and Doull's Toxicology: The Basic Science of Poisons*, New York, pp. 811-867.
- Grandjean, P., Landrigan, P.J., 2006. Developmental neurotoxicity of industrial chemicals. *The Lancet* 368, 2167-2178.

- Grandjean, P., Perez, M., 2008. Development neurotoxicity : implications of methylmercury research (English). *International journal of environment and health (Print)* 2, 417-428.
- Grandjean, P., Weihe, P., Debes, F., Choi, A.L., Budtz-Jørgensen, E., 2014. Neurotoxicity from prenatal and postnatal exposure to methylmercury. *Neurotoxicology and Teratology* 43, 39-44.
- Grandjean, P., Weihe, P., White, R.F., Debes, F., Araki, S., Yokoyama, K., Murata, K., SØRensen, N., Dahl, R., JØRgensen, P.J., 1997. Cognitive Deficit in 7-Year-Old Children with Prenatal Exposure to Methylmercury. *Neurotoxicology and Teratology* 19, 417-428.
- Gratz, L.E., Ambrose, J.L., Jaffe, D.A., Shah, V., Jaegle', L., Stutz, J., Festa, J., Spolaor, M., Tsai, C., Selin, N.E., Song, S., Zhou, X., Weinheimer, A.J., Knapp, D.J., Montzka, D.D., Flocke, F.M., Campos, T.L., Apel, E., Hornbrook, R., Blake, N.J., Hall, S., Tyndall, G.S., Reeves, M., Stechman, D., Stell, M., 2015. Oxidation of mercury by bromine in the subtropical Pacific free troposphere. *Geophys Res Lett* 42, 10494-10502.
- Graydon, J.A., Louis, V.L.S., Hintelmann, H., Lindberg, S.E., Sandilands, K.A., Rudd, J.W.M., Kelly, C.A., Hall, B.D., Mowat, L.D., 2008. Long-Term Wet and Dry Deposition of Total and Methyl Mercury in the Remote Boreal Ecoregion of Canada (English). *Environ Sci Technol* 42, 8345-8351.
- Gregoire, D.S., Poulain, A.J., 2016. A physiological role for HgII during phototrophic growth. *Nature Geosci* 9, 121-125.
- Grigal, D.F., 2002. Inputs and outputs of mercury from terrestrial watersheds: a review. *Environ. Rev.* 10, 1.
- Gu, B., Bian, Y., Miller, C.L., Dong, W., Jiang, X., Liang, L., 2011. Mercury reduction and complexation by natural organic matter in anoxic environments. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 108, 1479-1483.
- Guédron, S., Amouroux, D., Sabatier, P., Desplanque, C., Develle, A.-L., Barre, J., Feng, C., Guiter, F., Arnaud, F., Reyss, J.L., Charlet, L., 2016a. A hundred year record of industrial and urban development in French Alps combining Hg accumulation rates and isotope composition in sediment archives from Lake Luitel. *Chem Geol* 431, 10-19.
- Guédron, S., Devin, S., Vignati, D.A.L., 2016b. Total and methylmercury partitioning between colloids and true solution: From case studies in sediment overlying and porewaters to a generalized model. *Environ Toxicol Chem* 35, 330-339.
- Guédron, S., Duwig, C., Prado, B.L., Point, D., Flores, M.G., Siebe, C., 2014. (Methyl)Mercury, Arsenic, and Lead Contamination of the World's Largest Wastewater Irrigation System: the Mezquital Valley (Hidalgo State—Mexico). *Water, Air, & Soil Pollution* 225, 2045.
- Guédron, S., Huguet, L., Vignati, D.A.L., Liu, B., Gimbert, F., Ferrari, B.J.D., Zonta, R., Dominik, J., 2012. Tidal cycling of mercury and methylmercury between sediments and water column in the Venice Lagoon (Italy). *Mar Chem* 130–131, 1-11.
- Guevara, S.R., Bubach, D., Vigliano, P., Lippolt, G., Arribére, M., 2004. Heavy metal and other trace elements in native mussel *Diplodon chilensis* from Northern Patagonia Lakes, Argentina. *Biological Trace Element Research* 102, 245-263.
- Guifen, Y.U., Hongtao, W.U., Changle, Q., Xin, J., Jiaoyan, Z., 2004. Bioavailability of humic substance-bound mercury to lettuce and its relationship with soil properties (English). *Communications in soil science and plant analysis* 35, 1123-1139.

- Guimaraes, J.R.D., Fostier, A.-H., Forti, M.C., Melfi, J.A., Kehrig, H., Mauro, J.B.N., Malm, O., Krug, J.F., 1999. Mercury in human environmental samples from two lakes in Amapa, Brazilian Amazon. *Ambio* 28, 296-301.
- Guimarães, J.R.D., Meili, M., Hylander, L.D., Silva, E.d.C.e., Roulet, M., Mauro, J.B.N., de Lemos, R.A., 2000. Mercury net methylation in five tropical flood plain regions of Brazil: high in the root zone of floating macrophyte mats but low in surface sediments and flooded soils. *Sci Total Environ* 261, 99-107.
- Gustin, M.S., Lindberg, S.E., Weisberg, P.J., 2008. An update on the natural sources and sinks of atmospheric mercury. *Appl. Geochem.* 23, 482.
- Guyot, J.L., Roche, M.A., Noriega, L., Calle, H., Quintanilla, J., 1990. Salinities and sediment transport in the Bolivian highlands. *Journal of Hydrology* 113, 147-162.
- Hall, B., 1995. The gas phase oxidation of elemental mercury by ozone. *Water Air Soil Pollut.* 80, 301.
- Hamelin, S., Amyot, M., Barkay, T., Yanping, W., Planas, D., 2011. Methanogens: Principal Methylators of Mercury in Lake Periphyton (English). *Environ Sci Technol* 45, 7693-7700.
- Hammerschmidt, C.R., Fitzgerald, W.F., 2004. Geochemical controls on the production and distribution of methylmercury in near-shore marine sediments. *Environ Sci Technol* 38, 1487-1495.
- Hammerschmidt, C.R., Fitzgerald, W.F., 2006a. Bioaccumulation and trophic transfer of methylmercury in Long Island Sound. *Arch Environ Con Tox* 51, 416-424.
- Hammerschmidt, C.R., Fitzgerald, W.F., 2006b. Photodecomposition of methylmercury in an Arctic Alaskan Lake (English). *Environ Sci Technol* 40, 1212-1216.
- Hammerschmidt, C.R., Fitzgerald, W.F., Lamborg, C.H., Balcom, P.H., Tseng, C.M., 2006. Biogeochemical cycling of methylmercury in lakes and tundra watersheds of Arctic Alaska. *Environ Sci Technol* 40, 1204-1211.
- Hammerschmidt, C.R., Lamborg, C.H., Fitzgerald, W.F., 2007. Aqueous phase methylation as a potential source of methylmercury in wet deposition. *Atmos Environ* 41, 1663-1668.
- Harada, M., 1995. Minamata disease: methylmercury poisoning in Japan caused by environmental pollution. *Crit. Rev. Toxicol.* 25, 1.
- Harada, M., Nakanishi, J., Konuma, S., Ohno, K., Kimura, T., Yamaguchi, H., Tsuruta, K., Kizaki, T., Ookawara, T., Ohno, H., 1998. The Present Mercury Contents of Scalp Hair and Clinical Symptoms in Inhabitants of the Minamata Area. *Environ Res* 77, 160-164.
- Harris-Hellal, J., Grimaldi, M., Garnier-Zarli, E., Bousserhine, N., 2011. Mercury mobilization by chemical and microbial iron oxide reduction in soils of French Guyana (English). *Biogeochemistry (Dordrecht)* 103, 223-234.
- He, F., Zheng, W., Liang, L., Gu, B., 2012. Mercury photolytic transformation affected by low-molecular-weight natural organics in water. *Sci Total Environ* 416, 429-435.
- Heyes, A., Mason, R.P., Kim, E.H., Sunderland, E.M., 2006. Mercury methylation in estuaries: insights from using measuring rates using stable mercury isotopes. *Mar. Chem.* 102, 134.
- Hintelmann, H., 1999. Comparison of different extraction techniques used for methylmercury analysis with respect to accidental formation of methylmercury during sample preparation. *Chemosphere* 39, 1093.

- Hintelmann, H., 2010. Organomercurials. Their formation and pathways in the environment. *Metal Ions In Life Sciences* 7, 365-401.
- Hintelmann, H., Evans, R.D., 1997. Application of stable isotopes in environmental tracer studies – Measurement of monomethylmercury (CH₃Hg⁺) by isotope dilution ICP-MS and detection of species transformation. *Fresenius' Journal of Analytical Chemistry* 358, 378.
- Hintelmann, H., Falter, R., Ilgen, G., Evans, R.D., 1997. Determination of artifactual formation of monomethylmercury (CH₃Hg⁺) in environmental samples using stable Hg²⁺ isotopes with ICP-MS detection: Calculation of contents applying species specific isotope addition. *Fresenius' Journal of Analytical Chemistry* 358, 363.
- Hintelmann, H., Harris, R., 2004. Application of multiple stable mercury isotopes to determine the adsorption and desorption dynamics of Hg(II) and MeHg to sediments. *Mar Chem* 90, 165-173.
- Hintelmann, H., Ogrinc, N., 2003. Determination of stable mercury isotopes by ICP/MS and their application in environmental studies. *ACS Symposium Series* 835, 321-338.
- Hintelmann, H., Welbourn, P.M., Evans, R.D., 1995. Binding of methylmercury compounds by humic and fulvic acids. *Water Air Soil Pollut.* 80, 1031.
- Hollweg, T.A., Gilmour, C.C., Mason, R.P., 2009. Methylmercury production in sediments of Chesapeake Bay and the mid-Atlantic continental margin. *Mar Chem* 114, 86-101.
- Horton, B.K., Hampton, B.A., Lareau, B.N., Baldellon, E., 2002. Tertiary provenance history of the northern and central Altiplano (Central Andes, Bolivia); a detrital record of plateau-margin tectonics. *Journal of Sedimentary Research* 72 711-726.
- Horvat, M., 2005. Determination of mercury and its compounds in water, sediment, soil and biological samples. Springer Science and Business Media : New York, NY, United States, United States, pp. 153-190.
- Hsu-Kim, H., Kucharzyk, K.H., Zhang, T., Deshusses, M.A., 2013. Mechanisms regulating mercury bioavailability for methylating microorganisms in the aquatic environment: a critical review. *Environ Sci Technol* 47, 2441-2456.
- Huang, J., Kang, S., Wang, S., Wang, L., Zhang, Q., Guo, J., Wang, K., Zhang, G., Tripathee, L., 2013. Wet deposition of mercury at Lhasa, the capital city of Tibet. *Sci Total Environ* 447, 123-132.
- Huang, J., Kang, S., Zhang, Q., Jenkins, M.G., Guo, J., Zhang, G., Wang, K., 2012a. Spatial distribution and magnification processes of mercury in snow from high-elevation glaciers in the Tibetan Plateau. *Atmos Environ* 46, 140-146.
- Huang, J., Kang, S.C., Zhang, Q.G., Yan, H.Y., Guo, J.M., Jenkins, M.G., Zhang, G.S., Wang, K., 2012b. Wet deposition of mercury at a remote site in the Tibetan Plateau: Concentrations, speciation, and fluxes. *Atmos Environ* 62, 540-550.
- Hursh, J.B., Cherian, M.G., Clarkson, T.W., Vostal, J.J., Mallie, R.V., 1976. Clearance of mercury (HG-197, HG-203) vapor inhaled by human subjects. *Archives Of Environmental Health* 31, 302-309.
- Imura, N., Sukegawa, E., Pan, S.-K., Nagao, K., Kim, J.-Y., Kwan, T., Ukita, T., 1971. Chemical Methylation of Inorganic Mercury with Methylcobalamin, a Vitamin B₁₂ Analog. *American Association for the Advancement of Science*, p. 1248.
- Ineris, 2010. Fiche de données toxicologiques et environnementales des substances chimiques: Mercure et ses dérivés. p. 120.

- Iwai-Shimada, M., Satoh, H., Nakai, K., Tatsuta, N., Murata, K., Akagi, H., 2015. Methylmercury in the breast milk of Japanese mothers and lactational exposure of their infants. *Chemosphere* 126, 67-72.
- Jay, J.A., Murray, K.J., Gilmour, C.C., Mason, R.P., Morel, F.M.M., Roberts, A.L., Hemond, H.F., 2002. Mercury Methylation by *Desulfovibrio desulfuricans* ND132 in the Presence of Polysulfides. *Applied & Environmental Microbiology* 68, 5741.
- Jeremiason, J.D., Engstrom, D.R., Swain, E.B., Nater, E.A., Johnson, B.M., Almendinger, J.E., Monson, B.A., Kolka, R.K., 2006. Sulfate addition increases methylmercury production in an experimental wetland (English). *Environ Sci Technol* 40, 3800-3806.
- Jobling, M.G., Peters, S.E., Ritchie, D.A., 1988. Plasmid-borne mercury resistance in aquatic bacteria (English). *FEMS microbiology letters* 49, 31-37.
- Johnson, D.B., Hallberg, K.B., 2005. Acid mine drainage remediation options: a review *Sci Total Environ* 338, 3-14.
- Jonasson, I.R., Boyle, R.W., 1972. Geochemistry of mercury and origin of natural contamination of the environment. *CIM Bulletin* [1974] 65, 32-39.
- Joselow, M.M., Ruiz, R., Goldwater, L.J., 1968. Absorption and excretion of mercury in man. XIV. Salivary excretion of mercury and its relationship to blood and urine mercury. *Arch. Environ. Health* 17.
- Kabata-Pendias, A., 2011. Trace elements in soils and plants. Taylor and Francis Group, LLC, NW, United States of America.
- Karunasagar, D., Arunachalam, J., Gangadharan, S., 1998. Development of a 'collect and punch' cold vapour inductively coupled plasma mass spectrometric method for the direct determination of mercury at nanograms per litre levels (English). *Journal of analytical atomic spectrometry (Print)* 13, 679-682.
- Kelly, W.C., Turneure, F.S., 1970. Mineralogy, paragenesis and geothermometry of the tin and tungsten deposits of the eastern Andes, Bolivia. *Economic Geology* 65, 609-680.
- Kerin, E.J., Gilmour, C.C., Roden, E., Suzuki, M.T., Coates, J.D., Mason, R.P., 2006. Mercury methylation by dissimilatory iron-reducing bacteria. *Appl. Environ. Microbiol.* 72, 7919.
- Khwaja, A.R., Bloom, P.R., Brezonik, P.L., 2006 Binding constants of divalent mercury (Hg²⁺) in soil humic acids and soil organic matter. *Environ Sci Technol* 40, 844-849.
- Kimball, B.A., Callender, E., Axtmann, E.V., 1995 Effects of colloids on metal transport in a river receiving acid mine drainage, upper Arkansas River, Colorado, U.S.A. *Appl. Geochem.* 10, 285-306.
- King, J.K., Kostka, J.E., Frischer, M.E., Saunders, F.M., 2000. Sulfate-reducing bacteria methylate mercury at variable rates in pure culture and in marine sediments (English). *Applied and environmental microbiology (Print)* 66, 2430-2437.
- King, J.K., Kostka, J.E., Frischer, M.E., Saunders, F.M., Jahnke, R.A., 2001. A quantitative relationship that demonstrates mercury methylation rates in marine sediments are based on the community composition and activity of sulfate-reducing bacteria (English). *Environ Sci Technol* 35, 2491-2496.
- Kingston, H.M., Dengwei, H.U.O., Yusheng, L.U., Chalk, S., 1998. Accuracy in species analysis : speciated isotope dilution mass spectrometry (SIDMS) exemplified by the evaluation of chromium species (English). *Spectrochimica acta. Part B : Atomic spectroscopy* 53, 299-309.

- Kirk, J.L., Louis, V.L.S., Hintelmann, H., Lehnerr, I., Else, B., Poissant, L., 2008. Methylated Mercury Species in Marine Waters of the Canadian High and Sub Arctic (English). *Environ Sci Technol* 42, 8367-8373.
- Klaassen, C., 1990. Heavy metals and heavy-metal antagonists. Goodman and Gilman's the pharmacological basis of therapeutics. Pergamon Press, New York, pp. 1592-1614
- Kopysc, E., Pyrzynska, K., Garbos, S., Bulska, E., 2000. Determination of mercury by cold-vapor atomic absorption spectrometry with preconcentration on a gold-trap (English). *Analytical sciences* 16, 1309-1312.
- Kotnik, J., Horvat, M., Tessier, E., Ogrinc, N., Monperrus, M., Amouroux, D., Fajon, V., Gibicar, D., Zizek, S., Sprovieri, F., Pirrone, N., 2007. Mercury speciation in surface and deep waters of the Mediterranean Sea. *Mar Chem* 107, 13-30.
- Laffont, L., 2009. Fractionnement des isotopes stables de mercure dans un écosystème tropical en Amazonie bolivienne et dans les cheveux de populations humaines exposées. *Sciences de l'Univers, de l'Environnement et de l'Espace*. Toulouse III - Paul Sabatier, Toulouse France, p. 187.
- Lailson-Brito, J., Cruz, R., Dorneles, P.R., Andrade, L., Azevedo, A.d.F., Fragoso, A.B., Vidal, L.G., Costa, M.B., Bisi, T.L., Almeida, R., Carvalho, D.P., Bastos, W.R., Malm, O., 2012. Mercury-Selenium Relationships in Liver of Guiana Dolphin: The Possible Role of Kupffer Cells in the Detoxification Process by Tiemannite Formation. *Plos One* 7, e42162.
- Lalonde, J.D., Amyot, M., Kraepiel, A.M.L., Morel, F.M.M., 2001. Photooxidation of Hg(0) in artificial and natural waters (English). *Environ Sci Technol* 35, 1367-1372.
- Lalonde, J.D., Amyot, M., Orvoine, J., Morel, F.M.M., Auclair, J.-C., Ariya, P.A., 2004. Photoinduced oxidation of Hg₀(aq) in the waters from the St. Lawrence estuary (English). *Environ Sci Technol* 38, 508-514.
- Lamborg, C.H., Fitzgerald, W.F., O'Donnell, J., Torgersen, T., 2002. A non-steady-state compartmental model of global-scale mercury biogeochemistry with interhemispheric atmospheric gradients. *Geochim Cosmochim Acta* 66, 1105-1118.
- Lamborg, C.H., Hammerschmidt, C.R., Bowman, K.L., Swarr, G.J., Munson, K.M., Ohnemus, D.C., Lam, P.J., Heimbürger, L.-E., Rijkenberg, M.J.A., Saito, M.A., 2014. A global ocean inventory of anthropogenic mercury based on water column measurements. *Nature [London]* 512, 65-68.
- Langer, C.S., Fitzgerald, W.F., Visscher, P.T., Vandal, G.M., 2001. Biogeochemical cycling of methylmercury at Barn Island Salt Marsh, Stonington, CT, USA. *Wetlands Ecology and Management* 9, 295-310.
- Lanza, W.G., Acha, D., Point, D., Masbou, J., Alanoca, L., Amouroux, D., Lazzaro, X., 2015. Association of a specific algal group to methylmercury accumulation in periphyton of a tropical high-altitude Andean Lake. *Env. Pollut.* submitted.
- Lanzillotta, E., Ceccarini, C., Ferrara, R., 2002. Photo-induced formation of dissolved gaseous mercury in coastal and offshore seawater of the Mediterranean basin. *Sci Total Environ* 300, 179-187.
- Lanzillotta, E., Ceccarini, C., Ferrara, R., Dini, F., Frontini, F.P., Banchetti, R., 2004. Importance of the biogenic organic matter in photo-formation of dissolved gaseous mercury in a culture of the marine diatom *Chaetoceros* sp. *Sci Total Environ* 318, 211-221.
- Lebel, J., Mergler, D., Lucotte, M., Amorim, M., Dolbec, J., Miranda, D., Arantes, G., Rheault, I., Pichet, P., 1996. Evidence of early nervous system dysfunction in Amazonian populations exposed to low-levels of methylmercury. *Neurotoxicology* 17, 157-168.

- Lee, G., Bigham, J.M., Faure, G., 2002. Removal of trace metals by coprecipitation with Fe, Al and Mn from natural waters contaminated with acid mine drainage in the Ducktown Mining District, Tennessee. *Appl Geochem* 17, 569-581.
- Lee, Y.-H., Hultberg, H., Andersson, I., 1985. Catalytic effect of various metal ions on the methylation of mercury in the presence of humic substances. *Water, Air, and Soil Pollution* 25, 391-400.
- Legrand, M., Feeley, M., Tikhonov, C., Schoen, D., Li-Muller, A., 2010. Methylmercury blood guidance values for Canada. *Canadian Journal Of Public Health = Revue Canadienne De Santé Publique* 101, 28-31.
- Legrand, M., Lam, R., Jensen-Fontaine, M., Salin, E.D., Man Chan, H., 2004. Direct detection of mercury in single human hair strands by laser ablation inductively coupled plasma mass spectrometry (LA-ICP-MS). *J Anal Atom Spectrom* 19, 1287-1288.
- Lehnerr, I., St. Louis, V.L., 2009. Importance of Ultraviolet Radiation in the Photodemethylation of Methylmercury in Freshwater Ecosystems (English). *Environ Sci Technol* 43, 5692-5698.
- Lenters, J.D., Cook, K.H., 1999. Summertime Precipitation Variability over South America: Role of the Large-Scale Circulation. *Monthly Weather Review* 127, 409-431.
- Lentz, D.R., 2005. Mercury as a lithogeochemical exploration vectoring technique: a review of methodologies and applications with selected VMS case histories. *J. Gangue* 85:1-8.
- Lian, L., Bloom, N.S., 1993. Determination of total mercury by single-stage gold amalgamation with cold vapour atomic spectrometric detection (English). *Journal of analytical atomic spectrometry (Print)* 8, 591-594.
- Lin, C.-C., Yee, N., Barkay, T., 2012. Microbial transformations in the mercury cycle, Environmental chemistry and toxicology of mercury. In: Liu, G., Cai, Y., O'Driscoll, N. (Ed.). John Wiley & Sons, Inc, Hoboken, New Jersey, pp. 155-191.
- Lindberg, S., Bullock, R., Ebinghaus, R., Engstrom, D., Feng, X.B., Fitzgerald, W., Pirrone, N., Prestbo, E., Seigneur, C., 2007. A synthesis of progress and uncertainties in attributing the sources of mercury in deposition. *Ambio* 36, 19-32.
- Lindberg, S.E., Stratton, W.J., 1998. Atmospheric mercury speciation: Concentrations and behavior of reactive gaseous mercury in. *Environ Sci Technol* 32, 49.
- Lindqvist, O., Johansson, K., Bringmark, L., Timm, B., Aastrup, M., Andersson, A., Hovsenius, G., Håkanson, L., Iverfeldt, Å., Meili, M., 1991. Mercury in the Swedish environment — Recent research on causes, consequences and corrective methods. *Water, Air, and Soil Pollution* 55, xi-261.
- Lindström, M., 2001. Distribution of particulate and reactive mercury in surface waters of Swedish forest lakes — an empirically based predictive model. *Ecological Modelling* 136, 81-93.
- Liu, J.-L., Xu, X.-R., Yu, S., Cheng, H., Peng, J.-X., Hong, Y.-G., Feng, X.-B., 2014. Mercury contamination in fish and human hair from Hainan Island, South China Sea: Implication for human exposure. *Environ Res* 135, 42-47.
- Lockhart, W.L., Stern, G.A., Wagemann, R., Hunt, R.V., Metner, D.A., DeLaronde, J., Dunn, B., Stewart, R.E.A., Hyatt, C.K., Harwood, L., Mount, K., 2005. Concentrations of mercury in tissues of beluga whales (*Delphinapterus leucas*) from several communities in the Canadian Arctic from 1981 to 2002. *Sci Total Environ* 351, 391-412.
- Loseto, L.L., Siciliano, S.D., Lean, D.R.S., 2004. METHYLMERCURY PRODUCTION IN HIGH ARCTIC WETLANDS. *Environmental Toxicology & Chemistry* 23, 17-23.

- Loukola-Ruskeeniemi, K., Kantola, M., Halonen, T., Seppänen, K., Henttonen, P., Kallio, E., Kurki, P., Savolainen, H., 2003. Mercury-bearing black shales and human Hg intake in eastern Finland: impact and mechanisms. *Environ Geol* 43, 283-297.
- Magos, L., 1988. Mercury. In: Sella, H., Sigel, H. (Eds.). *Handbook on toxicity of inorganic compounds*, New York, pp. 419-436.
- Maia, P.D., Maurice, L., Tessier, E., Amouroux, D., Cossa, D., Pérez, M., Moreira-Turcq, P., Rhéault, I., 2009. Mercury distribution and exchanges between the Amazon River and connected floodplain lakes. *Sci Total Environ* 407, 6073-6084.
- Malm, O., 1998. Gold Mining as a Source of Mercury Exposure in the Brazilian Amazon. *Environ Res* 77, 73-78.
- Marques, R.C., Abreu, L., Bernardi, J.V.E., Dórea, J.G., Neurodevelopment of Amazonian children exposed to ethylmercury (from Thimerosal in vaccines) and methylmercury (from fish). *Environ Res*.
- Martin-Doimeadios, R.C.R., Krupp, E., Amouroux, D., Donard, O.F.X., 2002. Application of Isotopically Labeled Methylmercury for Isotope Dilution Analysis of Biological Samples Using Gas Chromatography/ICPMS. *Anal Chem* 74, 2505.
- Martín-Doimeadios, R.C.R., Monperrus, M., Krupp, E., Amouroux, D., Donard, O.F.X., 2003. Using Speciated Isotope Dilution with GC-Inductively Coupled Plasma MS To Determine and Unravel the Artificial Formation of Monomethylmercury in Certified Reference Sediments. *Anal Chem* 75, 3202.
- Maruszczak, N., Larose, C., Dommergue, A., Paquet, S., Beaulne, J.-S., Maury-Brachet, R., Lucotte, M., Nedjai, R., Ferrari, C.P., 2011. Mercury and methylmercury concentrations in high altitude lakes and fish (Arctic charr) from the French Alps related to watershed characteristics. *Sci Total Environ* 409, 1909-1915.
- Maruszczak, N., Larose, C., Dommergue, A., Paquet, S., Beaulne, J.-S., Maury-Brachet, R., Lucotte, M., Nedjai, R., Ferrari, C.P., 2011b. Mercury and methylmercury concentrations in high altitude lakes and fish (Arctic charr) from the French Alps related to watershed characteristics. *Sci Total Environ* 409, 1909-1915.
- Maruszczak, N., Larose, C., Dommergue, A., Yumvihoze, E., Lean, D., Nedjai, R., Ferrari, C., 2011c. Total mercury and methylmercury in high altitude surface snow from the French Alps. *Sci Total Environ* 409, 3949-3954.
- Marvin-Dipasquale, M., Agee, J., 2000. Methyl-Mercury Degradation Pathways: A Comparison among Three Mercury-Impacted Ecosystems. *Environ Sci Technol* 34, 4908.
- Marvin-DiPasquale, M., Agee, J.L., 2003. Microbial Mercury Cycling in Sediments of the San Francisco Bay-Delta. *Estuaries* 26, 1517.
- Mason, R.P., 2009. Mercury emissions from natural processes and their importance in the global mercury cycle. In: Mason, R., Pirrone, N. (Eds.). *Mercury Fate and Transport in the Global Atmosphere: Emissions, Measurements and Models*. Springer US, Boston, MA, pp. 173-191.
- Mason, R.P., Benoit, J.M., 2003. Organomercury compounds in the Environment. In: In: Craig, E., John Wiley & Sons (Ed.). *Organometallic compounds in the Environment*.
- Mason, R.P., Fitzgerald, W.F., 1990. Alkylmercury species in the equatorial Pacific. *Nature* 347, 457-459.
- Mason, R.P., Fitzgerald, W.F., 1993. The distribution and biogeochemical cycling of mercury in the equatorial Pacific Ocean. *Deep Sea Res. Part I* 40, 1897.

- Mason, R.P., Fitzgerald, W.F., Morel, F.M.M., 1994. The Biogeochemical Cycling of Elemental Mercury - Anthropogenic Influences. *Geochim Cosmochim Acta* 58, 3191-3198.
- Mason, R.P., Lawson, N.M., Sheu, G.R., 2001. Mercury in the Atlantic Ocean: factors controlling air-sea exchange of mercury and its distribution in the upper waters. *Deep-Sea Research Part II* 48, 2829-2853.
- Mason, R.P., Morel, F.M.M., Hemond, H.F., Electric Power Research Institute, P.A.C.A.U.S., Environment, C., Atmospheric Environment Service, C., Ontario Hydro, C., State of, F., Department of Environmental Protection, U.S., Food, U.S., Drug Administration, W.D.C.U.S., Frontier, G., Wisconsin Department of Natural Resources, U.S., Health Canada, C., 1995a. The role of microorganisms in elemental mercury formation in natural waters (English)
Mercury as a global pollutant. International conference (English). Springer, Dordrecht, pp. 775-787.
- Mason, R.P., Reinfelder, J.R., Morel, F.M.M., 1995b. Bioaccumulation of mercury and methylmercury. *Water, Air, and Soil Pollution* 80, 915-921.
- Mason, R.P., Reinfelder, J.R., Morel, F.M.M., 1996. Uptake, Toxicity, and Trophic Transfer of Mercury in a Coastal Diatom. *Environ Sci Technol* 30, 1835-1845.
- Maurice-Bourgoin, L., Quiroga, I., Chincheros, J., Courau, P., 2000. Mercury distribution in waters and fishes of the upper Madeira rivers and mercury exposure in riparian Amazonian populations. *Sci Total Environ* 260, 73-86.
- Maynard, J.L., 1932. The action of mercury on organic iodides I The formation of methylmercury iodide and benzylmercuric iodide. *J Am Chem Soc* 54, 2108 - 2112.
- McQuarrie, N., Horton, B.K., Zandt, G., Beck, S., DeCelles, P.G., 2005. Lithospheric evolution of the Andean fold-thrust belt, Bolivia, and the origin of the central Andean plateau. *Tectonophysics* 399, 15-37.
- Mehrotra, A.S., Sedlak, D.L., 2005. Decrease in net mercury methylation rates following iron amendment to anoxic wetland sediment slurries (English). *Environ Sci Technol* 39, 2564-2570.
- Meija, J., Ouerdane, L., Mester, Z., 2009. Describing chemical transformations in multiple spiking isotope dilution : fundamental aspects and definitions (English). *Analyst (London. 1877. Print)* 134, 466-471.
- Meija, J., Yang, L., Caruso, J.A., Mester, Z., 2006. Calculations of double spike isotope dilution results revisited. *JAAS (Journal of Analytical Atomic Spectrometry)* 21, 1294.
- Meili, M., 1997. Mercury in lakes and rivers, New York: Marcel Dekker Inc.
- Michard, J., 2008. Cooperativas Mineras en Bolivia. Formas de organización, producción y comercialización. Centro de Documentación e Información Bolivia, Cochabamba - Bolivia.
- Miller, C.L., Mason, R.P., Gilmour, C.C., Heyes, A., 2007. Influence of dissolved organic matter on the complexation of mercury under sulfidic conditions. *Environ Toxicol Chem* 26, 624-633.
- Mitchell, C.P.J., Branfireun, B.A., Kolka, R.K., 2008. Assessing sulfate and carbon controls on net methylmercury production in peatlands; an in situ mesocosm approach. *Appl Geochem* 23, 503-518.
- Mizanur Rahman, G.M., Kingston, H.M.S., 2004. Application of Speciated Isotope Dilution Mass Spectrometry To Evaluate Extraction Methods for Determining Mercury Speciation in Soils and Sediments. *Anal Chem* 76, 3548-3555.

Mizanur Rahman, G.M., Skip Kingston, H.M., Bhandari, S., 2003. Synthesis and characterization of isotopically enriched methylmercury ($\text{CH}_3^{201}\text{Hg}^+$) (English). *Appl Organomet Chem* 17, 913-920.

MMAyA, 2015. Plan Director de la Cuenca del lago Poopó (Resumen). Ministerio de Medio Ambiente y Agua, Gobierno Autónomo Departamental de Oruro, Programa de Gestión Sostenible de los Recursos Naturales de la Cuenca del Lago Poopó, Oruro-Bolivia.

Molina, C.I., Ibañez, C., Gibon, F.M., 2012. Proceso de biomagnificación de metales pesados en un lago hiperhalino (Poopó, Oruro, Bolivia): Posible riesgo en la salud de consumidores. *Ecología en Bolivia [online]* 47, 99-118.

Monperrus, M., Gonzalez, P.R., Amouroux, D., Garcia Alonso, J.I., Donard, O.F.X., 2008. Evaluating the potential and limitations of double-spiking species-specific isotope dilution analysis for the accurate quantification of mercury species in different environmental matrices. *Analytical & Bioanalytical Chemistry* 390, 655-666.

Monperrus, M., Krupp, E., Amouroux, D., Donard, O.F.X., Rodriguez Martin-Doimeadios, R.C., 2004. Potential and limits of speciated isotope-dilution analysis for metrology and assessing environmental reactivity (English). *TrAC. Trends in analytical chemistry (Regular ed.)* 23, 261-272.

Monperrus, M., Point, D., Grall, J., Chauvaud, L., Amouroux, D., Bareille, G., Donard, O., 2005. Determination of metal and organometal trophic bioaccumulation in the benthic macrofauna of the Adour estuary coastal zone (SW France, Bay of Biscay). *Journal of Environmental Monitoring* 7, 693-700.

Monperrus, M., Tessier, E., Amouroux, D., Leynaert, A., Huonnic, P., Donard, O.F.X., 2007a. Mercury methylation, demethylation and reduction rates in coastal and marine surface waters of the Mediterranean Sea. *Mar Chem* 107, 49-63.

Monperrus, M., Tessier, E., Point, D., Vidimova, K., Amouroux, D., Guyoneaud, R., Leynaert, A., Grall, J., Chauvaud, L., Thouzeau, G., Donard, O.F.X., 2007b. The biogeochemistry of mercury at the sediment-water interface in the Thau Lagoon. 2. Evaluation of mercury methylation potential in both surface sediment and the water column. *Estuar Coast Shelf S* 72, 485-496.

Monperrus, M., Tessier, E., Veschambre, S., Amouroux, D., Donard, O., 2005b. Simultaneous speciation of mercury and butyltin compounds in natural waters and snow by propylation and species-specific isotope dilution mass spectrometry analysis. *Analytical & Bioanalytical Chemistry* 381, 854-862.

Monroy, M., Maceda-Veiga, A., de Sostoa, A., 2014. Metal concentration in water, sediment and four fish species from Lake Titicaca reveals a large-scale environmental concern. *Sci Total Environ* 487, 233-244.

Montes de Oca, I., 1989. *Geografía y recursos naturales de Bolivia*, La Paz.

Montes de Oca, I., 1997. *Geografía y recursos naturales de Bolivia*. EDOBOL, COBIJA

Morel, F.M.M., Kraepiel, A.M.L., Amyot, M., 1998. The chemical cycle and bioaccumulation of mercury. *Annual Review of Ecology and Systematics* 29, 543-566.

Morelli, E., Ferrara, R., Bellini, B., Dini, F., Di Giuseppe, G., Fantozzi, L., 2009. Changes in the non-protein thiol pool and production of dissolved gaseous mercury in the marine diatom *Thalassiosira weissflogii* under mercury exposure. *Sci Total Environ* 408, 286-293.

Moricz, F., Walder, I., Madai, F., 2009. Geochemical and Mineralogical Characterization of Waste Material from the Itos Sn-Ag Deposit, Bolivia. . In: Curran Associates, I. (Ed.). 8th International

- Conference on Acid Rock Drainage (ICARD) and Securing the Future: Mining, Metals & the Environment in a Sustainable Society 2009 Skelleftea, Sweden.
- Moricz, F., Walder, I.F., Madai, F., 2009. Geochemical and mineralogical characterization of waste material from Itos Sn-Ag deposit, Bolivia. Proceeding of securing the future and 8th ICARD Skellefteå, Sweden, pp. 525-534.
- Mosbæk, H., Tjell, J.C., Sevel, T., 1988. Plant uptake of airborne mercury in background areas (English). *Chemosphere (Oxford)* 17, 1227-1236.
- Muir, D.C.G., Shearer, R.G., Van Oostdam, J., Donaldson, S.G., Furgal, C., 2005. Contaminants in Canadian arctic biota and implications for human health : Conclusions and knowledge gaps (English). *Sci Total Environ* 351-52, 539-546.
- Munthe, J., 1992. The aqueous oxidation of elemental mercury by ozone. *Atmos. Environ.* 26A, 1461.
- Munthe, J., Xiao, Z.F., Lindqvist, O., 1991. The aqueous reduction of divalent mercury by sulfite. *Water Air Soil Pollut.* 56, 621.
- Murata, K., Sakamoto, M., 2013. Minamata Disease. In: Inc., E. (Ed.). *Minamata Disease*. ScienceDirect, Japan, pp. 1-6.
- Muresan, B., Cossa, D., Coquery, M., Richard, S., 2008. Mercury sources and transformations in a man-perturbed tidal estuary: The Sinnamary Estuary, French Guiana. *Geochim Cosmochim Acta* 72, 5416-5430.
- Muresan, B., Cossa, D., Jezequel, D., 2004. Diagenetic mobility of mercury species in the sediment of a mediterranean lagoon, France. *Materials and Geoenvironment* 51, 1247-1250.
- Muresan, B., Cossa, D., Jezequel, D., Prevot, F., Kerbellec, S., 2007. The biogeochemistry of mercury at the sediment-water interface in the Thau Lagoon; 1, Partition and speciation. *Estuarine, Coastal and Shelf Science* 72, 472-484.
- Musante, A.M., 2008. The Role of Mercury Speciation in its Methylation by Methylcobalamin (Vitamin-B12). Honors thesis Thesis, . Wheaton College, Norton, Massachusetts.
- Nagase, H., Ose, Y., Sato, T., Ishikawa, T., 1982. Methylation of mercury by humic substances in an aquatic environment. *Sci Total Environ* 25, 133-142.
- Nagase, H., Ose, Y., Sato, T., Ishikawa, T., 1984. Mercury methylation by compounds in humic material (English). *Sci Total Environ* 32, 147-156.
- Nakamura, I., Hosokawa, K., Tamura, H., Miura, T., 1977. Reduced mercury excretion with feces in germfree mice after oral administration of methyl mercury chloride. *Bulletin Of Environmental Contamination And Toxicology* 17, 528-533.
- Norseth, T., Clarkson, T.W., 1971 Intestinal transport of Hg-203-labeled methylmercury chloride: Role of biotransformation in rats *Arch Environ Health* 22, 568-577.
- NRC, 2000 Toxicological effects of methylmercury. National Academy Press, Washington, DC.
- Nriagu, J., Becker, C., 2003. Volcanic emissions of mercury to the atmosphere: global and regional inventories. *Sci. Total Environ.* 304, 3.
- Nriagu, J.O., 1989. A global assessment of natural sources of atmospheric trace metals. *Nature* 338, 47-49.
- Nriagu, J.O., 1994a. *Sci. Total Environ.* 154, 1.

- Nriagu, J.O., 1994b. Mechanistic steps in the photoreduction of mercury in natural waters. *Sci Total Environ* 154, 1-8.
- Nriagu, J.O., 1994c. Mercury pollution from the past mining of gold and silver in the Americas. *Science of The Total Environment* 149, 167-181.
- O'Driscoll, N.J., Beauchamp, S., Siciliano, S.D., Rencz, A.N., Lean, D.R.S., 2003. Continuous analysis of Dissolved Gaseous Mercury (DGM) and mercury flux in two freshwater lakes in Kejimikujik Park, Nova Scotia: Evaluating mercury flux models with quantitative data (English). *Environ Sci Technol* 37, 2226-2235.
- O'Driscoll, N.J., Lean, D.R.S., Loseto, L.L., Carignan, R., Siciliano, S.D., 2004. Effect of dissolved organic carbon on the photoproduction of dissolved gaseous mercury in lakes: Potential impacts of forestry (English). *Environ Sci Technol* 38, 2664-2672.
- O'Driscoll, N.J., Siciliano, S.D., Lean, D.R.S., Amyot, M., 2006. Gross photoreduction kinetics of mercury in temperate freshwater lakes and rivers : Application to a general model of DGM dynamics (English). *Environ Sci Technol* 40, 837-843.
- Oliveira, A.d.S., Bocio, A., Trevilato, T.M.B., Takayanagui, A.M.M., Doming, J.L., Segura-Munoz, S.I., 2007. Heavy metals in untreated/treated urban effluent and sludge from a biological wastewater treatment plant. *Environ Sci Poll Res* 14, 483-489.
- Onat, E., 1974. Solubility studies of metallic mercury in pure water at various temperature. *J. Inorg. Nucl. Chem.* 36, 2029.
- Oremland, R.S., Culbertson, C.W., Winfrey, M.R., 1991. Methylmercury decomposition in sediments and bacterial cultures : involvement of methanogens and sulfate reducers in oxidative demethylation (English). *Applied and environmental microbiology (Print)* 57, 130-137.
- Ormachea Muñoz, M., Wern, H., Johnsson, F., Bhattacharya, P., Sracek, O., Thunvik, R., Quintanilla, J., Bundschuh, J., 2013. Geogenic arsenic and other trace elements in the shallow hydrogeologic system of Southern Poopó Basin, Bolivian Altiplano. *J Hazard Mater* 262, 924-940.
- Osborn, A.M., Bruce, K.D., Strike, P., Ritchie, D.A., 1997. Distribution, diversity and evolution of the bacterial mercury resistance (*mer*) operon. *FEMS Microbiology Reviews* 19, 239-262.
- Ozuah, P.O., 2000. Mercury poisoning. *Current Problems In Pediatrics* 30, 91-99.
- Pak, K.R., Bartha, R., 1998. Mercury methylation and demethylation in anoxic lake sediments and by strictly anaerobic bacteria. *Appl Environ Microb* 64, 1013-1017.
- Park, S.-Y., Holsen, T.M., Kim, P.-R., Han, Y.-J., 2014. Laboratory investigation of factors affecting mercury emissions from soils. *Environmental Earth Sciences* 72, 2711-2721.
- Parks, J.M., Johs, A., Podar, M., Bridou, R., Hurt, R.A., Jr., Smith, S.D., Tomanicek, S.J., Qian, Y., Brown, S.D., Brandt, C.C., Palumbo, A.V., Smith, J.C., Wall, J.D., Elias, D.A., Liang, L., 2013. The genetic basis for bacterial mercury methylation. *Science (New York, N.Y.)* 339, 1332-1335.
- Pedrero Zayas, Z., Ouerdane, L., Mounicou, S., Lobinski, R., Monperrus, M., Amouroux, D., 2014. Hemoglobin as a major binding protein for methylmercury in white-sided dolphin liver. *Analytical & Bioanalytical Chemistry* 406, 1121-1129.
- Peretyazhko, T., Charlet, L., Muresan, B., Kazimirov, V., Cossa, D., 2006. Formation of dissolved gaseous mercury in a tropical lake (Petit-Saut reservoir, French Guiana). *Sci Total Environ* 364, 260-271.

- Perez-Jimenez, J.R., Kerkhof, L.J., 2005. Phylogeography of sulfate-reducing bacteria among disturbed sediments, disclosed by analysis of the dissimilatory sulfite reductase genes (*dsrAB*) (English). *Applied and environmental microbiology* (Print) 71, 1004-1011.
- Pillco Zolá, R., Bengtsson, L., 2006. Long-term and extreme water level variations of the shallow Lake Poopó, Bolivia. *Hydrological Sciences Journal* 51, 98-114.
- Pirrone, N., Cinnirella, S., Feng, X., Finkelman, R.B., Friedli, H.R., Leaner, J., Mason, R., Mukherjee, A.B., Stracher, G.B., Streets, D.G., Telmer, K., 2010. Global mercury emissions to the atmosphere from anthropogenic and natural sources. *Atmos. Chem. Phys.* 10, 5951-5964.
- Pirrone, N., Keeler, G.J., Nriagu, J.O., 1996. Regional differences in worldwide emissions of mercury to the atmosphere. *Atmos Environ* 30, 2981-2987.
- PNUE, P.d.N.U.p.I.E.S.C., 2005. *Evaluation Mondiale du Mercure*. Genève, Suisse, pp. 1-292.
- Podar, M., Gilmour, C.C., Brandt, C.C., Soren, A., Brown, S.D., Crable, B.R., Palumbo, A.V., Somenahally, A.C., Elias, D.A., 2015. Global prevalence and distribution of genes and microorganisms involved in mercury methylation. *Science Advances* 1, e1500675-e1500675.
- Point, D., Davis, W.C., Ignacio Garcia Alonso, J., Monperrus, M., Christopher, S.J., Donard, O.F.X., Becker, P.R., Wise, S.A., 2007a. Simultaneous determination of inorganic mercury, methylmercury, and total mercury concentrations in cryogenic fresh-frozen and freeze-dried biological reference materials (English). *Analytical And Bioanalytical Chemistry* 389, 787-798.
- Point, D., Monperrus, M., Tessier, E., Amouroux, D., Chauvaud, L., Thouzeau, G., Jean, F., Amice, E., Grall, J., Leynaert, A., Clavier, J., Donard, O.F.X., 2007b. Biological control of trace metal and organometal benthic fluxes in a eutrophic lagoon (Thau Lagoon, Mediterranean Sea, France). *Estuarine, Coastal and Shelf Science* 72, 457-471.
- Poissant, L., Zhang, H.H., Canario, J., Constant, P., 2008. Critical review of mercury fates and contamination in the arctic tundra ecosystem. *Sci Total Environ* 400, 173-211.
- Pongratz, R., Heumann, K.G., 1999. Production of methylated mercury, lead, and cadmium by marine bacteria as a significant natural source for atmospheric heavy metals in polar regions. *Chemosphere* 39, 89-102.
- Poulain, A.J., Amyot, M., Findlay, D., Telor, S., Barkay, T., Hintelmann, H., 2004. Biological and Photochemical Production of Dissolved Gaseous Mercury in a Boreal Lake. *The American Society of Limnology and Oceanography*, p. 2265.
- Poulain, A.J., Barkay, T., 2013. Cracking the Mercury Methylation Code. *Science* 339, 1280.
- Pourang, N., Dennis, J.H., Ghourchian, H., 2004. Tissue Distribution and Redistribution of Trace Elements in Shrimp Species with the Emphasis on the Roles of Metallothionein. *Ecotoxicology* 13, 519-533.
- PPO-9607, 1996. Aspectos Ambientales de los Metales y Metaloides en el Sistema Hidrológico del Desaguadero. Ministerio de Desarrollo Sostenible y Medio Ambiente, Secretaría Nacional de Minería, Swedish Geological AB, Oruro, Bolivia, pp. 1-42.
- PPO-9612, 1996. Impacto de la Minería y el Procesamiento de Minerales en los cursos de agua y lagos. Ministerio de Desarrollo Sostenible y Medio Ambiente, Secretaría Nacional de Minería, Swedish Geological AB, Oruro, Bolivia, pp. 1-119.
- Pyhtilä, H., Perämäki, P., Piispanen, J., Niemelä, M., Suoranta, T., Starr, M., Nieminen, T., Kantola, M., Ukonmaanaho, L., 2012. Development and optimization of a method for detecting low mercury

- concentrations in humic-rich natural water samples using a CV-ICP-MS technique. *Microchemical Journal* 103, 165-169.
- Pyle, D.M., Mather, T.A., 2003. The importance of volcanic emissions for the global atmospheric mercury cycle. *Atmos Environ* 37, 5115-5124.
- Qianggong, Z., Ke, P., Shichang, K., Aijia, Z., Wen-Xiong, W., 2014. Mercury in Wild Fish from High-Altitude Aquatic Ecosystems in the Tibetan Plateau. *Environ Sci Technol* 48, 5220-5228.
- Queipo Abad, S., Rodríguez-González, P., García Alonso, J.I., 2016. Evidence of the direct adsorption of mercury in human hair during occupational exposure to mercury vapour. *Journal Of Trace Elements In Medicine And Biology: Organ Of The Society For Minerals And Trace Elements (GMS)* 36, 16-21.
- Quiroga, E.R., 2002. The case of artisanal mining in Bolivia: Local participatory development and mining investment opportunities. *Natural Resources Forum* 26 127-139.
- Qvarnström, J., Qiang, T., Frech, W., Lüdke, C., 2000. Flow injection-liquid chromatography-cold vapour atomic absorption spectrometry for rapid determination of methyl and inorganic mercury. *Analyst*, 1193.
- Rea, A.W., Lindberg, S.E., Scherbatskoy, T., Keeler, G.J., 2002. Mercury Accumulation in Foliage over Time in Two Northern Mixed-Hardwood Forests. *Water, Air, and Soil Pollution* 133, 49-67.
- Reaney, D., 1981. Translocatable resistance to mercuric and phenylmercuric ions in soil bacteria. *J. Bacteriol.*, 1110.
- Regnell, O., Hammar, T., 2004. Coupling of methyl and total mercury in a minerotrophic peat bog in southeastern Sweden. *Canadian Journal of Fisheries & Aquatic Sciences* 61, 2014.
- Reisinger, K., Stoepler, M., Weber, J.H., 1985. Methylation of mercury (II) by fulvic acid. *Environmental Technology Letters* 6, 203.
- Renzoni, A., Zino, F., Franchi, E., 1998. Mercury Levels along the Food Chain and Risk for Exposed Populations. *Environ Res* 77, 68-72.
- Ribeiro Guevara, S., Bubach, D., Arribére, M., 2004. Mercury in lichens of Nahuel Huapi National Park, Patagonia, Argentina. *Journal of Radioanalytical & Nuclear Chemistry* 261, 679-687.
- Ribeiro Guevara, S., Catán, S.P., Marvin-DiPasquale, M., 2009. Benthic methylmercury production in lacustrine ecosystems of Nahuel Huapi National Park, Patagonia, Argentina. *Chemosphere* 77, 471-477.
- Ribeiro Guevara, S., Massafiero, J., Villarosa, G., Arribére, M., Rizzo, A., 2002. Heavy Metal Contamination in Sediments of Lake Nahuel Huapi, Nahuel Huapi National Park, Northern Patagonia, Argentina. *Water, Air, and Soil Pollution* 137, 21-44.
- Ribeiro Guevara, S., Meili, M., Rizzo, A., Daga, R., Arribére, M., 2010. Sediment records of highly variable mercury inputs to mountain lakes in Patagonia during the past millennium. *Atmos. Chem. Phys.* 10, 3443-3453.
- Ribeiro Guevara, S., Queimaliños, C.P., Diéguez, M.d.C., Arribére, M., 2008. Methylmercury production in the water column of an ultraoligotrophic lake of Northern Patagonia, Argentina. *Chemosphere* 72, 578-585.
- Rizzo, A., Arcagni, M., Arribére, M.A., Bubach, D., Guevara, S.R., 2011. Mercury in the biotic compartments of Northwest Patagonia lakes, Argentina. *Chemosphere* 84, 70-79.

- Rizzo, A., Arcagni, M., Campbell, L., Koron, N., Pavlin, M., Arribére, M.A., Horvat, M., Ribeiro Guevara, S., 2014. Source and trophic transfer of mercury in plankton from an ultraoligotrophic lacustrine system (Lake Nahuel Huapi, North Patagonia). *Ecotoxicology* 23, 1184-1194.
- Robinson, J.B., Tuovinen, O.H., 1984. Mechanisms of microbial resistance and detoxification of mercury and organomercury compounds: physiological, biochemical, and genetic analyses. *Microbiological Reviews* 48, 95-124.
- Rodgers, J.S., Hocker, J.R., Hanas, R.J., Nwosu, E.C., Hanas, J.S., 2001. Mercuric ion inhibition of eukaryotic transcription factor binding to DNA1. *Biochemical Pharmacology* 61, 1543-1550.
- Rodríguez-González, P., Bouchet, S., Monperrus, M., Tessier, E., Amouroux, D., 2013. In situ experiments for element species-specific environmental reactivity of tin and mercury compounds using isotopic tracers and multiple linear regression. *Environ Sci Pollut Res Int* 20, 1269-1280.
- Rodríguez-González, P., Monperrus, M., García Alonso, J.I., Amouroux, D., Donard, O.F.X., 2007. Comparison of different numerical approaches for multiple spiking species-specific isotope dilution analysis exemplified by the determination of butyltin species in sediments. *JAAS (Journal of Analytical Atomic Spectrometry)* 22, 1373.
- Rodriguez-Gonzalez, P., Rodriguez-Cea, A., Garcia Alonso, J.I., Sanz-Medel, A., 2005. Species-specific isotope dilution analysis and isotope pattern deconvolution for butyltin compounds metabolism investigations (English). *Analytical chemistry (Washington, DC)* 77, 7724-7734.
- Rodriguez Gonzalez, P., Encinar, J.R., Alonso, J.I.G., Sanz Medel, A., 2004. Development of a triple spike methodology for validation of butyltin compounds speciation analysis by isotope dilution mass spectrometry: Part I. Synthesis of the spike, characterisation and development of the mathematical equations (English). *Journal of analytical atomic spectrometry (Print)* 19, 685-691.
- Rodriguez Martin-Doimeadios, R.C., Stoichev, T., Krupp, E., Amouroux, D., Holeman, M., Donard, O.F.X., 2002. Micro-scale preparation and characterization of isotopically enriched monomethylmercury (English). *Appl Organomet Chem* 16, 610-615.
- Rodriguez Martin-Doimeadios, R.C., Tessier, E., Amouroux, D., Guyoneaud, R., Duran, R., Caumette, P., Donard, O.F.X., 2004. Mercury methylation/demethylation and volatilization pathways in estuarine sediment slurries using species-specific enriched stable isotopes. *Mar Chem* 90, 107-123.
- Rolfhus, K.R., Fitzgerald, W.F., 2004. Mechanisms and temporal variability of dissolved gaseous mercury production in coastal seawater. *Mar Chem* 90, 125-136.
- Rosenkranz, B., Bettmer, J., Buscher, W., Breer, C., Cammann, K., 1997. The behaviour of different organometallic compounds in the presence of inorganic mercury(II) : Transalkylation of mercury species and their analysis by the GC-MIP-PED system (English). *Appl Organomet Chem* 11, 721-725.
- Rötting, T., Amezaga, J., Younger, P., Jimenez, P., Talavera, C., Quintanilla, J., Oyarzún, R., Soto, G., 2009. Catchment Management and Mining Impacts in Arid and Semi-Arid South America (CAMINAR): Case studies in Peru, Bolivia and Chile1.
- Roulet, M., Lucotte, M., 1995. Geochemistry of mercury in pristine and flooded ferralitic soils of a tropical rain forest in French Guiana, South America. *Water, Air & Soil Pollution* 80, 1079.
- Roulet, M., Lucotte, M., Farella, N., Serique, G., Coelho, H., Sousa Passos, C.J., da Silva, E.d.J., de Andrade, P.S., Mergler, D., Guimaraes, J.R.D., Amorim, M., 1999. Effects of recent human colonization on the presence of mercury in Amazonian ecosystems. *Water, Air and Soil Pollution* 112, 297-313.

- Rowley, B., Monestier, M., 2005. Mechanisms of heavy metal-induced autoimmunity. *Molecular Immunology* 42, 833-838.
- Ruiz Encinar, J., Rodriguez Gonzalez, P., García Alonso, J.I., Sanz-Medel, A., 2002. Evaluation of extraction techniques for the determination of butyltin compounds in sediments using isotope dilution-GC/ICPMS with ^{118}Sn and ^{119}Sn -enriched species. *Anal Chem* 74, 270-281.
- Sanchez Uria, J.E., Sanz-Medel, A., 1998. Inorganic and methylmercury speciation in environmental samples (English). *Talanta (Oxford)* 47, 509-524.
- Sanemasa, I., 1975. The solubility of elemental mercury vapor in water. *Bull. Chem. Soc. Jpn.* 48, 1795.
- Schaefer, J.K., Jane, Y., Reinfelder, J.R., Cardona, T., Ellickson, K.M., Tel-Or, S., Barkay, T., 2004. Role of the Bacterial Organomercury Lyase (MerB) in Controlling Methylmercury Accumulation in Mercury-Contaminated Natural Waters. *Environ Sci Technol* 38, 4304-4311.
- Schaefer, J.K., Letowski, J., Barkay, T., 2002. mer-Mediated Resistance and Volatilization of Hg(II) Under Anaerobic Conditions. *Geomicrobiology Journal* 19, 87-102.
- Schäfer, J., Castelle, S., Blanc, G., Dabrin, A., Masson, M., Lancelleur, L., Bossy, C., 2010. Mercury methylation in the sediments of a macrotidal estuary (Gironde Estuary, south-west France). *Estuarine, Coastal and Shelf Science* 90, 80-92.
- Schlüter, K., 2000. Review: evaporation of mercury from soils. An integration and synthesis of current knowledge. *Environ Geol* 39, 249-271.
- Schmeltz, D., Evers, D.C., Driscoll, C.T., Artz, R., Cohen, M., Gay, D., Haeuber, R., Krabbenhoft, D.P., Mason, R., Morris, K., Wiener, J.G., 2011. MercNet: a national monitoring network to assess responses to changing mercury emissions in the United States. *Ecotoxicology* 20, 1713-1725.
- Schroeder, W.H., 1982. Sampling and Analysis of Mercury and its Compounds in the Atmosphere. *Env. Sci. Technol.* 16 394.
- Schroeder, W.H., Munthe, J., 1998. Atmospheric mercury: an overview. *Atmos. Environ.* 32, 809.
- Schuster, E., 1991. The behavior of the mercury in the soil with special emphasis on complexation and adsorption processes; a review of the literature. *Water, Air and Soil Pollution* 56, 667-680.
- Schuster, P.F., Krabbenhoft, D.F., Naftz, D.L., Cecil, L.D., Olson, M.L., 2002. Atmospheric mercury deposition during the last 270 years: a glacial ice core record of natural and anthropogenic sources. *Environ. Sci. Technol.* 36, 2303.
- Selin, N.E., 2009. Global Biogeochemical Cycling of Mercury: A Review. *Annual Review of Environment & Resources* 34, 43-63.
- Selin, N.E., Jacob, D.J., Yantosca, R.M., Strode, S., Jaeglé, L., Sunderland, E.M., 2008. Global 3-D land-ocean-atmosphere model for mercury: present-day versus preindustrial cycles and anthropogenic enrichment factors for deposition. *Glob. Biogeochem. Cycles* 22, GB2011.
- Sellers, P., Kelly, C.A., Rudd, J.W.M., MacHutchon, A.R., 1996. Photodegradation of methylmercury in lakes. *Nature [London]* 380, 694-697.
- Senesil, G.S., Baldassarre, G., Senesi, N., Radina, B., 1999. Trace element inputs into soils by anthropogenic activities and implications for human health. *Chemosphere* 39, 343-377.

- Sharif, A., Monperrus, M., Tessier, E., Amouroux, D., 2013. Determination of methyl mercury and inorganic mercury in natural waters at the pgL-1 level: Intercomparison between PT-GC-Pyr-AFS and GC-ICP-MS using Ethylation or Propylation derivatization. E3S Web of Conferences. EDP Sciences.
- Sharif, A., Monperrus, M., Tessier, E., Bouchet, S., Pinaly, H., Rodriguez-Gonzalez, P., Maron, P., Amouroux, D., 2014. Fate of mercury species in the coastal plume of the Adour River estuary (Bay of Biscay, SW France). *Sci Total Environ* 496, 701-713.
- Shi, J., Feng, W., Wang, M., Zhang, F., Li, B., Wang, B., Zhu, M., Chai, Z., 2007. Investigation of mercury-containing proteins by enriched stable isotopic tracer and size-exclusion chromatography hyphenated to inductively coupled plasma-isotope dilution mass spectrometry. *Anal Chim Acta* 583, 84-91.
- Siciliano, S.D., O'Driscoll, N.J., Lean, D.R.S., 2002. Microbial reduction and oxidation of mercury in freshwater lakes (English). *Environ Sci Technol* 36, 3064-3068.
- Sillitoe, H.R., Steele, B.G., Thompson, H.J.F., Lang, R.J., 1998. Advanced argillic lithocaps in the Bolivian tin-silver belt. *Mineralium Deposita* 33, 539-546.
- Skogerboe, R.K., Wilson, S.A., 1981. Reduction of ionic species by fulvic acid. *Anal Chem* 53 228-232.
- Skyllberg, U., 2012. Chemical speciation of mercury in soil and sediment. In: Liu, G., Cai, Y., O'Driscoll, N. (Eds.). *Environmental chemistry and toxicology of mercury*. John Wiley & Sons, Inc., Hoboken, New Jersey, 219-258.
- Slemr, F., Schuster, G., Seiler, W., 1985. Distribution, speciation, and budget of atmospheric mercury. *J Atmos Chem* 3, 407-434.
- Sloof, W., van, P.B., Annema, J.A., Janus, J.A., 1995. Integrated criteria document mercury.
- Spangler, W.J., Spigarelli, J.L., Rose, J.M., Flippin, R.S., Miller, H.H., 1973. Degradation of methylmercury by bacteria isolated from environmental samples. *Applied Microbiology* 25, 488-493.
- Sprovieri, F., Pirrone, N., 2005. *Mercury pollution in the Arctic and Antarctic regions*. Springer Science and Business Media : New York, NY, United States, United States, pp. 679-706.
- Stahl, D., 1999. Unexpected population distribution in a microbial mat community: Sulfate-reducing bacteria localized to the highly oxic chemocline in contrast to a eukaryotic preference for anoxia. *Appl Environ Microb*.
- Stein, E.D., Cohen, Y., Winer, A.M., 1996. Environmental distribution and transformation of mercury compounds. *Critical Reviews in Environmental Science & Technology* 26, 1.
- Sun, R., Sonke, J.E., Liu, G., 2016. Biogeochemical controls on mercury stable isotope compositions of world coal deposits: A review. *Earth-Science Reviews* 152, 1-13.
- Sunderland, E.M., Cohen, M.D., Selin, N.E., Chmura, G.L., 2008. Reconciling models and measurements to assess trends in atmospheric mercury deposition. *Environ Pollut* 156, 526-535.
- Sunderland, E.M., Gobas, F.A.P.C., Branfireun, B.A., Heyes, A., 2006. Environmental controls on the speciation and distribution of mercury in coastal sediments. *Mar Chem* 102, 111-123.
- Sunderland, E.M., Krabbenhoft, D.P., Moreau, J.W., Strode, S.A., Landing, W.M., 2009. Mercury sources, distribution, and bioavailability in the North Pacific Ocean: Insights from data and models. *Global Biogeochem Cy* 23, n/a-n/a.

- Sunderland, E.M., Mason, R.P., 2007. Human impacts on open ocean mercury concentrations. *Global Biogeochem Cy* 21.
- Tahan, J.E., Granadillo, V.A., Sanchez, J.M., Cubillan, H.S., Romero, R.A., 1993. Mineralization of biological materials prior to determination of total mercury by cold vapour atomic absorption spectrometry (English). *Journal of analytical atomic spectrometry (Print)* 8, 1005-1010.
- Tang, R., Wang, H., Luo, J., Sun, S., Gong, Y., She, J., Chen, Y., Dandan, Y., Zhou, J., 2015. Spatial distribution and temporal trends of mercury and arsenic in remote timberline coniferous forests, eastern of the Tibet Plateau, China. *Environmental Science And Pollution Research International* 22, 11658-11668.
- Tapia, J., Audry, S., 2013. Control of early diagenesis processes on trace metal (Cu, Zn, Cd, Pb and U) and metalloid (As, Sb) behaviors in mining- and smelting-impacted lacustrine environments of the Bolivian Altiplano. *Appl Geochem* 31, 60-78.
- Tapia, J., Audry, S., Townley, B., Duprey, J.L., 2012. Geochemical background, baseline and origin of contaminants from sediments in the mining-impacted Altiplano and Eastern Cordillera of Oruro, Bolivia. *Geochemistry - Exploration, Environment, Analysis* 12, 3-20.
- Teisinger, J., Fiserova-Bergerova, V., 1965. PULMONARY RETENTION AND EXCRETION OF MERCURY VAPORS IN MAN. *Industrial Medicine & Surgery* 34, 580-584.
- Thompson, L.G., Mosley-Thompson, E., Bolzan, J.F., Koci, B.R., 1985. A 1500-Year Record of Tropical Precipitation in Ice Cores from the Quelccaya Ice Cap, Peru. *Science* 229, 971-973.
- Tian, W., Egeland, G.M., Sobol, I., Chan, H.M., 2011. Mercury hair concentrations and dietary exposure among Inuit preschool children in Nunavut, Canada. *Environment International* 37, 42-48.
- Tseng, C.M., Lamborg, C., Fitzgerald, W.F., Engstrom, D.R., 2004. Cycling of dissolved elemental mercury in Arctic Alaskan lakes. *Geochim Cosmochim Acta* 68, 1173-1184.
- Tunell, G., 1978 Abundance in igneous rocks and average abundances in Earth's crust *Handbook of Geochemistry*, pp. E1-3.
- Turekian, K.K., Wedepohl, K.H., 1961. Distribution of the elements in some major units of the Earth's crust. *Geological Society of America Bulletin* 72, 175-191.
- Turneure, F.S., 1960. A comparative study of major ore deposits of central Bolivia. *Economic Geology and the Bulletin of the Society of Economic Geologists* 55, 217-254.
- Ullrich, S.M., Tanton, T.W., Abdrashitova, S.A., 2001. Mercury in the aquatic environment; a review of factors affecting methylation. *Critical Reviews in Environmental Science and Technology* 31, 241-293.
- UNEP, 1996. Diagnóstico Ambiental del Sistema Titicaca-Desaguadero-Poopó-Salar de Coipasa (Sistema TDPS) Bolivia-Perú. División de Aguas Continentales Programa de las Naciones Unidas para el Medio Ambiente
- UNEP, 2002. Global Mercury Assessment.
- UNEP, 2013a. Global Mercury Assessment 2013: Sources, Emissions, Releases and Environmental Transport. UNEP Chemicals Branch, Geneva, Switzerland.
- UNEP, 2013b. Minamata Convention on Mercury. pp. 1-59.
- Urano, T., Iwasaki, A., Himeno, S., 1990 Absorption of methylmercury compounds from rat intestine *Toxicol Lett* 50 159-164.

- USEPA, 1997. Mercury Report to Congress Office of Air Quality and Standards Environmental Protection Agency, Washington, DC, US.
- USEPA, 2001. Water Quality Criterion for the Protection of Human Health: Methyl Mercury. Environmental Protection Agency Washington, DC, US.
- USEPA, Method 1631. Mercury in Water by Oxidation, Purge and Trap, and Cold Vapor Atomic Fluorescence Spectrometry. Washington, DC.
- USEPA, Method 7471B. Mercury in solid or semisolid waste (Manual cold-vapor technique). EPA.
- USGS and GEOBOL, U.S.G.S.a.S.G.d.B., 1992. Geology and Mineral Resources of the Altiplano and Cordillera Occidental, Bolivia. USGS Bulletin: 1975, 365.
- Varekamp, J.C., Buseck, P.R., 1984. The speciation of mercury in hydrothermal systems, with applications to ore deposition. *Geochim Cosmochim Acta* 48, 177-185.
- Varekamp, J.C., Buseck, P.R., 1986. Global mercury flux from volcanic and geothermal sources. *Appl. Geochem.* 1, 65.
- Vaughan, P.P., Blough, N.V., 1998. Photochemical formation of hydroxyl radical by constituents of natural waters. *Environmental Science and Technology*, 2947.
- Veiga, M.M., Baker, R.F., 2005. Protocols for Environmental and Health Assessment of Mercury Released by Artisanal and Small-Scale Gold Miners. Global Mercury Project UNIDO, Vienna International Center, Vienna, Austria.
- Villafañe, V.E., Helbling, E.W., 2003. Radiación ultravioleta solar en el lago Titicaca, Bolivia: Efectos y adaptación de los organismos planctónicos La radiación ultravioleta en Bolivia, La Paz, Bolivia, pp. 85-98.
- Wagemann, R., Innes, S., Richard, P.R., 1996. Overview and regional and temporal differences of heavy metals in Arctic whales and ringed seals in the Canadian Arctic (English) International Conference on Marine Mammals and the Marine Environment (English). Elsevier Science, Shannon, pp. 41-66.
- Wang, C., Ci, Z., Wang, Z., Zhang, X., Guo, J., 2016. Speciated atmospheric mercury in the marine boundary layer of the Bohai Sea and Yellow Sea. *Atmos Environ* 131, 360-370.
- Wang, S., Zhang, M., Li, B., Xing, D., Wang, X., Wei, C., Jia, Y., 2012. Comparison of mercury speciation and distribution in the water column and sediments between the algal type zone and the macrophytic type zone in a hypereutrophic lake (Dianchi Lake) in Southwestern China. *Sci Total Environ* 417-418, 204-213.
- Wang, Z., Zhang, X., Xiao, J., Zhijia, C., Yu, P., 2009. Mercury fluxes and pools in three subtropical forested catchments, southwest China. *Environ Pollut* 157, 801-808.
- Warner, K.A., Roden, E.E., Bonzongo, J.-C., 2003. Microbial mercury transformation in anoxic freshwater sediments under iron-reducing and other electron-accepting conditions (English). *Environ Sci Technol* 37, 2159-2165.
- Watras, C.J., Back, R.C., Halvorsen, S., Hudson, R.J.M., Morrison, K.A., Wentz, S.P., 1998. Bioaccumulation of mercury in pelagic freshwater food webs (English). *Sci Total Environ* 219, 183-208.
- Weber, J.H., 1993. Review of possible paths for abiotic methylation of mercury(II) in the aquatic environment (English). *Chemosphere (Oxford)* 26, 2063-2077.

- Weber, J.H., Evans, R., Jones, S.H., Hines, M.E., 1998. Conversion of mercury(II) into mercury(0), monomethylmercury cation, and dimethylmercury in saltmarsh sediment slurries (English). *Chemosphere (Oxford)* 36, 1669-1687.
- Webster, J.G., Swedlund, P.J., Webster, K.S., 1998. Trace metal adsorption onto an acid mine drainage iron (III) oxy hydroxy sulfate. *Environ Sci Technol* 32, 1361-1368.
- Weihe, P., 1994. Human milk as a source of methylmercury exposure in infants. *Environ Health Persp*, 74.
- Whalin, L., Kim, E.-H., Mason, R., 2007. Factors influencing the oxidation, reduction, methylation and demethylation of mercury species in coastal waters. *Mar Chem* 107, 278-294.
- Whalin, L.M., Mason, R.P., 2006. A new method for the investigation of mercury redox chemistry in natural waters utilizing deflatable Teflon® bags and additions of isotopically labeled mercury. *Anal Chim Acta* 558, 211-221.
- WHO, 1990. Environmental Health Criteria 101. International Programme on Chemical Safety: Methylmercury.
- WHO, 2008. Guidance for identifying populations at risk from mercury exposure. Geneva, Switzerland.
- Wiatrowski, H.A., Ward, P.M., Barkay, T., 2006. Novel reduction of mercury(II) by mercury-sensitive dissimilatory metal reducing bacteria (English). *Environ Sci Technol* 40, 6690-6696.
- Wilhelm, S.M., 2001. Estimate of Mercury Emissions to the Atmosphere from Petroleum. *Environ Sci Technol* 35, 4704.
- Winch, S., Mills, H.J., Kostka, J.E., Fortin, D., Lean, D.R.S., 2009. Identification of sulfate-reducing bacteria in methylmercury-contaminated mine tailings by analysis of SSU rRNA genes. *Fems Microbiol Ecol* 68, 94-107.
- Winch, S., Praharaj, T., Fortin, D., Lean, D.R.S., 2008. Factors affecting methylmercury distribution in surficial, acidic, base-metal mine tailings (English). *Sci Total Environ* 392, 242-251.
- Windmöller, C.C., JúniorDurão, W.A., de Oliveira, A., do Valle, C.M., 2015. The redox processes in Hg-contaminated soils from Descoberto (Minas Gerais, Brazil): Implications for the mercury cycle. *Ecotoxicology & Environmental Safety* 112, 201-211.
- Wood, J.M., Kennedy, F.S., Rosen, C.G., 1968. Synthesis of Methyl-mercury Compounds by Extracts of a Methanogenic Bacterium. *Nature* 220, 173-174.
- Wright, N., Yeoman, W.B., Carter, G.F., 1980. Originally published as Volume 1, Issue 8161 MASSIVE ORAL INGESTION OF ELEMENTAL MERCURY WITHOUT POISONING. *The Lancet* 315, 206.
- Wu, L., Zheng, C., Ma, Q., Hu, C., Hou, X., 2007. Chemical Vapor Generation for Determination of Mercury by Inductively Coupled Plasma Mass Spectrometry. *Applied Spectroscopy Reviews* 42, 79.
- Xiao, Z., Munthe, J., Strömberg, D., Lindqvist, O., 1994 In: Inc., L.P. (Ed.). *Mercury as a Global Pollutant* Wartas and Huckabee(Fxls), MI, USA.
- Xiao, Z.F., Munthe, J., Schroeder, W.H., Lindqvist, O., 1991. Vertical fluxes of volatile mercury over forest soil and lake surfaces in Sweden. *Tellus* 43, 267.

- Xie, H., Li, J., Zhang, C., Tian, Z., Liu, X., Tang, C., Han, Y., Liu, W., 2014. Assessment of heavy metal contents in surface soil in the Lhasa-Shigatse-Nam Co area of the Tibetan Plateau, China. *Bulletin Of Environmental Contamination And Toxicology* 93, 192-198.
- Yee, N., Barkay, T., Parikh, M., Lin, C.-C., Wiatrowski, H., Das, S., 2010. Biotic/abiotic pathways of Hg(II) reduction by dissimilatory iron reducing bacteria. *Abstracts with Programs - Geological Society of America* 42, 178-178.
- Yole, M., Wickstrom, M., Blakley, B., 2007. Cell death and cytotoxic effects in YAC-1 lymphoma cells following exposure to various forms of mercury. *Toxicology* 231, 40-57.
- Yorifuji, T., Tsuda, T., Inoue, S., Takao, S., Harada, M., 2011. Long-term exposure to methylmercury and psychiatric symptoms in residents of Minamata, Japan. *Environment International* 37, 907-913.
- Yu, Z., Li, J., Li, Y., Wang, Q., Zhai, X., Wu, G., Liu, P., Li, X., 2014. A mer operon confers mercury reduction in a *Staphylococcus epidermidis* strain isolated from Lanzhou reach of the Yellow River. *International Biodeterioration & Biodegradation* 90, 57-63.
- Yudovich, Y.E., Ketris, M.P., 2005. Mercury in coal: a review. Part 2. Coal use and environmental problems (English). *International journal of coal geology* 62, 135-165.
- Zaratti, F., Forno, R.N., Garcia Fuentes, J., Andrade, M.F., 2003. Erythemally weighted UV variations at two high-altitude locations. *Journal of Geophysical Research* 108, ACH5-ACH1-6.
- Zhang, H., Lindberg, S.E., 2001. Sunlight and iron(III)-induced photochemical production of dissolved gaseous mercury in freshwater. *Environ Sci Technol* 35, 928-935.
- Zhang, Q., Pan, K., Kang, S., Zhu, A., Wang, W.-X., 2014. Mercury in wild fish from high-altitude aquatic ecosystems in the Tibetan Plateau. *Environ Sci Technol* 48, 5220-5228.
- Zhang, Y.-R., Tong, X.U.E., Wang, R.-Q., Dai, J.-L., 2013. FTIR Spectroscopic Structural Characterization of Forest Topsoil Humic Substances and Their Adsorption and Desorption for Mercury (English). *Soil science* 178, 436-441.
- Zheng, W., 2009. Biogeochemical cycle of mercury in typical basins, Tibet. Institute of Tibetan Plateau Research Chinese Academy of Science, Beijing, China.
- Zheng, W., Liang, L., Gu, B., 2012. Mercury Reduction and Oxidation by Reduced Natural Organic Matter in Anoxic Environments. *Environ Sci Technol* 46, 292-299.

Anexos

Información suplementaria 1 : Capítulo II

Información suplementaria 1: Capítulo II

Synergistic effects of mining and urban effluents on the level and distribution of methylHg in a shallow aquatic ecosystem of the Bolivian Altiplano

Authors: L. Alanoca, S. Guédron, D. Amouroux, S. Audry, M. Monperus, E. Tessier, S. Goix, D. Acha, P. Seyler and D. Point.

Supplementary information 1 (SI. 1):

Sampling and analytical protocols (QA/QC)

Sample processing, analytical protocols and quality assurance and quality control (QA/QC)

Table SI.1. Mean concentrations and standard deviation (SD) for the analyzed certified reference material PACS-2 with recoveries (%) related to the certified values (National Research Council of Canada).

Details for diffusive Hg fluxes calculation

Supplementary information 2 (S.I. 2):

SI.2 Table 1. Mean concentrations \pm standard deviation (SD), data range concentrations presented as minimum (min.) and maximum (max.) concentrations, n = number of samples analyzed for physico-chemical analysis of surface water of Lake UruUru, collected in the late dry season (October 2010) and wet season (may 2011).

SI.2 Table 2. Mean concentrations \pm standard deviation (SD), data range concentrations presented as minimum (min.) and maximum (max.) concentrations, n = number of samples analyzed for Hg speciation (F and UNF refer to filtered and unfiltered analysis for total Hg (THg) and monomethylHg (MMHg); DMHg and DGM refer to dimethylHg and dissolved gaseous Hg, respectively) analysis of surface water of Lake UruUru, collected in the late dry season (October 2010) and wet season (may 2011).

SI.2 Table 3. Mean concentrations \pm standard deviation (SD), data range concentrations presented as minimum (min.) and maximum (max.) concentrations, n = number of samples analyzed for chemical analysis of surface sediments (0 – 2 cm) of Lake Uru-Uru, collected in the late dry season (October 2010) and wet season (may 2011).

Supplementary information 3 (SI. 3)

SI.3 Table 1. Physico-chemical characteristics and filtered major elemental concentrations measured in surface water of Lake Uru-Uru, collected during the late dry (D) and wet (W) season (October 2010 and May 2011, respectively).

SI.3 Table 2. A and B. Filtered trace elemental concentrations ($\mu\text{g L}^{-1}$) measured in surface water of Lake Uru-Uru, collected during the late dry (D – TableSI.3.2.A) and wet (W– TableSI.3.2.B) season (October 2010 and May 2011, respectively).

SI.3 Table 2. C. Filtered Hg species (F and UNF refer to filtered and unfiltered analysis for total Hg (THg) and monomethylHg (MMHg); DMHg and DGM refer to dimethylHg and dissolved gaseous Hg, respectively) concentrations measured in surface water of Lake Uru-Uru, collected during the late dry (D) and wet (W) season (October 2010 and May 2011, respectively).

SI.3 Table 2. D. Hg species (total Hg (THg), inorganic Hg (iHg), monomethyl Hg (MMHg)), Total and organic carbon (TC and OC, respectively) and total sulfur (S) concentrations measured in surface sediment (0 - 2cm) of Lake Uru-Uru, collected during the late dry (D) and wet (W) season (October 2010 and May 2011, respectively).

SI.3 Table 2. E. Filtered Hg species (total Hg (THg), inorganic Hg (iHg), monomethylHg (MMHg)) concentrations measured in surface sediment pore waters (0 – 2 cm) of Lake Uru-Uru, collected during the late dry (D) and wet (W) season (October 2010 and May 2011, respectively).

SI.3 Table 2. F 1 and 2. Major and trace metal concentrations measured in surface sediment (0 – 2 cm) of Lake Uru-Uru, collected during the late dry (D - Table SI.3.2F1) and wet (W – Table SI.3.2F2) season.

Supplementary information 4 (SI. 4)

Linear Regressions for surface sediment concentrations of THg versus W and, Sb.

Supplementary information 1 (S.I. 1)

Sampling and Analytical protocols

Water sample processing

To determine the content of dissolved and total Hg species, 100 mL of filtered and unfiltered samples were stored in Teflon PFA flasks (Nalgene, USA) and acidified with HCl Ultrex (Baker) to 1% v/v. Some of the filtered samples were acidified with HNO₃ Ultrex (Baker) to 1% v/v in order to analyze heavy metals/cations, and others were treated with H₃PO₄ bi-distilled to 2% v/v to determine dissolved organic carbon (DOC) content. All samples were stored at 4°C for transportation and further analysis in the laboratory. A final set of the filtered samples was frozen for the analysis of anions.

To ensure that the samples were not contaminated, the materials used in the sampling and the conservation flasks were subjected to prior cleaning treatment. The PFA Teflon, Polypropylene and Pyrex glass flasks and PVDF filters were cleaned using successive acid baths and dried under a laminar flow hood, while the gold traps were burned at 600°C. Each of the clean materials was kept in three hermetically sealed ziplock bags until they were used in the field.

Gaseous species were collected *in situ* from bulk water samples immediately purged (generally within ~0.5 h after sampling) and collected on a gold-coated sand (Brooks Rand®) and activated Charcoal (Carbotrap®) traps, respectively.

Analytical protocols

Hg species analysis in water, sediment and biological substrates were performed by capillary gas chromatography connected to an inductively coupled plasma mass spectrometer (GC-ICPMS, Trace). Analytical set-up and methodology for the GC-ICPMS for Hg speciation analysis are described in detail in (Monperrus et al., 2005b, 2008). The MMHg extraction from sediments was achieved with a focused microwave method (4 minutes, 80W, CEM) from 200 mg of sediment in 7 mL of a 6 N HNO₃ (HNO₃, 65 %, Fluka) and remaining particles were removed by centrifugation. The extracts were analyzed by species-specific isotope dilution and GC-ICPMS (Trace GC, ThermoFisher) hyphenated to inductively coupled plasma mass spectrometer (ICPMS, X Serie 2, ThermoFisher) to correct for species inter-conversion if necessary. Briefly, the extracts were buffered at pH 4 and isotopic enriched Hg species ¹⁹⁹IHg and ²⁰¹MMHg were then added. Species were then ethylated with sodium tetraethyl borate and recovered in iso-octane. Each sample was injected three times and blanks were checked to control for contamination. The measurement error was less than 10 % and the accuracy of the MMHg measurements was checked by analyzing the certified reference materials (CRM) IAEA-405 and IAEA - 433. Recoveries of MMHg to the CRMs

were found to be 92 %, n = 12 for each reference material and the precision error was lower than 5 %. Recoveries of speciation analysis (i.e., iHg + MMHg) measured by GC-ICPMS has been previously verified in lacustrine sediments (Garcia Bravo et al., 2011) versus analysis of THg measured by AMA-254 (total Hg analyzer) had a mean value of 94% (n = 39). Thus a quantitative evaluation of the total Hg concentration in sediments was obtained by addition of both species concentration (i.e., iHg + MMHg).

For water samples, Total Hg was calculated as $(\text{HgT} = \text{DGm} + \text{Hg(II)}_{\text{UNF}} + \text{MMHg}_{\text{UNF}})$ assuming that other species were negligible. Simultaneous speciation analyses of MMHg and Hg(II) ID-GC-ICPMS as previously described (Monperrus et al., 2005b, 2008). Briefly, an aliquot of 100 mL of water was accurately weighted before analysis in a head space glass flask, spiked with known amounts and concentrations of isotopically enriched standards (MM^{201}Hg and ^{199}Hg (II)). The solution was adjusted to pH 4 by adding 5 mL of sodium acetate-acetic acid 0.1 M buffer solution and about 1 mL of concentrated ammonium hydroxide; then 250 μL of iso-octane and 300 μL (1 %) of sodium tetra-propyl borate solution (1 % w/v) were added for species derivatization and extraction. The vials were capped and shaken for 5 min; then the iso-octane was recovered and analyzed in triplicate by GC-ICPMS. The method has been shown to provide good recoveries of HgT from spiked or natural waters (Monperrus et al., 2005b, 2008) and reference coastal waters certified for total Hg (IRMM BCR-579, ca. 2 ng/L HgT) (Sharif et al., 2013).

The analysis of the gaseous Hg species (i.e. Hg^0 and DMHg) was carried out by thermal desorption of the traps (gold traps and carbotraps, respectively) cryogenic trapping GC connected to ICPMS (CT-GC-ICPMS) according to Bouchet et al. (2011, 2013).

Sediment digestion: analytical protocols and Quality assurance and quality control (QA/QC)

Solid samples (sediment and suspended solids) were freeze-dried and crushed to obtain a size smaller than 63 μm for elemental analysis. Total particulate organic carbon ([TOC]) concentrations were determined from the dry combustion of solid powder sample aliquots using a C/S Horiba JobinYvon Ema-320 v auto-analyzer.

Sediment digestion was performed using ~ 200 mg of freeze-dried sediment digested in a mixture of HCl (2 mL, Ultrex grade - Baker), HNO_3 (9 mL, Ultrex grade - Baker) and HF (3 mL, Ultrex grade - Baker) in a microwave system (CEM Mars System 5 model). Digestion solutions were then diluted and subsequently measured by ICP-MS (model 7500ce, Agilent Technologies) to assess the total amount of metals (Al, Ca, Mg, Fe, Cr, Cd, As, Cu, Mn, Ni, Pb, Se, and Zn) in each sediment samples. Accuracy was checked using a certified reference material, namely PACS-2 (National Research Council of Canada) for QA/QC (give replicates (N) and values are given in table SI.1.1).

Element	Certified reference values for CRM PACS-2		Analyzed PACS-2			
	mean concentration (mg kg ⁻¹)	SD (mg kg ⁻¹)	mean concentration (mg kg ⁻¹)	SD (mg kg ⁻¹)	N	Recovery (%)
Be	1.00	0.20	1.03	0.10	4	103
Na	34 500	1 700	33 925	2 023	4	98
Mg	14 700	1 300	14 111	3 300	4	96
Al	66 200	3 200	65 361	14 559	4	99
P	960	40	1 000	65	4	104
K	12 400	500	11 509	2 543	4	93
Ti	4 430	320	4 424	263	4	100
V	133	5	132	9	4	99
Cr	90.7	4.6	88	5	4	98
Mn	440	19	443	30	4	101
Fe	40 900	600	39 561	3 624	4	97
Co	11.5	0.3	11.4	0.8	4	99
Ni	39.5	2.3	39.6	2.5	4	100
Cu	310	12	309	16	4	100
Zn	364	23	380	28	4	104
As	26.2	1.5	25.9	1.3	4	99
Se	0.92	0.22	0.87	0.80	4	95
Sr	276	30	279	42	4	101
Mo	5.43	0.28	5.40	0.33	4	99
Ag	1.22	0.14	1.53	0.48	4	126
Cd	2.11	0.15	2.13	0.08	4	101
Sn	19.8	2.5	19.5	0.3	4	99
Sb	11.3	2.6	11.5	0.7	4	102
Pb	183	8	180	15	4	98
U	3		2.5	0.4	4	83

SI.1 Table 1. Mean concentrations and standard deviation (SD) for the analyzed certified reference material PACS-2 with recoveries (%) related to the certified values (National Research Council of Canada).

Hg species analysis in sediments were also performed by GC-ICPMS and are described elsewhere (Monperrus et al., 2008). Quantification of Hg species was carried out using species specific isotope dilution and by applying isotope pattern deconvolution for data treatment.

Total particulate Hg concentrations ([THg]P) was obtained by summing both MMHg and iHg. Concentrations obtained for repeated analyses of CRMs never exceeded the published range of concentrations (IAEA 405:818 ± 17 ng g⁻¹ and 5.29 ± 0.24 ng g⁻¹ for THg and MMHg, respectively). The detection limits, were 0.20 and 0.01 ng g⁻¹, for THg and MMHg, respectively.

Diffusive Hg fluxes calculation

Diffusive fluxes (J_{sed}) calculations are performed using the Fick's first law:

$$J_{sed} = -\phi D_{sed}(\partial C/\partial z),$$

where D_{sed} is the diffusion coefficient corrected for temperature and tortuosity, ϕ is porosity (= 71 and 93 % for the Northern and Southern part of the Lake, respectively (Tapia and Audry, 2013) assuming an average sediment density of 2.65 g cm^{-3} and measured water content, and $\partial C/\partial z$ is the linear concentration gradient across the water–sediment interface. Values for D_{sed} ($D_{sed} = D_0/\theta^2$ expressed in $\text{cm}^2 \text{ s}^{-1}$) were calculated on the basis of a dimensionless tortuosity (θ^2) and the diffusion coefficient in free solutions (D_0) being equal to $1.2 \cdot 10^{-5}$ and $6 \cdot 10^{-6}$ for Hg and MeHg, respectively (Guédron et al., 2012).

The linear concentration gradient across the water–sediment interface ($\partial C/\partial z$) was calculated from the difference between PW and SW, based on the hypothesis that this shallow water column is well homogenized. Finally, positive J_{sed} indicate an upward-directed flux (efflux from the sediment into the overlying water column and negative J_{sed} indicate a downward-directed flux (influx from the water column into the sediment).

Supplementary information 2 (SI.2) - Tables 1 to 3

SI.2 Table1. Mean concentrations \pm standard deviation (SD), data range concentrations presented as minimum (min.) and maximum (max.) concentrations, n = number of samples analyzed for physico-chemical analysis of surface water of Lake Uru-Uru, collected in the late dry season (October 2010) and wet season (may 2011).

Parameters	Dry season			Wet season			Entire year
	North Lake (7.0-12.5) Km	South Lake (13.4-16.4) Km	Uru-Uru Lake (7.0-16.4) Km	North Lake (7.0-9.9) Km	South Lake (14.3-16.4) Km	Uru-Uru Lake (7.0-16.4) Km	Uru-Uru Lake (7.0-16.4) Km
Temp. [°C]: Mean \pm SD	16.7 \pm 1.4	17.3 \pm 1.2	17.1\pm 1.3	14.9 \pm 1.1	15.2 \pm 0.5	15.0\pm0.8	16.1\pm1.5
Range: min-max	15.3-18.2	15.2-18.2	15.2-18.2	14.2-16.2	14.8-15.9	14.2-16.2	14.2-18.2
n	3	5	8	3	4	7	15
pH Mean \pm SD	7.9 \pm 0.4	8.1 \pm 0.6	8.0\pm 0.5	8.5 \pm 1.1	8.4 \pm 0.3	8.4\pm0.6	8.2\pm0.6
Range: min-max	7.6-8.5	7.6-8.9	7.6-8.9	7.4-9.5	8.1-8.7	7.4-9.5	7.4-9.5
n	4	4	8	3	4	7	15
Cond. [mS cm ⁻¹] Mean \pm SD	5.9 \pm 1.8	5.1 \pm 1.0	5.5\pm 1.5	4.9 \pm 3.5	2.6 \pm 0.5	3.6\pm2.4	4.6\pm2.1
Range: min - max	5.1-8.5	4.4-6.6	4.4-8.5	2.7-9.0	2.0-3.2	2.0-9.0	2.0-9.0
n	4	4	8	3	4	7	15
O₂ [mg L ⁻¹] Mean \pm SD	9.0 \pm 3.0	10.7 \pm 3.6	9.9\pm3.3	7.4 \pm 4.3	6.2 \pm 1.3	6.8\pm2.7	8.5\pm3.3
Range: min-max	5.8-12.3	5.8-15.0	5.8-15.0	3.0-11.5	5.3-8.1	3.0-11.5	3.0-15.0
n	4	5	9	3	4	7	16
DOC [mg L ⁻¹] Mean \pm SD	17.1 \pm 3.9	14.1 \pm 0.7	15.4\pm2.9	17.03 \pm 4.3	19.8 \pm 3.0	18.4\pm3.7	16.6\pm3.4
Range: min-max	13.9-22.6	12.9-14.5	12.9-22.6	14.1-22.0	16.4-22.0	14.1-22.0	12.9-22.6
n	4	5	9	3	4	7	16
SO₄²⁻ [g L ⁻¹] Mean \pm SD	8.6 \pm 2.8	6.1 \pm 0.6	7.4\pm2.3	5.0 \pm 4.4	2.3 \pm 0.7	3.4\pm3.0	5.5\pm3.2
Range: min-max	6.4-12.7	5.7-9.1	5.7-12.7	2.3-10.1	1.6-3.3	1.6-10.1	1.6-12.7
n	4	4	8	3	4	7	15
Ca²⁺ [mg L ⁻¹] Mean \pm SD	193.7 \pm 45.8	148.3 \pm 4.4	171.3\pm38.8	140.4 \pm 96.2	95.0 \pm 11.5	114.5\pm61.2	144.8\pm56.7
Range: min-max	156.2-259.0	140.2-219.0	140.2-259.0	64.1-248.4	87.0-111.9	64.1-248.4	64.1-259.0
n	4	4	8	3	4	7	15
K⁺ [mg L ⁻¹] Mean \pm SD	49.0 \pm 14.8	37.1 \pm 1.4	43.0\pm11.7	31.4 \pm 21.7	15.2 \pm 3.8	22.1\pm15.5	33.3\pm17.0
Range: min-max	36.5-70.2	34.3-57.5	34.3-70.2	17.7-56.4	11.5-20.1	11.5-56.4	11.5-70.2
n	4	4	8	3	4	7	15
Li⁺ [mg L ⁻¹] Mean \pm SD	1.6 \pm 0.6	1.1 \pm 0.1	1.4\pm0.5	1.5 \pm 1.2	0.4 \pm 0.2	0.8\pm0.8	1.1\pm0.7
Range: min-max	1.1-2.6	1.0-1.6	1.0-2.6	0.6-2.4	0.2-0.6	0.2-2.4	0.2-2.6
n	4	4	8	2	4	6	14
Mg²⁺ [mg L ⁻¹] Mean \pm SD	106.2 \pm 30.6	78.4 \pm 2.5	92.3\pm25.1	55.1 \pm 35.1	28.6 \pm 7.9	40.0\pm25.4	67.9\pm36.3
Range: min-max	82.9-150.3	74.5-116.6	74.5-150.3	31.3-95.4	20.5-38.8	20.5-95.4	20.5-150.3
n	4	4	8	3	4	7	15
Na⁺ [mg L ⁻¹] Mean \pm SD	1209.0 \pm 397.2	861.8 \pm 41.6	1035.4\pm324.1	669.8 \pm 457.6	299.7 \pm 88.3	458.3\pm335.9	766.1\pm435.5
Range: min-max	883.3-1780.1	805.4-1293.6	805.4-1780.1	399.4-1198.1	211.6-416.2	211.6-1198.1	211.6-1780.1
n	4	4	8	3	4	7	15
HCO₃⁻ [mg L ⁻¹] Mean \pm SD	243.3 \pm 54.8	209.1 \pm 19.1	228.6\pm46.9	164.0 \pm 56.2	169.7 \pm 4.7	167.3\pm32.8	197.9\pm50.2
Range: min-max	165.2-293.4	227.8-301.2	165.2-301.2	102.0-211.6	165.1-176.1	102.0-211.6	102.0-293.4
n	4	3	7	3	4	7	14

SI.2 Table 2. Mean concentrations \pm standard deviation (SD), data range concentrations presented as minimum (min.) and maximum (max.) concentrations, n = number of samples analyzed for Hg speciation (F and UNF refer to filtered (dissolved) and unfiltered analysis for total Hg (THg) and monomethylmercury (MMHg); DMHg and DGM refer to dimethylmercury and dissolved gaseous Hg, respectively) analysis of surface water of Lake Uru-Uru, collected in the late dry season (October 2010) and wet season (may 2011).

<i>Parameters</i>	<i>Dry season</i>			<i>Wet season</i>			<i>Entire year</i>
	North Lake (7.0-12.5) Km	South lake (13.4-16.4) Km	<i>Lake</i> (7.0-16.4) Km	North Lake (7.0-9.9) Km	South Lake (14.3-16.4) Km	<i>Lake</i> (7.0-16.4) Km	<i>Lake</i> (7.0-16.4) Km
THg_{UNF} [ng L ⁻¹] Mean \pm SD	8.9 \pm 12.9	11.4 \pm 15.2	10.3\pm13.4	3.6 \pm 0.9	1.1 \pm 0.3	2.2\pm1.4	6.8\pm10.7
Range: min-max	1.7-28.3	3.7-38.5	1.7-38.5	2.9-4.6	0.9-1.5	0.9-4.6	0.9-38.5
n	4	5	9	3	4	7	16
MMHg_{UNF} [ng L ⁻¹] Mean \pm SD	2.1 \pm 2.4	1.1 \pm 0.5	1.5\pm1.6	1.7 \pm 0.3	0.4 \pm 0.1	0.9\pm0.8	1.3\pm1.3
Range: min-max	0.8-5.7	0.7-1.94	0.7-5.7	1.5-2.0	0.2-0.5	0.2-2.0	0.2-5.7
n	4	5	9	3	4	7	16
THg_F [ng L ⁻¹] Mean \pm SD	0.4 \pm 0.6	1.3 \pm 0.9	1.4\pm0.7	2.8 \pm 0.7	0.6 \pm 0.1	1.5\pm1.2	1.4\pm1.0
Range: min - max	0.9-2.2	0.4-2.5	0.4-2.5	2.2-3.5	0.4-0.7	0.4-3.5	0.4-3.5
n	4	5	9	3	4	7	16
MMHg_F [ng L ⁻¹] Mean \pm SD	0.8 \pm 0.3	0.5 \pm 0.2	0.6\pm0.2	1.4 \pm 0.5	0.3 \pm 0.1	0.8\pm0.7	0.69\pm0.47
Range: min-max	0.5-1.1	0.3-0.7	0.3-1.1	1.1-2.0	0.2-0.4	0.2-2.0	0.2-2.0
n	4	5	9	3	4	7	16
MMHg_F [%] Mean \pm SD	53.8 \pm 12.2	39.7 \pm 12.9	46.7\pm13.8	50.5 \pm 6.6	52.0 \pm 8.8	51.4\pm7.4	48.9\pm11.2
Range: min-max	36.4-64.5	28.1-57.3	28.1-64.5	44.4-57.5	39.1-58.7	39.1-58.7	28.1-64.5
n	4	4	8	3	4	7	15
DMHg [pg L ⁻¹] Mean \pm SD	0.1 \pm 0.1	0.4 \pm 4E-02	0.8\pm0.8	0.7 \pm 0.8	0.1 \pm 4E-02	0.4\pm0.6	0.6\pm0.7
Range: min-max	0.5-2.8	0.3-0.4	0.3-2.8	0.2-1.6	0.1-0.2	0.1-1.6	0.1-2.8
n	4	4	8	3	4	7	15
DGM [pg L ⁻¹] Mean \pm SD	78.4 \pm 55.9	84.2 \pm 43.8	81.8\pm44.8	33.3 \pm 10.6	56.3 \pm 27.6	46.4\pm23.9	64.1\pm39.1
Range: min-max	21.2-132.9	35.7-132.2	21.2-132.9	21.2-41.1	27.7-89.4	21.2-89.4	21.2-132.9
n	4	4	8	3	4	7	15

SI.2 Table 3. Mean concentrations \pm standard deviation (SD), data range concentrations presented as minimum (min.) and maximum (max.) concentrations, n = number of samples analyzed for chemical analysis (Total carbon (TC), Organic Carbon (OC), Total sulfur (S), Total Hg (THg), inorganic Hg (iHg) and monomethylmercury (MMHg)) of surface sediments (0 – 2 cm) of Lake Uru-Uru, collected in the late dry season (October 2010) and wet season (may 2011).

<i>Parameters</i>	<i>Dry season</i>			<i>Wet season</i>			<i>Entire year</i>
	North Lake (7.0-12.5) Km	South lake (13.4-16.4) Km	<i>Lake</i> (7.0-16.4) <i>Km</i>	North Lake (7.0-9.9) Km	South Lake (14.3-16.4) Km	<i>Lake</i> (7.0-16.4) <i>Km</i>	<i>Lake</i> (7.0-16.4) Km
TC [%] Mean \pm SD	6.7 \pm 1.2	7.8 \pm 1.2	7.4 \pm 1.3	6.0 \pm 3.0	6.4 \pm 0.5	6.3 \pm 1.8	7.0\pm1.5
Range: min-max	5.3-8.4	6.4-10.0	5.3-10.0	2.7-8.7	6.0-6.9	2.7-8.7	2.7-10.0
n	5	7	12	3	4	7	19
OC [%] Mean \pm SD	5.2 \pm 1.1	6.3 \pm 2.1	5.8 \pm 1.8	4.6 \pm 2.3	4.9 \pm 0.5	4.8 \pm 1.4	5.4\pm1.7
Range: min-max	3.7-6.4	2.9-9.6	2.9-9.6	1.9-6.2	4.5-5.6	1.9-6.2	1.9-9.6
n	5	7	12	3	4	7	19
S [%] Mean \pm SD	1.2 \pm 0.3	1.6 \pm 0.5	1.4 \pm 0.5	0.9 \pm 0.2	1.6 \pm 0.3	1.3 \pm 0.5	1.4\pm0.4
Range: min-max	0.9-1.7	0.7-2.1	0.7-2.1	0.7-1.2	1.2-2.0	0.7-2.0	0.7-2.1
n	5	7	12	3	4	7	19
THg [ng g⁻¹] Mean \pm SD	152.4 \pm 130.8	112.1 \pm 97.6	128.91 \pm 108.9	207.1 \pm 121.8	96.8 \pm 61.9	144.1 \pm 101.6	134.5\pm101.7
Range: min-max	76.2-385.3	29.5-327.5	29.5-385.3	97.9-338.4	53.9-187.1	53.9-338.4	29.5-385.3
n	5	7	12	3	4	7	19
iHg [ng L⁻¹] Mean \pm SD	151.1 \pm 128.5	111.7 \pm 97.3	128.1 \pm 107.6	204.05 \pm 117.9	96.2 \pm 61.9	142.4 \pm 99.4	133.4\pm102.1
Range: min-max	75.9-379.9	29.5-327.5	29.5-379.9	97.3-330.5	53.4-186.6	53.4-330.5	29.5-379.9
n	5	7	12	3	4	7	19
MMHg [ng g⁻¹] Mean \pm SD	1.3 \pm 2.3	0.4 \pm 0.3	0.8 \pm 1.5	3.0 \pm 4.2	0.6 \pm 0.1	1.7 \pm 2.7	1.1\pm2.0
Range: min-max	0.2-5.4	0.04-1.1	0.04-5.4	0.6-7.9	0.5-0.7	0.5-7.9	0.04-7.9
n	5	7	12	3	4	7	19
MMHg [%] Mean \pm SD	0.5 \pm 0.5	0.4 \pm 0.2	0.4 \pm 0.3	1.1 \pm 1.1	0.8 \pm 0.4	0.9 \pm 0.7	0.6\pm0.5
Range: min-max	0.2-1.4	0.1-0.6	0.1-1.4	0.3-2.3	0.3-1.2	0.3-1.2	0.1-2.3
n	5	7	12	3	4	7	19

Supplementary information 3 (SI. 3)

SI.3 Table 1. Physico-chemical characteristics and filtered major elemental concentrations measured in surface water of Lake Uru-Uru, collected during the late dry (D) and wet (W) season (October 2010 and May 2011, respectively).

		Sample	Distance [km]	Temp. [°C]	pH	Cond. [mS cm ⁻¹]	O ₂ [mg L ⁻¹]	DOC [mg L ⁻¹]	SO ₄ ²⁻ [g L ⁻¹]	Ca ²⁺ [mg L ⁻¹]	K ⁺ [mg L ⁻¹]	Li ⁺ [mg L ⁻¹]	Mg ²⁺ [mg L ⁻¹]	Na ⁺ [mg L ⁻¹]	HCO ₃ ⁻ [mg L ⁻¹]
Uru-Uru lake Dry season	North	DUU12	7.0	18.2	7.9	8.5	5.8	22.6	12.7	259	70.2	2.6	150	1780	293
		DUU11	9.2	n.d	7.7	4.5	10.2	13.9	6.4	1699	36.5	1.1	82.9	883	261
		DUU9	10.8	15.3	7.6	5.6	7.5	17.0	8.2	190	46.8	1.5	102	1161	254
		DUU8	12.5	16.6	8.5	5.1	12.3	14.9	7.2	156	42.5	1.4	90.0	1012	165
	South	DUU7	13.4	18.2	8.2	4.8	9.9	14.4	7.0	153	41.0	1.3	86	983	171
		DUU6	14.3	15.2	8.9	4.6	15.0	14.5	6.0	143	37.2	1.1	78	850	n.d
		DUU1	14.4	18.2	7.8	6.6	5.8	14.2	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	228
		DUU3	15.1	17.3	n.d	n.d	13.5	14.4	5.7	140	35.9	1.0	74.5	809	n.d
		DUU5	16.4	17.8	7.6	4.4	9.1	12.9	5.8	159	34.3	1.1	75.7	805	228
Confluence Uru-Uru lake and mining rivers (Dry seasonn)		DHU3	20.0	18.2	8.3	12.0	12.2	24.4	9.1	219	57.5	1.6	117	1294	301
		DHU3-2	20.0	15.5	8.1	6.3	9.2	n.d.	8.7	217	53.2	1.5	111	1240	n.d
		DECPP	37.6	15.3	7.8	n.d	6.4	n.d.	8.2	202	50.9	1.5	106	1191	272
Uru-Uru lake Wet season	North	WUU12	7.0	16.2	9.5	9.0	11.5	22.0	10.1	248	56.4	2.4	95.4	1198	102
		WUU11	9.2	14.2	7.4	2.7	3.0	14.1	2.3	64	17.7	n.d.	31.3	399	212
		WUU10	9.94	14.2	8.5	3.1	7.8	15.0	2.8	108	20.0	0.6	38.5	412	178
	South	WUU6	14.3	15.0	8.7	2.8	8.1	n.d	2.3	92.6	15.9	0.4	30.2	314	170
		WUU1	14.4	15.9	8.3	3.2	5.3	16.4	3.3	112	20.1	0.6	38.7	416	165
		WUU4	15.4	14.8	8.1	2.0	5.6	21.0	1.9	87.0	13.3	0.3	24.9	257	176
		WUU5	16.4	14.9	8.3	2.4	6.0	22.0	1.6	88.5	11.5	0.2	20.5	212	168
Confluence Uru-Uru lake and mining rivers (Wet season)		WHU1	20.0	11.5	8.6	2.8	3.3	13.0	2.1	96.0	13.8	0.4	27.9	295	177
		WHU2	21.2	16.2	9.0	2.8	8.7	12.5	1.9	97.7	14.7	0.4	28.3	305	174
		WECPP2	37.4	16.0	8.8	2.9	8.5	18.0	1.9	77.6	12.1	0.3	27.9	295	162
		WECPP1	37.6	18.7	9.5	3.1	9.3	18.0	2.2	45.7	7.3	0.1	14.1	140	167

SI.3 Table 2. Filtered trace elemental concentrations ($\mu\text{g L}^{-1}$) measured in surface water of Lake Uru-Uru, collected during the late dry (D – **Table 2A**) and wet (W– **Table 2B**) season (October 2010 and May 2011, respectively).

SI.3Table2A

		ID	Distance	Be	B	Al	Si	Ti	V	Cr	Mn	Fe	Co	Ni	Cu	Zn	Ga	Ge	As	Se	
Uru-Uru lake	North	DUU12	7.0	<L.D.	9911	4.3	668	54.0	1.6	8.2	493	36.1	0.4	1.8	<L.D.	<L.D.	7.7	0.1	46.4	<L.D.	
		DUU11	9.2	<L.D.	5437	10.6	2063	28.2	1.5	3.9	43.7	85.2	0.1	0.6	<L.D.	0.1	1.4	0.03	64.4	<L.D.	
		DUU9	10.8	<L.D.	6468	21.8	1085	3.0	1.5	<L.D.	176	78.7	0.1	1.0	<L.D.	0.6	3.2	0.1	61.2	0.4	
		DUU8	12.5	<L.D.	5694	2.0	3593	1.5	0.9	<L.D.	62.2	14.3	0.1	0.5	0.2	<L.D.	1.1	0.1	86.1	1.4	
	South	DUU7	13.4	<L.D.	5731	2.7	5330	2.1	1.2	<L.D.	53.6	7.9	0.02	0.5	0.07	2.6	1.8	0.05	86.4	<L.D.	
		DUU6	14.3	<L.D.	5347	1.4	5062	1.7	1.5	<L.D.	23.4	15.9	0.1	0.5	<L.D.	<L.D.	0.4	0.05	91.1	1.0	
		DUU1	14.4	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
		DUU3	15.1	<L.D.	4795	4.3	50990	36.0	1.6	0.9	46.9	27.1	0.1	0.4	0.3	0.5	0.2	0.03	93.4	<L.D.	
		DUU5	16.4	<L.D.	5180	3.4	49825	2.0	1.3	<L.D.	215	61.8	0.01	0.6	0.02	<L.D.	0.7	0.03	89.9	<L.D.	
Confluence Uru-Uru lake and mining rivers		DHU3	20.0	<L.D.	8321	35.7	223	37.4	0.3	<L.D.	1283	160.4	0.4	2.1	<L.D.	<L.D.	3.8	0.03	94.9	<L.D.	
		DHU3-2	20.0	<L.D.	7929	20.5	673	35.9	0.4	<L.D.	1621	137.4	0.5	2.5	<L.D.	<L.D.	3.4	0.02	93.5	3.9	
		DECPP	37.6	<L.D.	6881	9.7	1210	32.4	0.6	4.8	492	21.6	0.9	4.1	0.6	11.3	5.1	0.05	12.7	0.7	
		ID	Distance	Rb	Sr	Nb	Mo	Ag	Cd	In	Sn	Sb	Te	Cs	Ba	La	Ce	Pr	Nd	Eu	
Uru-Uru lake	North	DUU12	7.0	18.7	5475	<L.D.	12.3	<L.D.	<L.D.	14.1	<L.D.	19.5	0.08	1.2	176	<L.D.	<L.D.	<L.D.	<L.D.	<L.D.	
		DUU11	9.2	10.1	3090	<L.D.	4.0	<L.D.	<L.D.	0.7	<L.D.	5.1	<L.D.	0.1	32.1	<L.D.	<L.D.	<L.D.	<L.D.	<L.D.	
		DUU9	10.8	12.9	3761	<L.D.	6.5	<L.D.	<L.D.	2.1	<L.D.	10.4	<L.D.	0.3	74.5	<L.D.	<L.D.	<L.D.	<L.D.	<L.D.	
		DUU8	12.5	11.3	3175	0.58	4.2	<L.D.	<L.D.	<L.D.	0.20	5.5	<L.D.	0.2	25.2	<L.D.	<L.D.	<L.D.	<L.D.	<L.D.	
	South	DUU7	13.4	11.0	3154	<L.D.	3.8	<L.D.	<L.D.	1.0	<L.D.	4.5	<L.D.	0.1	38.8	<L.D.	<L.D.	<L.D.	<L.D.	<L.D.	
		DUU6	14.3	10.1	2875	<L.D.	3.6	<L.D.	<L.D.	0.8	<L.D.	4.1	<L.D.	0.1	9.3	<L.D.	<L.D.	<L.D.	<L.D.	<L.D.	
		DUU1	14.4	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	
		DUU3	15.1	9.58	2709	0.55	3.7	0.01	0.01	<L.D.	0.05	3.5	0.05	0.1	5.0	<L.D.	<L.D.	<L.D.	<L.D.	<L.D.	
		DUU5	16.4	9.27	2878	<L.D.	3.2	<L.D.	<L.D.	<L.D.	3.6	<L.D.	0.1	14.9	<L.D.	<L.D.	<L.D.	<L.D.	<L.D.		
Confluence Uru-Uru lake and mining rivers		DHU3	20.0	23.0	4069	<L.D.	7.6	<L.D.	0.04	4.4	0.08	17.4	0.03	0.3	86.8	0.01	0.01	<L.D.	0.01	0.04	
		DHU3-2	20.0	19.7	4016	<L.D.	7.0	<L.D.	0.01	9.8	0.17	19.0	<L.D.	0.2	78.7	0.01	0.02	<L.D.	0.01	0.02	
		DECPP	37.6	12.9	3747	<L.D.	4.1	<L.D.	0.04	1.7	<L.D.	4.2	0.01	0.3	125	0.02	0.03	<L.D.	0.02	0.04	

	ID	Distance	Sm	Gd	Dy	Ho	Er	Tm	Yb	Lu	Hf	Ta	W	Tl	Pb	Th	U	
Uru-Uru lake	North	DUU12	7.0	0.05	<L.D.	0.01	<L.D.	<L.D.	<L.D.	<L.D.	<L.D.	0.1	0.03	0.6	<L.D.	0.1	<L.D.	8.1
		DUU11	9.2	<L.D.	0.003	0.003	0.001	0.004	<L.D.	<L.D.	<L.D.	0.1	0.01	0.1	<L.D.	0.2	0.04	1.9
		DUU9	10.8	0.01	<L.D.	0.003	0.002	0.005	0.001	0.01	0.001	0.2	0.02	0.3	<L.D.	0.2	0.06	3.3
		DUU8	12.5	0.01	0.005	0.01	0.01	0.01	0.005	0.00	0.004	0.3	0.04	0.4	0.02	0.04	0.3	1.9
	South	DUU7	13.4	0.01	0.002	0.004	0.001	0.002	0.001	0.01	<L.D.	0.1	0.01	0.1	<L.D.	0.02	0.01	1.6
		DUU6	14.3	<L.D.	0.002	0.003	0.003	0.001	0.001	<L.D.	<L.D.	0.1	0.02	0.1	<L.D.	0.03	0.03	1.4
		DUU1	14.4	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
		DUU3	15.1	<L.D.	0.003	0.01	0.003	<L.D.	0.004	<L.D.	0.002	0.2	<L.D.	0.3	0.01	0.05	0.2	1.4
		DUU5	16.4	<L.D.	0.002	0.01	0.002	0.001	0.001	0.001	<L.D.	0.1	0.02	<L.D.	<L.D.	0.03	0.05	1.4
Confluence Uru-Uru lake and mining rivers	DHU3	20.0	0.02	0.003	0.02	<L.D.	<L.D.	<L.D.	<L.D.	<L.D.	0.3	0.1	0.8	<L.D.	1.4	0.1	5.4	
	DHU3-2	20.0	0.01	0.01	0.01	<L.D.	<L.D.	<L.D.	0.005	<L.D.	0.3	0.04	1.1	<L.D.	1.3	0.05	4.7	
	DECPP	37.6	0.03	0.01	0.01	0.004	0.002	0.003	0.01	0.001	0.2	0.03	0.1	<L.D.	0.2	0.1	2.9	

SI.3Table 2B

		ID	Distance	Be	B	Al	Si	Ti	V	Cr	Mn	Fe	Co	Ni	Cu	Zn	Ga	Ge	As	Se
Uru-Uru lake	North	WUU12	7.0	0.03	7730	<L.D.	6917	62.5	3.4	<L.D.	230	195	0.50	2.5	6.6	1.1	0.9	0.2	84.2	3.2
		WUU11	9.2	0.03	2108	13.4	1812	7.3	0.5	<L.D.	89	54	0.06	0.7	<L.D.	<L.D.	2.9	0.1	56.0	2.0
		WUU10	9.9	0.01	2720	18.7	1868	10.1	1.0	<L.D.	80	71	0.06	0.7	<L.D.	<L.D.	1.8	0.04	73.5	0.7
	South	WUU6	14.3	<L.D.	2191	<L.D.	6860	19.7	2.0	2.3	85	147	<L.D.	0.5	<L.D.	2.2	4.4	0.1	71.7	2.6
		WUU1	14.4	0.01	2731	18.0	2191	12.6	1.5	<L.D.	157	213	0.11	0.8	<L.D.	0.2	3.5	0.03	52.4	1.8
		WUU4	15.4	0.01	1581	13.0	7880	5.9	2.2	<L.D.	115	52	0.05	0.6	<L.D.	<L.D.	3.0	0.01	76.4	<L.D.
		WUU5	16.4	0.01	1833	4.5	5408	7.2	1.5	<L.D.	114	108	0.02	0.7	<L.D.	<L.D.	3.2	0.04	66.9	0.2
Confluence Uru-Uru lake and mining rivers	WHU1	20.0	0.01	2025	<L.D.	9684	16.3	0.9	<L.D.	417	186	0.02	0.7	<L.D.	<L.D.	2.9	0.1	74.3	2.7	
	WHU2	21.2	0.01	1830	<L.D.	6099	13.7	0.7	<L.D.	61	128	<L.D.	0.6	<L.D.	1.6	2.3	0.1	68.5	4.0	
	WECPP2	37.4	0.01	1852	20.5	635	5.9	0.4	<L.D.	2.7	18.4	0.03	0.6	4.0	<L.D.	1.7	0.01	28.0	1.0	
	WECPP1	37.6	0.01	1949	14.5	2326	6.9	0.1	<L.D.	6.6	24.4	0.08	1.3	7.2	14.1	1.6	0.02	6.6	1.5	
		ID	Distance	Rb	Sr	Nb	Mo	Ag	Cd	In	Sn	Sb	Te	Cs	Ba	La	Ce	Pr	Nd	Eu
UruUru lake	North	WUU12	7.0	26.1	4726	0.6	10.8	0.09	0.04	<L.D.	0.2	7.8	<L.D.	7.7	21.2	0.03	0.03	0.01	0.02	0.02
		WUU11	9.2	6.0	1573	1.5	2.7	0.02	0.01	5.2	0.6	2.3	0.07	0.2	74.6	0.02	0.03	0.01	0.01	0.03
		WUU10	9.9	7.5	1974	0.03	3.3	0.01	0.01	4.3	0.01	3.3	<L.D.	0.2	44.3	0.01	0.04	0.003	0.01	0.01
	South	WUU6	14.3	5.9	1643	<L.D.	3.2	<L.D.	0.01	<L.D.	<L.D.	2.7	0.02	0.1	94.7	0.01	0.02	0.004	0.01	0.03
		WUU1	14.4	7.3	2053	0.04	3.8	<L.D.	<L.D.	<L.D.	0.05	3.9	<L.D.	0.1	81.6	0.02	0.03	0.004	0.03	0.02
		WUU4	15.4	4.7	1210	0.1	2.7	<L.D.	0.003	<L.D.	0.03	1.3	<L.D.	0.05	75.7	0.02	0.06	0.003	0.02	0.02
		WUU5	16.4	5.3	1392	0.04	3.0	<L.D.	0.01	<L.D.	0.05	2.1	<L.D.	0.05	85.4	0.01	0.02	0.003	0.02	0.02
Confluence Uru-Uru lake and mining rivers		20.0	6.1	1612	0.2	3.0	0.04	0.02	<L.D.	0.05	1.8	<L.D.	0.2	66.8	0.01	0.02	0.01	0.01	0.02	
		21.2	5.2	1452	<L.D.	2.5	0.08	<L.D.	6.3	<L.D.	1.4	<L.D.	0.1	54.4	0.003	0.01	0.00	0.02	0.02	
	WECPP2	37.4	3.6	1333	0.5	1.8	0.01	0.05	0.4	0.2	0.8	<L.D.	0.04	44.1	0.02	0.05	0.01	0.03	0.02	
	WECPP1	37.6	5.2	1424	0.8	2.0	0.02	0.4	<L.D.	0.31	1.7	<L.D.	0.2	37.6	0.01	0.01	0.01	0.02	0.02	
		ID	Distance	Sm	Gd	Dy	Ho	Er	Tm	Yb	Lu	Hf	Ta	W	Tl	Pb	Th	U		
Uru-Uru lake	North	WUU12	7.0	0.01	0.02	0.01	0.01	<L.D.	0.01	0.01	0.01	0.1	0.02	2.5	0.1	<L.D.	0.1	2.4		
		WUU11	9.2	0.02	0.02	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01	0.3	0.06	0.8	0.05	<L.D.	0.4	0.9		
		WUU10	9.9	0.01	<L.D.	<L.D.	0.001	<L.D.	0.002	<L.D.	<L.D.	0.1	<L.D.	0.1	<L.D.	<L.D.	0.03	1.1		
	South	WUU6	14.3	0.02	0.01	<L.D.	0.001	<L.D.	0.002	0.002	0.002	<L.D.		0.1	<L.D.	<L.D.	<L.D.	0.9		
		WUU1	14.4	0.02	<L.D.	0.01	<L.D.	<L.D.	<L.D.	0.002	0.001	0.07	<L.D.	0.1	<L.D.	0.25	0.04	1.3		
		WUU4	15.4	0.01	<L.D.	0.01	<L.D.	<L.D.	<L.D.	<L.D.	0.001	0.06	<L.D.	0.03	<L.D.	<L.D.	0.04	1.0		
		WUU5	16.4	0.02	<L.D.	<L.D.	<L.D.	0.001	<L.D.	<L.D.	0.001	0.05	<L.D.	0.05	<L.D.	<L.D.	0.03	1.0		
Confluence Uru-Uru lake and mining rivers	WHU1	19.9	0.02	<L.D.	0.01	<L.D.	0.004	0.005	0.004	0.006	0.02	<L.D.	0.5	0.05	<L.D.	<L.D.	0.8			
	WHU2	21.1	0.02	<L.D.	<L.D.	0.001	0.002	0.002	0.001	0.002	0.01	<L.D.	0.2	0.01	<L.D.	<L.D.	0.7			
	WECPP2	37.4	0.01	0.01	0.01	<L.D.	0.01	<L.D.	0.001	0.001	0.1	0.02	0.2	0.01	<L.D.	0.14	0.7			
	WECPP1	37.6	0.02	0.01	<L.D.	<L.D.	0.005	<L.D.	0.01	<L.D.	0.2	0.04	0.4	0.1	<L.D.	0.23	1.0			

SI.3 Table 2C. Filtered Hg species (F and UNF refer to filtered and unfiltered analysis for total Hg (THg) and monomethylHg (MMHg); DMHg and DGM refer to dimethylHg and dissolved gaseous Hg, respectively) concentrations measured in surface water of Lake Uru-Uru, collected during the late dry (D) and wet (W) season (October 2010 and May 2011, respectively).

		Sample	Distance [km]	THg _{UNF} [ng L ⁻¹]	SD	MMHg _{UNF} [ng L ⁻¹]	SD	THg _F	SD	MMHg _F [ng L ⁻¹]	SD	MMHg _F %	SD	DMeHg [pg L ⁻¹]	SD	Hg ⁰ [pg L ⁻¹]	SD
Uru-Uru lake	North	DUU12	7.0	28.3	0.9	5.7	0.4	1.76	0.03	1.14	0.02	64.5	0.5	2.8	0.3	132.9	18.6
		DUU11	9.2	3.4	0.1	1.05	0.04	2.2	0.1	0.81	0.04	36.5	1.3	0.7	0.1	21.2	3.0
		DUU9	10.84	2.31	0.04	0.78	0.01	0.93	0.02	0.51	0.01	55.1	0.9	0.46	0.05	81.2	11.4
		DUU8	12.5	1.71	0.05	0.92	0.03	0.90	0.01	0.53	0.00	59.0	1.1	0.55	0.05	n.d	-
	South	DUU7	13.4	5.2	0.1	1.9	0.1	1.8	0.1	0.57	0.03	32.2	1.5	0.34	0.03	61.1	8.6
		DUU6	14.3	4.2	0.3	0.90	0.07	1.28	0.05	0.53	0.02	41.3	1.4	0.42	0.04	132.2	18.5
		DUU1	14.4	3.7	0.1	0.66	0.01	0.56	0.02	0.32	0.01	57.3	1.2	n.d	-	n.d	-
		DUU3	15.1	38.5	3.3	0.70	0.02	0.4	3.0	0.43	0.01	n.d	-	0.42	0.04	107.9	15.1
		DUU5	16.4	5.4	0.1	1.15	0.04	2.53	0.02	0.71	0.01	28.1	0.3	0.40	0.04	35.7	5.0
Confluence Uru-Uru lake and mining rivers		DHU3	20.0	40.1	0.7	2.9	0.2	1.92	0.03	0.42	0.02	22.0	0.75	n.d	-	20.7	2.9
		DHU3-2	30.0	29.3	3.5	5.5	0.6	n.d.	n.d.	n.d	-	n.d	-	n.d	-	n.d	-
		DECPP	37.6	4.6	0.3	0.14	0.01	n.d.	n.d.	n.d.	-	n.d	-	0.24	0.02	7.5	1.1
UruUru lake	North	WUU12	7.0	4.6	0.2	2.0	0.2	3.5	0.2	2.01	0.03	57.5	2.7	1.6	0.2	37.7	5.3
		WUU11	9.2	2.9	0.1	1.50	0.03	2.6	0.2	1.2	0.1	44.4	3.3	0.20	0.02	21.2	3.0
		WUU10	9.9	3.2	0.2	1.6	0.1	2.2	0.1	1.08	0.05	49.7	1.1	0.35	0.03	41.0	5.7
	South	WUU6	14.3	1.5	0.1	0.52	0.03	0.71	0.03	0.41	0.02	58.7	1.6	0.15	0.02	89.4	12.5
		WUU1	14.4	1.2	0.2	0.2	0.2	0.38	0.03	0.15	<L.D.	39.1	3.2	0.07	0.01	40.4	5.7
		WUU4	15.4	0.91	0.05	0.38	0.04	0.64	0.04	0.36	0.01	56.3	3.4	0.12	0.01	67.6	9.5
		WUU5	16.4	0.91	0.04	0.31	0.01	0.56	0.04	0.30	0.01	54.0	3.4	0.13	0.01	27.7	3.9
Confluence Uru-Uru lake and mining rivers		WHU1	19.9	3.5	0.1	1.2	0.1	2.1	0.1	1.11	0.02	51.6	1.2	0.45	0.04	98.9	13.8
		WHU2	21.1	2.7	0.1	0.73	0.02	2.0	0.1	0.59	0.02	30.0	1.0	0.28	0.03	22.5	3.2
		WECPP2	37.4	0.65	0.01	0.04	0.001	0.30	0.05	0.01	0.00	3.7	0.9	0.06	0.01	8.6	1.2
		WECPP1	37.6	1.18	0.05	0.02	0.001	0.31	0.03	0.004	0.00	1.4	0.7	0.15	0.01	66.8	9.4
Poopó lake		WPP2	110.4	2.8	0.1	0.19	0.01	0.73	0.02	0.09	0.00	12.3	0.4	n.d	-	57.6	8.1
		WPP1	110.4	3.3	0.1	0.24	0.01	0.52	0.01	0.10	0.01	18.4	0.9	n.d	-	n.d	-

SI.3Table 2D. Hg species (total Hg (THg), inorganic Hg (iHg), monomethylHg (MMHg)), Total and organic carbon (TC and OC, respectively) and total sulfur (S) concentrations measured in surface sediment (0 – 2cm) of Lake Uru-Uru, collected during the late dry (D) and wet (W) season (October 2010 and May 2011, respectively).

Site		Sample	Distance [km]	THg [ng g ⁻¹]	SD	iHg [ng g ⁻¹]	SD	MMHg [ng g ⁻¹]	SD	MMHg [%]	TC [%]	OC [%]	S [%]
Uru-Uru lake	North	DUU12	7.0	385.3	9.8	379.9	9.7	5.4	0.1	1.4	6.4	6.0	1.0
		DUU11	9.2	98.4	0.9	98.0	0.8	0.36	0.04	0.4	5.3	3.7	0.9
		DUU10	9.9	111.2	2.0	110.8	1.9	0.37	0.05	0.3	8.4	6.4	1.1
		DUU9	10.8	76.2	0.3	75.9	0.3	0.25	0.04	0.3	7.5	5.4	1.1
		DUU8	12.5	91.0	5.1	90.9	5.1	0.16	0.05	0.2	6.0	4.3	1.7
	South	DUU7	13.4	29.5	0.2	29.5	0.1	0.04	0.04	0.1	6.8	2.9	0.7
		DUU6	14.3	95.5	1.3	95.2	1.3	0.34	0.05	0.4	7.7	5.4	1.7
		DUU1	14.4	327.5	8.1	326.4	8.1	1.07	0.05	0.3	6.4	6.0	1.1
		DUU2	14.7	70.8	1.5	70.4	1.4	0.41	0.05	0.6	7.9	5.7	1.5
		DUU3	15.1	87.4	0.3	87.2	0.3	0.17	0.01	0.2	7.3	6.9	1.9
		DUU4	15.4	78.7	1.3	78.3	1.3	0.36	0.02	0.5	8.3	7.9	2.1
		DUU5	16.4	95.4	2.6	95.0	2.6	0.43	0.01	0.5	10.0	9.6	1.8
	Confluence UruUru lake and mining rivers		DECPP	37.6	159.9	1.6	159.8	1.5	0.19	0.05	0.1	3.4	3.3
Uru-Uru lake	North	WUU12	7.0	338.4	2.8	330.5	2.6	7.9	0.2	2.3	6.6	5.7	0.9
		WUU11	9.2	185.0	7.0	184.4	7.0	0.62	0.05	0.3	2.7	1.9	0.7
		WUU10	9.9	97.9	4.0	97.3	4.0	0.66	0.04	0.7	8.7	6.2	1.2
	South	WUU6	14.3	86.9	0.7	86.2	0.7	0.71	0.05	0.8	6.9	4.8	1.6
		WUU1	14.4	187.1	1.4	186.6	1.3	0.54	0.04	0.3	6.8	5.6	1.2
		WUU4	15.5	53.9	1.7	53.4	1.6	0.50	0.05	0.9	6.0	4.7	2.0
		WUU5	16.4	59.5	3.1	58.8	3.0	0.7	0.1	1.2	6.1	4.5	1.8
Confluence UruUru lake and mining rivers		WHU1A	19.9	283.8	12.5	282.5	12.4	1.3	0.1	0.5	3.0	2.8	6.3
		WHU2B	21.2	491.6	29.7	486.1	29.5	5.6	0.2	1.1	4.0	4.0	1.0
		WECPP2	37.4	135.5	3.8	135.5	3.7	-	0.04		0.9	0.8	0.1
		WECPP1	37.6	264.6	10.2	264.2	10.1	0.41	0.04	0.2	4.1	3.8	0.3
Poopó lake		WPP2	110.4	78.3	0.9	78.1	0.9	0.23	0.04	0.3	2.9	2.7	7.3
		WPP1	110.4	77.1	2.3	76.9	2.2	0.21	0.04	0.3	3.0	2.8	6.6

SI.3 Table 2E. Filtered Hg species (total Hg (THg), inorganic Hg (iHg), monomethylmercury (MMHg)) concentrations measured in surface sediment pore waters (0 – 2cm) of Lake Uru-Uru, collected during the late dry (D) and wet (W) season (October 2010 and May 2011, respectively).

Site		Sample	Distance [km]	THg [ng L ⁻¹]	SD	iHg [ng L ⁻¹]	SD	MMHg [ng L ⁻¹]	SD	MMHg [%]
Uru-Uru lake	North	DUU12i	7.0	239.1	18.69	203.4	16.2	35.8	2.5	15.0
		DUU10i	9.9	206.3	14.15	186.7	12.8	19.5	1.3	9.5
		DUU9i	10.8	1.49	0.05	0.27	0.02	1.22	0.03	82.0
	South	DUU7i	13.4	198.0	14.09	40.3	2.9	157.8	11.2	79.7
		DUU6i	14.3	212.9	15.03	164.4	12.0	48.5	3.0	22.8
		DUU1i	14.4	5.65	0.29	2.6	0.1	3.0	0.2	53.9
		DUU2i	14.7	3.16	0.23	0.10	0.01	3.1	0.2	96.8
		DUU3i	15.1	3.82	0.20	0.09	0.02	3.7	0.2	97.7
		DUU4i	15.5	99.88	6.83	41.9	1.5	58.0	5.3	58.0
Uru-Uru lake	North	WUU12i	7.0	3.17	0.05	2.90	0.05	0.27	0.001	8.5
		WUU11i	9.2	2.53	0.02	2.47	0.02	0.07	0.002	2.6
		WUU10i	9.9	6.33	0.14	6.2	0.1	0.12	0.01	1.9
	South	WUU6i	14.3	1.41	<L.D.	1.4	0.0	0.01	0.001	0.9
		WUU1i	14.4	9.04	0.23	7.6	0.1	1.5	0.1	16.2
		WUU4i	15.5	1.66	0.01	1.66	0.01	0.005	0.001	0.3
		WUU5i	16.4	0.77	0.01	0.76	0.01	0.01	0.00	1.5
Confluence Uru-Uru lake and mining rivers	WHU1Ai	19.9	2.38	0.06	2.4	0.1	0.04	0.003	1.6	
	WHU2Ai	21.2	3.56	0.02	3.42	0.01	0.14	0.01	3.9	
	WECPP1i	37.6	16.75	0.87	16.5	0.9	0.23	0.01	1.3	

SI.3 Table2F. Major and trace metal (Be, B, Na, Mg, Al, Si, P, K, Ca, Ti, V, Cr, Mn, Fe,Co, Ni, Cu, Zn, Ga, Ge, As, Se, Rb, Sr, Zr, Nb, Mo, Ag, Cd, In, Sn, Sb, Te, Cs, Ba, La, Ce, Pr, Nd, Sm, Eu, Gd, Dy, Ho, Er, Tm, Yb, Lu, Hf, Ta, W, Tl, Pb, Th and U) concentrations measured in surface sediment (0 – 2cm) ($\mu\text{g g}^{-1}$) of Lake Uru-Uru, collected during the late dry (D – Table SI.3.2F1) and wet (W – Table SI.3.2F2) season.

SI.3Table 2F1.

Site	ID	Distance	Be	B	Na	Mg	Al	Si	P	K	Ca	Ti	V	Cr	Mn	Fe	
Uru-Uru lake	North	DUU12	7.0	2.5	138.9	8400	11676	79682	0.00	930	25370	25012	2880	95.1	45.9	460	30453
		DUU11	9.2	1.9	87.9	9748	10028	69297	0.00	769	20561	57101	2529	72.1	35.2	528	23644
		DUU10	9.9	2.1	162.1	6317	9497	55239	204.1	846	20513	55999	2182	80.5	35.3	777	23807
		DUU9	10.8	2.0	140.7	6239	9140	58099	1968	898	21031	59315	2104	78.4	35.0	938	24565
		DUU8	12.5	2.3	81.2	5168	11682	73621	269	682	24128	56705	2151	100.6	43.7	627	30532
	South	DUU7	13.4	1.2	61.6	7393	10915	36529	2128	628	14541	76766	1446	44.1	16.0	874	13751
		DUU6	14.3	2.1	146.2	5260	8915	56981	1133	753	20815	60612	1972	85.9	36.0	824	26524
		DUU1	14.4	2.2	164.8	8921	7505	61367	<L.D.	840	20964	26992	2774	83.8	38.5	780	27181
		DUU2	14.6	1.8	128.4	4165	8356	48942	318	696	17870	56199	1641	73.3	31.2	664	22012
		DUU3	15.1	2.4	169.9	4948	7233	57199	<L.D.	802	19794	24298	2204	93.2	43.7	613	30474
		DUU4	15.4	2.6	195.8	6338	9892	70835	<L.D.	999	24113	27384	2664	108.8	49.7	651	36482
		DUU5	16.4	2.3	192.4	6318	8301	63871	<L.D.	1286	21363	26829	2386	94.4	43.7	528	31162
Confluence Uru-Uru lake and mining rivers	DECPP	37.59	3.38	207.8	8000.2	9618	75656	<L.D.	759	21865	14226	3218.99	90.5	42.6	1025	37621	
Site	ID	Distance	Co	Ni	Cu	Zn	Ga	Ge	As	Se	Rb	Sr	Zr	Nb	Mo	Ag	
Uru-Uru lake	North	DUU12	7.0	11.2	22.7	50.5	149.4	18.45	0.2	51.8	0.7	153.1	461.8	73.9	11.1	3.3	1.0
		DUU11	9.2	8.5	16.9	40.6	86.4	15.03	0.1	47.6	1.2	117.5	687.8	79.6	10.0	1.5	0.6
		DUU10	9.9	9.0	19.7	52.0	96.8	14.75	1.3	58.2	0.5	106.2	756.2	62.3	11.7	1.8	0.6
		DUU9	10.8	9.5	19.5	49.1	100.2	14.75	1.3	57.4	0.1	105.6	763.0	56.8	8.0	3.2	0.4
		DUU8	12.5	10.9	23.0	78.2	103.7	17.80	1.5	66.6	0.8	146.5	692.3	66.3	8.5	2.4	0.4
	South	DUU7	13.4	5.6	11.0	24.6	60.1	8.6	1.0	54.0	<L.D.	73.3	944.8	36.1	6.5	3.4	0.4
		DUU6	14.3	9.7	20.4	63.6	101.7	14.9	1.3	68.9	0.4	102.2	783.8	57.3	7.9	4.5	0.5
		DUU1	14.4	12.2	22.1	47.5	194.6	16.1	1.7	60.2	1.0	52.5	433.4	74.1	10.7	3.2	1.2
		DUU2	14.6	8.2	17.9	60.0	83.9	13.0	1.1	61.7	0.3	91.9	752.8	48.5	10.3	4.5	0.3
		DUU3	15.1	10.5	22.4	71.6	115.5	17.4	1.4	57.9	<L.D.	24.7	352.6	63.9	9.3	4.1	0.4
		DUU4	15.4	12.32	26.6	82.6	130.1	19.8	1.7	74.0	<L.D.	41.2	422.3	75.4	10.7	7.2	0.5
		DUU5	16.4	11.6	24.0	73.9	121.4	17.7	1.6	86.4	1.01	39.3	412.1	67.7	9.1	4.3	0.5
Confluence Uru-Uru lake and mining rivers	DECPP	37.6	32.8	41.9	225.1	3687	18.4	0.1	192.5	1.0	122.1	321.8	81.1	11.2	2.0	3.4	

Site	ID	Distance	Cd	In	Sn	Sb	Te	Cs	Ba	La	Ce	Pr	Nd	Sm	Eu	Gd	
Uru-Uru lake	North	DUU12	7.0	0.9	<L.D.	23.2	24.9	0.1	51.7	581	36.0	72.2	8.5	30.8	5.9	1.3	4.9
		DUU11	9.2	0.2	3.2	7.6	9.4	0.1	27.2	607	28.6	56.0	6.8	24.7	5.0	1.2	4.1
		DUU10	9.9	0.3	2.4	11.3	12.2	0.1	18.5	504	24.3	50.9	5.6	20.3	4.0	0.9	3.4
		DUU9	10.8	0.3	2.3	8.0	6.5	0.1	18.3	500	23.7	49.3	5.5	19.9	3.9	0.9	3.3
		DUU8	12.5	0.4	0.8	6.0	6.6	0.1	28.6	470	30.7	61.4	7.2	26.1	5.0	1.1	4.3
	South	DUU7	13.4	0.2	<L.D.	5.0	3.0	0.1	12.1	490	16.2	32.1	3.8	13.5	2.7	0.7	2.3
		DUU6	14.3	0.5	<L.D.	9.4	7.8	0.1	15.3	474	24.4	51.0	5.7	20.4	4.0	0.9	3.4
		DUU1	14.4	0.8	0.4	19.1	19.4	0.1	23.2	547	22.4	47.1	5.6	20.9	4.4	1.0	4.0
		DUU2	14.6	0.3	<L.D.	7.4	5.3	0.2	15.9	402	21.7	44.7	5.0	18.2	3.6	0.8	3.0
		DUU3	15.1	0.5	<L.D.	9.0	7.2	0.1	18.8	348	21.1	46.1	5.6	20.9	4.3	0.9	3.7
	DUU4	15.5	0.5	0.5	10.6	7.6	<L.D.	22.6	410	26.3	55.4	6.8	25.0	4.9	1.1	4.3	
	DUU5	16.4	0.5	<L.D.	12.9	8.3	0.1	20.7	764	23.0	47.8	5.9	21.9	4.6	1.1	3.9	
Confluence Uru-Uru lake and mining rivers		DECPP	37.6	49.9	0.8	40.9	26.7	0.1	27.4	481	31.2	65.8	8.0	30.4	6.6	1.5	6.2
Site	ID	Distance	Dy	Ho	Er	Tm	Yb	Lu	Hf	Ta	W	Tl	Pb	Th	U		
Uru-Uru lake	North	DUU12	7.0	3.0	0.5	1.6	0.2	1.5	0.2	2.3	1.5	2.2	1.0	77.4	12.0	4.2	
		DUU11	9.2	2.7	0.5	1.4	0.2	1.3	0.2	2.5	1.5	1.5	0.7	40.8	9.2	3.4	
		DUU10	9.9	2.1	0.4	1.1	0.2	1.1	0.2	2.6	2.1	2.0	0.8	39.3	8.4	4.6	
		DUU9	10.8	2.0	0.3	1.0	0.1	0.9	0.2	1.8	1.7	1.3	0.8	33.2	7.6	3.5	
		DUU8	12.5	2.6	0.5	1.4	0.2	1.3	0.2	2.2	2.2	1.2	0.9	32.9	10.0	3.7	
	South	DUU7	13.4	1.5	0.3	0.8	0.1	0.7	0.1	1.3	1.5	0.7	0.5	17.1	3.6	2.4	
		DUU6	14.3	2.0	0.4	1.0	0.2	1.0	0.2	1.9	1.8	1.3	0.8	35.6	8.2	4.5	
		DUU1	14.4	2.6	0.5	1.4	0.2	1.4	0.2	2.5	1.8	2.1	0.8	95.5	8.2	4.5	
		DUU2	14.6	1.8	0.3	0.9	0.1	0.8	0.1	2.4	2.1	2.0	0.7	26.2	7.7	3.6	
		DUU3	15.1	2.3	0.4	1.2	0.2	1.2	0.2	2.2	1.7	1.7	0.9	33.0	7.6	3.4	
	DUU4	15.4	2.7	0.5	1.4	0.2	1.4	0.2	2.5	2.0	1.9	1.0	35.7	9.1	4.6		
	DUU5	16.4	2.4	0.4	1.3	0.2	1.2	0.2	2.2	1.7	1.7	0.9	35.9	8.3	3.6		
Confluence Uru-Uru lake and mining rivers		DECPP	37.6	4.2	0.8	2.1	0.3	1.9	0.3	2.4	1.4	3.3	1.6	135	10.5	3.3	

SI.3 Table 2F2.

		ID	Distance	Be	B	Na	Mg	Al	Si	P	K	Ca	Ti	V	Cr	Mn	Fe
Uru-Uru lake	North	WUU12	7.0	1.9	141	6560	8878	62272	<L.D.	901	21316	27204	2564	88.2	41.7	497	28810
		WUU11	9.2	2.2	85.7	9595	10416	67278	<L.D.	669	22324	27154	2742	74.4	37.4	487	24651
		WUU10	9.9	1.8	102	5111	8387	51252	<L.D.	736	16998	58312	1791	63.5	29.9	539	20677
	South	WUU6	14.3	1.8	102	5569	10096	61142	<L.D.	671	19125	60263	1950	75.7	35.0	710	24837
		WUU1	14.4	2.1	129	8042	8449	62471	<L.D.	978	20550	42624	2777	76.8	36.5	868	27097
		WUU4	15.5	2.1	103	4186	10964	67832	<L.D.	736	20677	39625	2185	86.7	39.8	655	29648
		WUU5	16.4	2.2	101	4246	9835	65524	<L.D.	678	20916	39577	2099	90.2	40.6	681	29988
Confluence Uru-Uru lake and mining rivers		WHU1A	19.9	2.1	1061	3258	4422	51294	<L.D.	837	17024	944	2775	81.6	59.9	171	47017
		WHU2B	21.2	2.3	600	6851	8235	78587	<L.D.	1702	24002	4323	3673	105.	56.9	880	48116
		WECPP2	37.4	2.6	124	6807	15821	106940	<L.D.	709	30642	9750	3497	106.	53.2	743	37601
		WECPP1	37.6	5.7	260	4935	10062	75045	<L.D.	809	19185	15106	2224	73.3	38.4	1171	33281
Poopó lake		WPP2	110.4	0.9	349	44125	12925	28638	10793	319	10899	46359	987	37.7	15.3	297	11680
		WPP1	110.4	0.7	272	30986	9046	21473	7205	277	9021	35302	830	31.8	13.0	255	9358

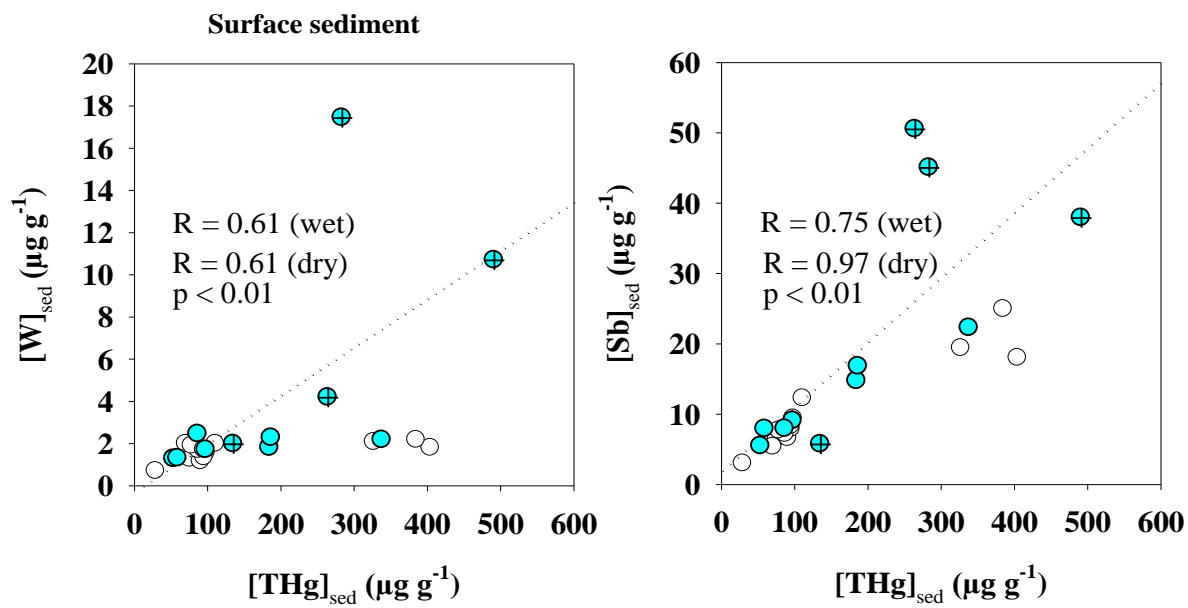
		ID	Distance	Co	Ni	Cu	Zn	Ga	Ge	As	Se	Rb	Sr	Zr	Nb	Mo	Ag
Uru-Uru lake	North	WUU12	7.0	10.5	20.8	47.7	152.6	16.8	0.7	50.7	<L.D.	38.1	439.8	65.9	10.0	2.1	1.1
		WUU11	9.2	8.8	17.2	34.6	90.2	16.2	0.1	41.2	<L.D.	105	451	78.6	10.8	1.0	0.7
		WUU10	9.9	7.4	15.5	41.7	85.0	12.2	0.1	56.1	<L.D.	89.8	665	49.9	7.9	1.8	0.5
	South	WUU6	14.3	8.8	18.0	56.6	96.8	14.4	0.1	60.6	0.1	115.3	696	57.6	11.2	4.6	0.6
		WUU1	14.4	10.0	18.9	41.2	149.8	15.5	1.2	62.4	0.7	120.3	607	80.9	11.8	1.6	1.1
		WUU4	15.5	9.7	20.5	70.9	97.8	16.0	0.4	64.8	0.3	133.3	533	62.6	8.1	2.9	0.4
		WUU5	16.4	10.0	20.6	66.1	99.0	16.1	0.6	60.7	1.2	117.9	510	62.6	7.7	2.0	0.4
Confluence Uru-Uru lake and mining rivers		WHU1A	19.9	6.0	16.5	341	326	26.6	0.2	400	0.4	73.0	85.7	47.7	9.8	2.0	2.5
		WHU2B	21.2	12.5	24.7	259	720	25.3	1.4	418	<L.D.	149	235	81.0	13.0	1.1	3.5
		WECPP2	37.4	13.6	25.8	154	137	20.6	0.2	55.8	<L.D.	244	273	90.8	13.1	1.2	0.6
		WECPP1	37.6	38.7	54.7	435	4519	15.4	1.1	167	0.5	127	254	53.2	10.0	1.1	1.7
Poopó lake		WPP2	110	4.4	8.2	21.1	136	6.6	0.1	30.0	<L.D.	58.8	1295	23.7	4.4	2.6	0.2
		WPP1	110	3.8	7.2	17.9	117	5.4	0.1	27.3	<L.D.	43.1	1025	19.5	4.0	2.4	0.2

		ID	Distance	Cd	In	Sn	Sb	Te	Cs	Ba	La	Ce	Pr	Nd	Sm	Eu	Gd
Uru-Uru lake	North	WUU12	7.0	1.1	<L.D.	23.7	22.2	<L.D.	34.7	509.	23.4	48.3	5.9	22.2	4.6	1.0	3.8
		WUU11	9.2	0.2	<L.D.	6.4	14.7	<L.D.	35.9	682	29.8	59.7	7.0	25.6	5.1	1.2	4.3
		WUU10	9.9	0.3	<L.D.	9.8	9.0	0.1	11.2	440	17.4	34.4	4.2	15.9	3.2	0.8	2.7
	South	WUU6	14.3	0.4	2.7	8.2	7.9	0.1	22.0	509	26.0	51.4	6.1	22.6	4.5	1.0	3.9
		WUU1	14.4	0.6	0.1	23.6	16.8	0.1	26.4	579	25.8	52.8	6.2	22.4	4.7	1.1	4.0
		WUU4	15.5	0.3	2.7	6.9	5.4	0.1	21.4	407	29.1	58.0	6.8	25.2	4.9	1.0	4.1
		WUU5	16.4	0.4	2.2	7.3	7.9	0.1	17.1	459	28.2	56.5	6.6	24.2	4.8	1.0	4.0
Confluence Uru-Uru lake and mining rivers		WHU1A	19.9	2.5	<L.D.	274	45.0	<L.D.	9.8	156	8.9	22.1	2.9	11.2	2.6	0.6	2.1
		WHU2B	21.2	8.2	<L.D.	189	37.9	<L.D.	26.8	890	31.8	66.2	7.8	29.4	6.1	1.4	5.2
		WECPP2	37.4	1.2	<L.D.	5.2	5.7	0.1	35.2	632	58.3	123.8	13.4	49.1	9.4	2.0	8.2
		WECPP1	37.6	37.7	1.2	61.5	50.5	0.1	57.8	476	30.0	72.3	8.7	35.3	9.0	2.2	9.5
Poopó lake		WPP2	110.4	0.7	<L.D.	3.4	3.4	<L.D.	18.4	249	11.7	23.7	2.82	10.4	2.0	0.4	2.1

		WPP1	110	0.6	<L.D.	3.0	3.3	<L.D.	7.4	176	9.4	19.0	2.27	8.4	1.7	0.4	1.4
		ID	Distance	Dy	Ho	Er	Tm	Yb	Lu	Hf	Ta	W	Tl	Pb	Th	U	
Uru-Uru lake	North	WUU12	7.0	2.4	0.4	1.3	0.2	1.2	0.2	2.0	1.3	2.2	0.9	73.7	8.2	3.3	
		WUU11	9.2	2.7	0.5	1.4	0.2	1.4	0.2	2.5	1.5	1.8	0.8	54.3	10.0	2.7	
		WUU10	9.9	1.8	0.3	0.9	0.1	0.9	0.1	1.7	1.3	1.7	0.7	33.0	1.1	3.2	
	South	WUU6	14.3	2.3	0.4	1.2	0.2	1.2	0.2	2.4	1.8	2.4	0.8	40.5	7.6	3.9	
		WUU1	14.4	2.8	0.5	1.5	0.2	1.4	0.2	2.7	2.0	2.3	0.8	81.0	8.8	3.0	
		WUU4	15.5	2.6	0.5	1.3	0.2	1.3	0.2	1.9	1.3	1.3	0.8	29.3	9.5	3.1	
		WUU5	16.4	2.5	0.4	1.3	0.2	1.2	0.2	1.9	1.3	1.3	0.8	31.3	8.3	2.7	
Confluence Uru-Uru lake and mining rivers	WHU1A	19.9	1.4	0.2	0.7	0.1	0.7	0.1	1.4	1.0	17.4	3.1	191	6.8	3.5		
	WHU2B	21.2	3.3	0.6	1.8	0.2	1.6	0.2	2.5	1.4	10.7	2.0	218	11.9	2.9		
	WECPP2	37.4	5.2	0.9	2.7	0.4	2.6	0.4	2.8	1.9	2.0	1.0	49.5	18.9	2.6		
	WECPP1	37.6	6.5	1.1	2.9	0.4	2.3	0.3	2.0	1.5	4.2	1.5	232	9.6	8.9		
Poopó lake	WPP2	110	1.1	0.2	0.6	0.1	0.5	0.1	0.8	1.1	0.8	0.4	16.8	1.4	1.9		
	WPP1	110	0.9	0.2	0.5	0.1	0.4	0.1	0.7	0.9	0.9	0.3	16.8	0.7	1.7		

Supplementary information 4 (SI. 4)

Linear Regressions for surface sediment concentrations of THg versus W, and Sb.



Información suplementaria 2 : Capítulo III

Diurnal variability and biogeochemical reactivity of Hg species in an extreme high altitude lake ecosystem of the Bolivian Altiplano

L. Alanoca¹, D. Amouroux^{1,2*}, M. Monperrus², E. Tessier², M. Goni³, R. Guyoneaud³, D. Acha⁴, C. Gassie³, S. Audry¹, M. E. Garcia⁵, J. Quintanilla⁵, D. Point¹

(1) Géosciences Environnement Toulouse, UMR5563 - IRD UR 234, Université Paul Sabatier, 14 Avenue Edouard Belin 31400 Toulouse, France.

(2) Laboratoire de Chimie Analytique Bio-inorganique et Environnement, IPREM UMR 5254 CNRS - Université de Pau et des Pays de l'Adour, Hélioparc Pau Pyrénées, 2, av. P. Angot, 64053 Pau cedex 9, France.

(3) Equipe Environnement et Microbiologie, IPREM UMR 5254 CNRS - Université de Pau et des Pays de l'Adour, Bâtiment IBEAS, BP1153, F-64013 Pau Cedex France.

(4) Laboratorio de Calidad Ambiental – Instituto de Ecología - Universidad Mayor de San Andres, Campus Universitario de Cota Cota, casilla 3161, La Paz, Bolivia.

(5) Laboratorio de Hidroquímica - Instituto de Investigaciones Químicas - Universidad Mayor de San Andres, Campus Universitario de Cota Cota, casilla 3161, La Paz, Bolivia.

*Corresponding author:

D. Amouroux, Email: david.amouroux@univ-pau.fr

Material and Methods

Study Area:

Lake Uru-Uru is located between coordinates 67° 5' 46" West and 18° 5' 40" South, in the Department of Oruro in Bolivia, South America. Geographically, the aquatic system studied is located in the South-West section of the Bolivian Altiplano, bordered to the East by the Eastern cordillera of the Andes and to the North-West by the Corque-Andamarca hills. The Lake Uru-Uru aquatic system formed in 1962 as a result of flooding from the Desaguadero River, flowing out from Lake Titicaca (UNEP, 1996). These water resources, together with Lake Poopó and the salars of Uyuni and Coipasa, form the Altiplano closed endorheic basin (TPDS). Lake Uru-Uru is regulated by the Desaguadero River and rainfall contributions. The lake's surface area varies with yearly seasonal changes (dry season and wet season) and with extreme events such as the Niño or Niña phenomena. During the rainy or wet season, its surface area increases to 350 km², shrinking to 120 km² in the dry season.

Environmental conditions on the Altiplano are determined by the altitude (3686 meters above sea level) and the latitude (ca. 18° South). The climate is semi-arid and cold, with temperatures that may range over the course of the same day from -4°C (at dawn) to 20°C (after midday). Rainfall during the wet season accounts for 51% of annual water contributions in the North of the region and 81% in the South (Guyot et al., 1990). The quantity of rainfall ranges from 750 mm per year in the North to 160 mm per year in the South (Condom et al., 2004), and rainfall patterns are the same throughout the region. Water loss in the basin is mainly due to evaporation, at an estimated 1600 mm per year. Prevailing winds are in a South-Westerly direction during the wet season and Westerly during the dry season. Because of the high altitude and the geographical location of Lake Uru-Uru (tropical zone), levels of solar and UV radiation are usually high during the wet season because of the Earth's position in relation to the sun. However, this radiation is lessened by cloud, with lower levels of solar radiation reaching the ground on cloudy days. In the dry season, in contrast, the sky is usually cloudless, and therefore higher levels of solar radiation (500 W m⁻²) reach the ground on the Altiplano (Villafañe and Helbling, 2003).

Locations in the North and the South of Lake Uru-Uru were studied because of their differences in terms of physical and chemical characteristics, water column levels and the types of pollution to which they are subjected. For several years, this aquatic system has acted as a sink for large quantities of mining and urban waste. The Northern part of the ecosystem is polluted by mining waste discharge from San José mine with high content of heavy metals (Garcia Moreno, 2006) and urban waste discharge both organic (untreated sewage and waste water) and solid (plastic bags and bottles) from Oruro city. The final Southern section is

polluted by large quantities of untreated solid waste and acid drainage from mines, with high concentrations of heavy metals from Huanuni mine (Garcia Moreno, 2006), as well as household waste in the form of solid plastic from Huanuni population.

The sampling site on Lake Titicaca was performed relatively shallow (5m depth) near shore area of the Lago Menor section near the city of Huatajata (La Paz Dpt, Bolivia, Lat. 16° 15' 27.10" S; Long. 68° 43' 5.34" W), while the sampling site on Lake Poopó was located in eastern part of the lake near the city of Challapata (Oruro Dpt, Bolivia, Lat. 18° 59' 52.27" S; Long. 66° 51' 42.43" W).

Sampling and Analytical protocols

Sample processing

To determine the content of dissolved and total Hg species, 100 mL of filtered (dissolved) and unfiltered samples were stored in Teflon PFA flasks (Nalgene, USA) and acidified with HCl Ultrex (Baker) to 1% v/v. Some of the filtered samples were acidified with HNO₃ Ultrex (Baker) to 1% v/v in order to analyze heavy metals/cations, and others were treated with H₃PO₄ bi-distilled to 2% v/v to determine dissolved organic carbon (DOC) content. All samples were stored at 4°C for transportation and further analysis in the laboratory. A final set of the filtered samples was frozen for the analysis of anions.

To ensure that the samples were not contaminated, the materials used in the sampling and the conservation flasks were subjected to prior cleaning treatment. The PFA Teflon, Polypropylene and Pyrex glass flasks and PVDF filters were cleaned using successive acid baths and dried under a laminar flow hood, while the gold traps were burned at 600°C. Each of the clean materials was kept in three hermetically sealed ziplock bags until they were used in the field.

Gaseous species were collected in situ from bulk water samples immediately purged (generally within ~0.5 h after sampling) and collected on a gold-coated sand (Brooks Rand®) and activated Charcoal (Carbotrap®) traps, respectively.

Transformation assays protocols

Two sets of unfiltered water samples were incubated in triplicate with the addition of isotopically enriched Hg species ¹⁹⁹HgCl₂ (2 ng L⁻¹) and MM²⁰¹HgCl (0.1 ng L⁻¹) in 125 mL Teflon FEP flasks. The first set was placed in the environmental conditions of Lake Uru-Uru, while the second set was isolated from sunlight. After 24 hours the incubation processes were stopped by adding high-purity HCl (1% v/v), and then kept in darkness at -4 °C. Control tests

(initial time) were conducted by stopping the reactions immediately before the addition of the isotopic tracers.

Another set of water samples, also in triplicate, was incubated with the same Hg isotopic tracers concentration levels ($^{199}\text{HgCl}_2$ 2 ng L⁻¹ and $\text{MM}^{201}\text{HgCl}$ 0.1 ng L⁻¹) to determine Hg reduction. These were incubated under similar conditions to those used to determine M and D, with the difference that, at the end of the 24 hours, the $^{199}\text{Hg}^0$ was immediately recovered in gold traps by purging the water samples with high-purity nitrogen gas (N₂) (Monperrus et al., 2007).

Samples of sediment, periphyton and floating bio-organic aggregates were also incubated with isotopic tracers $^{199}\text{HgCl}_2$ and $\text{MM}^{201}\text{HgCl}$, in order to assess M and D potentials. Surface sediment were collected at a depth of between 0 and 1 cm. The periphyton samples were taken from the sides of the stems of *Totora* plants in contact with the water. The samples of floating bio-organic aggregates were collected from the surface of the water column in which they were suspended.

For samples of sediment, periphyton and floating bio-organic particles, the incubations were conducted on mixtures obtained from 5 grams of fresh solid sample and 5 grams of water from the studied site. The mixtures, in triplicate, were placed in 15 ml borosilicate flasks and incubated with $^{199}\text{HgCl}_2$ (100 ng g⁻¹) and $\text{MM}^{201}\text{HgCl}$ (0.5 ng g⁻¹), under similar conditions as for the water samples. The experiments were stopped at the end of one day by frozen at -80 °C (Gentes et al., 2013). Control tests (initial time) were conducted by stopping the reactions immediately after the addition of the isotopic tracers.

Analytical protocols

Hg species analysis in water, sediment and biological substrates were performed by capillary gas chromatography connected to an inductively coupled plasma mass spectrometer (GC-ICPMS, Trace). Analytical set-up and methodology for the GC-ICPMS for Hg speciation analysis are described in detail in (Monperrus et al., 2005b; Monperrus et al., 2008). The analysis of the gaseous Hg species (i.e. Hg^0 and DMHg) was carried out by thermal desorption of the traps (gold traps and carbotraps, respectively) cryogenic trapping gas chromatography connected to an inductively coupled plasma mass spectrometer (CT-GC-ICPMS) according to Bouchet et al. (2011).

The amount of exogenous Hg species deriving from the enriched isotopes 199 and 201 (MM^{199}Hg , MM^{201}Hg , ^{199}Hg (II), ^{201}Hg (II)) after the incubation period and endogenous Hg species were calculated by isotopic pattern deconvolution methodology (Rodriguez-Gonzalez et al., 2013). Hg transformation yields for methylation (M) and demethylation (D) can then be

calculated by dividing the total amount of MM¹⁹⁹Hg formed by the amount of ¹⁹⁹Hg(II) spiked and the amount of MM²⁰¹Hg disappearing by the amount of MM²⁰¹Hg added, respectively. The reduction yield (R) is calculated by dividing the amount of ¹⁹⁹Hg⁰ formed by the amount of ¹⁹⁹Hg(II) spiked. Cations were determined by means of atomic absorption spectroscopy, and heavy metals by means of ICP-MS quadrupole 7000 ce, Agilent Technologies, which enabled multiple elements to be determined in the water samples. Dissolved organic carbon was determined by means of the Shimadzu TOC-V_{CSN} organic carbon analyzer. Organic and inorganic carbon and sulfur in the suspended solids and sediments were analyzed by means of a Horiba JobinYvon Ema-320v C/S analyzer.

Evaluation of the net Hg Methylation from incubation experiments and diurnal cycles

Net production/degradation of MMHg over a full day, which we define as net Hg methylation potential, was calculated from the results obtained with samples exposed to and protected from sunlight (diurnal and in darkness) using equation 1 (Monperrus et al., 2007a); Bouchet et al., 2013). The equation takes into account natural concentrations of IHg, MMHg (Tables A, B, ESI) and M and D potentials (Tables 1, 2); whichever is relevant in each case (water or sediment).

$$MMHg \text{ net prod.} = ([IHg] * M) - ([MMHg] * D) \quad \text{Equation 1.}$$

Where *MMHg net prod.* is net methylHg production potential (ng MMHg L⁻¹ d⁻¹ or ng MMHg g⁻¹ d⁻¹); *[IHg]* the concentration of natural inorganic Hg; *[MMHg]* (ng L⁻¹ or ng g⁻¹) the concentration of natural methylHg; and *M* and *D* Hg methylation and MMHg demethylation potentials (%). It is important to note that such estimation provide an average daily integrated variation of MMHg concentrations, comparable with previous studies, but which does not take into account specific variability at lower time scale.

In this context, water diurnal cycles surveys of MMHg concentrations were very useful to assess any production or degradation trend during the course of the day and night. Equation 2 was used to determine the concentrations of MMHg produced or degraded during the day or the night within the water column. Thus it was possible to estimate a net methylation during night from sunset to sunrise (from ca. 18 h to 06 h, local time). Like wise, net demethylation reaction was assessed during the daytime (from ca. 06h to 18h, local time).

$$\Delta MMHg \text{ cycle} = \frac{[MMHg]_{tf} - [MMHg]_{t0}}{(tf - t0)} \quad \text{Equation 2.}$$

In equation 2, $\Delta\text{MMHg cycle}$ is the variation in MMHg concentration over the course of 24 hours; $[\text{MMHg}]_{t_f}$ and $[\text{MMHg}]_{t_0}$ are the concentration of methylHg (ng L^{-1}) at chosen initial and final times t_f and t_0 (ie. from sunrise to sunset or sunset to sunrise). These *in situ* assessment of net methylation or demethylation during the time course of the diurnal cycle have allowed to distinguish specific dynamic processes occurring in the aquatic system which were not observable during our 24 h incubation experiments with stable isotopes. In this sense, the comparison between both approaches is also providing new insights to depict the biogeochemical processes governing MMHg formation.

Comparison between MMHg diurnal cycles and transformation potentials

We propose here to compare the diurnal variation of MMHg concentrations in water over a 24-hour period with the net M potentials obtained during the 24 hours incubation experiments. Diurnal variation of MMHg concentrations was calculated by means of equation 2 (details in SM). Net M is obtained from equation 1 and all data were integrated over the water column depth (Table C). Diurnal MMHg production in surface water at the SS site in the dry season ($45.5 \pm 12.0 \text{ ng m}^{-2} \text{ d}^{-1}$) (Table C) is higher than that obtained from the experiment with Hg enriched isotopes over 24h ($-9.5 \pm 30.2 \text{ ng m}^{-2} \text{ d}^{-1}$). The high MMHg value in water, assessed over a 24-period, probably reflects the quantities of MMHg released from sediment, floating organic substrates and suspended matter in the water column (Table 3 and references therein). The same phenomenon was observed at NS site during the wet season, with the difference that MMHg concentration in a 24-hour period ($456.4 \pm 76.1 \text{ ng m}^{-2} \text{ d}^{-1}$) was 10 times higher than at SS during the dry season (Table C).

Both methylation and demethylation potentials in the water were nil (Table 1). To explain such difference, it is possible that MMHg input or removal during the night and the day, respectively, are tightly related to significant exchange with other aquatic compartments such as sediment and/or bio-organic substrate (see below). Several studies have also proposed that benthic fluxes and various types of “biofilm” are significant sources or sink of Hg to the water column (Point et al., 2007b; Bouchet et al., 2013; Lanza et al., 2015).

24 h incubations were not able to depict the reactivity of Hg below a daily scale, thus probably underestimating the diurnal variability of Hg species in the water column. On the other hand, they allow to establish a clear mass balance of the Hg species within a 24 h cycle within the water column and without any contribution from other compartments. Thus simultaneous *in situ* measurements and incubation over 24 h are relevant and complementary to unravel the processes affecting MMHg in such complex ecosystem.

References :

- Bouchet S., Tessier E., Monperrus M., Bridou R., Clavier J., Thouzeau G., Amouroux D., 2011. Measurements of gaseous Hg exchanges at the sediment-water, water-atmosphere and sediment-atmosphere interfaces of a tidal environment (Arcachon Bay, France). *J. Environ. Monitor.* 13: 1351.
- Bouchet, S., Amouroux, D., Rodriguez-Gonzalez, P., Tessier, E., Monperrus, M., Thouzeau, G., Clavier, J., Amice, E., Deborde, J., Bujean, S., Anschutz, P., Grall, J., 2013. MMHg production and export from intertidal sediments to the water column of a tidal lagoon (Arcachon Bay, France). *Biogeochem.* 114, 341-358.
- Condom, T., Coudrain, A., Dezetter, A., Brunstein, D., Delclaux, F., Sicart, J-E., 2004. Transient modelling of lacustrine regressions: two case studies from the Andean Altiplano. *Hydrol.Process.* 18, 2395-2408.
- García M.E., 2006. Transport of Arsenic and Heavy Metals to Lake Poopó – Bolivia Natural Leakage and Antropogenic Effects. Thesis, Lund, Sweden.
- Gentès, S., Monperrus, M., Legeay, A., Maury-Brachet, R., Davail, S., André, J., Guyoneaud, R., 2013. Incidence of invasive macrophytes on methylHg budget in temperate lakes: central role of bacterial periphytic communities. *Environ. Pollut.* 172, 116-123.
- Guyot, J.L., Roche, M.A., Noriega, L., Calle, H., Quintanilla, J., 1990. Salinities and Sediment Transport in the Bolivian Highlands. *J. Hydrology*, 113, 147-162.
- Monperrus, M., Rodriguez-Gonzalez, P., Amouroux, D., Garcia Alonso, J.I., Donard, O.F.X., 2008. Evaluating the potential and limitations of double spiking species-specific isotope dilution analysis for the accurate quantification of Hg species in different environmental matrices. *Anal. Bioanal. Chem.* 390, 655-666.
- Monperrus, M., Tessier, E., Amouroux, D., Leynaert, A., Huonnic, P., Donard, O.F.X., 2007. Hg methylation, demethylation and reduction rates in coastal and marine surface waters of the Mediterranean. *Sea. Mar. Chem.* 107, 49-63.
- Monperrus, M., Tessier, E., Veschambre, S., Amouroux, D., Donard, O.F.X., 2005. Simultaneous speciation of Hg and butyltin compounds in natural waters and snow by propylation and species specific isotope dilution mass spectrometry analysis. *Anal. Bioanal. Chem.* 381, 854-862.
- Rodriguez-Gonzalez, P., Bouchet, S., Monperrus, M., Tessier, E., Amouroux, D., 2013. In situ experiments for element species-specific environmental reactivity of tin and Hg compounds using isotopic tracers and multiple linear regressions. *Environ. Sci. Pollut. Res.* 20, 1269-1280.
- UNEP, 1996. Diagnóstico Ambiental del Sistema TDSP. División de Aguas Continentales de las Naciones Unidas para el Medio Ambiente.
- Villafañe, V.E., Helbling E.W., 2003. Radiación ultravioleta solar en el lago Titicaca, Bolivia: Efectos y adaptación de los organismos planctónicos. *La radiación ultravioleta en Bolivia.* 7, 85-98.

TABLES

Table A. Concentration average and range of Hg species in the water column of Uru-Uru Lake at Southern (SS) and Northern (NS) stations in October 2010 (late dry season) and May 2011 (late wet season) obtained during diurnal sampling cycles (24 hours). Temperature, pH, conductivity and dissolved oxygen average and range values are also indicated.

Station	Season	Hg _T ng L ⁻¹	MMHg _T ng L ⁻¹	IHg _T ng L ⁻¹	IHg _d ng L ⁻¹	MMHg _d ng L ⁻¹	MMHg _p ng L ⁻¹	MMHg _d %	DMHg pg L ⁻¹	Hg ^o pg L ⁻¹	Temp °C	pH	Cond mS cm ⁻¹	O ₂ mg L ⁻¹
SS	Dry	3.1±1.7	0.7±0.2	2.5±0.1	0.26±0.04	0.4±0.1	0.3±0.1	57.2±5.5	0.5±0.1	16.8±11.7	16.3±3.3	7.9±0.2	6.2±0.5	6.5±1.7
	<i>Range (n=11)</i>	<i>1.4-4.9</i>	<i>0.4-1.0</i>	<i>1.2-6.3</i>	<i>0.2-0.3</i>	<i>0.2-0.5</i>	<i>0.2-0.5</i>	<i>43.9-64.2</i>	<i>0.3-0.7</i>	<i>3.3 - 43.5</i>	<i>11.9-21.5</i>	<i>7.0-8.2</i>	<i>5.5-6.8</i>	<i>4.7-9.4</i>
	Wet	1.4 ±0.3	0.3±0.1	1.1±0.2	1.2±0.7	0.20±0.04	0.1±0.1	23.1±9.0	0.07±0.02	49.7±43.8	13.9±1.2	8.1±0.3	3.1±0.1	4.6±0.6
	<i>Range (n=12)</i>	<i>1.0-1.8</i>	<i>0.2-0.5</i>	<i>0.7-1.7</i>	<i>0.2-2.5</i>	<i>0.2-0.3</i>	<i>0.02-0.24</i>	<i>12.6-39.1</i>	<i><0.04 -0.09</i>	<i>6.3-124.7</i>	<i>12.4-16.0</i>	<i>7.8-8.4</i>	<i>3.0-3.2</i>	<i>3.7-5.8</i>
NS	Wet	5.8 ±0.9	3.2±0.9	2.5±0.3	1.3±0.3	2.5±0.9	0.7±0.4	64.4±8.3	1.3±0.3	39.8±14.3	13.4±2.3	9.6±0.3	8.8±0.2	8.2±3.9
	<i>Range (n=6)</i>	<i>4.6-7.0</i>	<i>2.0-4.5</i>	<i>2.3-3.1</i>	<i>1.0-1.7</i>	<i>1.8-3.8</i>	<i>0.03-1.17</i>	<i>52.8-74.1</i>	<i>1.0-1.6</i>	<i>26.0-59.9</i>	<i>9.9-16.2</i>	<i>9.2-10.1</i>	<i>8.5-8.9</i>	<i>3.3-12.5</i>

Table B. Concentrations of Hg species (mean \pm SD, n = 3) in sediments and “biofilms” of the Uru-Uru Lake at SS and NS during late dry and wet seasons (October 2010 and May 2011). Organic carbon and total sulfur content are also given.

Matrix	Station	Season	MMHg ng g ⁻¹	IHg ng g ⁻¹	Hg _T ng g ⁻¹	MMHg %	C org. %	S %
Surfacediments (0-1 cm)	NS	Dry	1.5 \pm 0.2	393.9 \pm 35.4	395.3 \pm 35.6	0.4	5.98	1.01
		Wet	4.0 \pm 1.3	244.7 \pm 3.2	248.8 \pm 4.4	1.6	5.7	0.9
	SS	Dry	1.0 \pm 0.1	250.6 \pm 11.8	251.6 \pm 11.9	0.4	5.98	1.10
		Wet	0.9 \pm 0.2	200.4 \pm 11.7	201.3 \pm 11.9	0.5	5.6	1.2
	TC	Dry	0.09 \pm 0.00	27.0 \pm 0.02	27.1 \pm 0.02	0.3	n.a	n.a
	PP	Wet	0.23 \pm 0.01	74.8 \pm 5.8	75.7 \pm 5.8	0.3	2.8	6.6
bio- organicaeggregates	SS	Dry	13.5 \pm 0.8	86.4 \pm 13.5	99.9 \pm 14.3	13.5		
Totoras’ periphyton	NS	Wet	16.1 \pm 3.2	33.5 \pm 2.5	49.6 \pm 5.7	32.4		

Table C. Comparison of Diurnal Net Hg Methylation Hg (cycle 24-hour in the water column) with Diurnal Net Hg Methylation (incubated waters), in both Northern (NS) and Southern (SS) site of Uru-Uru Lake.

Station	Season	Diurnal cycle	Diurnal incubation
		Net Methylation (ng m ⁻² d ⁻¹)	Net Methylation (ng m ⁻² d ⁻¹)
NS	Dry	n.a.	49.1 \pm 78.4
	Wet	456.4 \pm 76.1	-57.4 \pm 40.2
SS	Dry	45.5 \pm 12.0	-8.5 \pm 29.1
	Wet	-114.3 \pm 26.1	-0.6 \pm 2.1

FIGURES

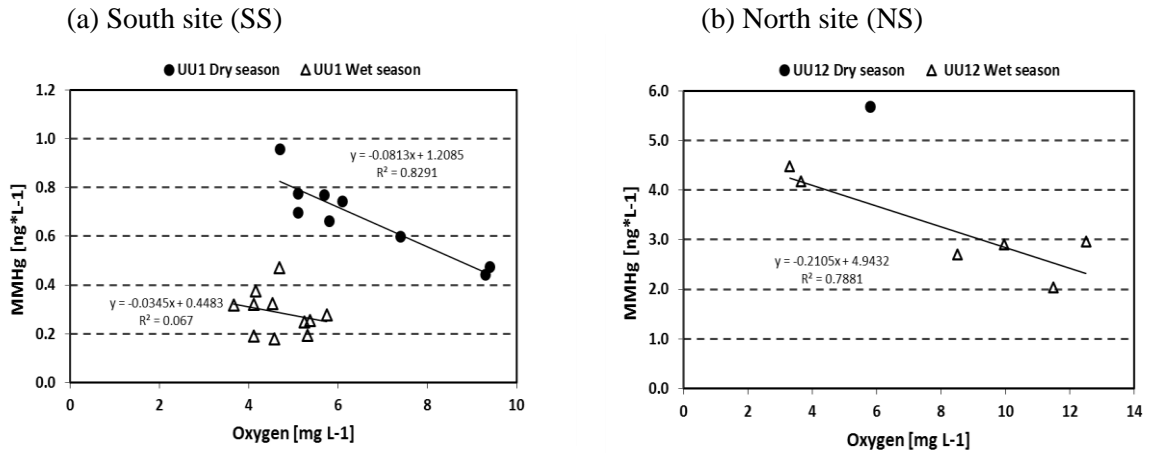


Figure A. Linear regression relationship between total methylHg (MMHg_T) and dissolved Oxygen in the water column at (a) South Site (SS) and (b) North Site (NS), for both dry and wet seasons.

Artículo 1 : Synergistic effects of mining and urban effluents on the level and distribution of methylHg in a shallow aquatic ecosystem of the Bolivian Altiplano

PAPER



CrossMark
click for updates

Cite this: *Environ. Sci.: Processes Impacts*, 2016, **18**, 1550

Synergistic effects of mining and urban effluents on the level and distribution of methylmercury in a shallow aquatic ecosystem of the Bolivian Altiplano†

L. Alanoca,^{ab} S. Guédron,^{*bcd} D. Amouroux,^{ef} S. Audry,^a M. Monperrus,^e E. Tessier,^e S. Goix,^a D. Acha,^f P. Seyler^a and D. Point^{af}

Lake Uru Uru (3686 m a.s.l.) located in the Bolivian Altiplano region receives both mining effluents and urban wastewater discharges originating from the surrounding local cities which are under rapid development. We followed the spatiotemporal distribution of different mercury (Hg) compounds and other metal(oid)s (e.g., Fe, Mn, Sb, Ti and W) in both water and sediments during the wet and dry seasons along a north-south transect of this shallow lake system. Along the transect, the highest Hg and metal(oid) concentrations in both water and sediments were found downstream of the confluences with mining effluents. Although a dilution effect was found for major elements during the wet season, mean Hg and metal(oid) concentrations did not significantly differ from the dry season due to the increase in acid mine drainage (AMD) inputs into the lake from upstream mining areas. In particular, high filtered (<0.45 μm) monomethylmercury (MMHg) concentrations ($0.69 \pm 0.47 \text{ ng L}^{-1}$) were measured in surface water representing $49 \pm 11\%$ of the total filtered Hg concentrations (THgF) for both seasons. Enhanced MMHg lability in relation with the water alkalinity, coupled with abundant organic ligands and colloids (especially for downstream mining effluents), are likely factors favoring Hg methylation and MMHg preservation while inhibiting MMHg photodegradation. Lake sediments were identified as the major source of MMHg for the shallow water column. During the dry season, diffusive fluxes were estimated to be $227 \text{ ng m}^{-2} \text{ d}^{-1}$ for MMHg. This contribution was found to be negligible during the wet season due to a probable shift of the redox front downwards in the sediments. During the wet season, the results obtained suggest that various sources such as mining effluents and benthic or macrophytic biofilms significantly contribute to MMHg inputs in the water column. This work demonstrates the seasonally dependent synergistic effect of AMD and urban effluents on the shallow, productive and evaporative high altitude lake ecosystems which promotes the formation of natural organometallic toxins such as MMHg in the water column.

Received 5th October 2016
Accepted 11th November 2016

DOI: 10.1039/c6em00547k

rsc.li/process-impacts

Environmental impact

Lakes and reservoirs are the central feature of high altitude landscapes since they are unique endemic ecological systems that provide water and halieutic resources for human life. The recent urban development of bordering cities with their associated mining activities disturbs these fragile ecosystems. By understanding the fate and behavior of metal(oid)s (originating from anthropogenic inputs; e.g., wastewater and mining effluents) in these aquatic ecosystems, we can identify the major (a)biotic pathways and biogeochemical conditions that favor or restrict the production and trophic transfer of toxic contaminants to biota and humans. Finally, this contribution will help and be used to inform policy makers for water resource mitigation and monitoring efforts.

^aGéosciences Environnement Toulouse, UMR5563, IRD UR 234, Université Paul Sabatier, 14 Avenue Edouard Belin, 31400 Toulouse, France

^bLaboratorio de Hidroquímica, Instituto de Investigaciones Químicas, Universidad Mayor de San Andrés, Campus Universitario de Cota Cota, Casilla 3161, La Paz, Bolivia. E-mail: stephane.guedron@ird.fr

^cInstitut de Recherche pour le Développement, ISTERre, UMR 5275, F-38041 Grenoble, France

^dUniversité Grenoble Alpes, Institut des Sciences de la Terre (ISTerre), F-38041 Grenoble, France

^eLaboratoire de Chimie Analytique Bio-inorganique et Environnement (LCABIE), Institut des Sciences Analytiques et de Physico-Chimie pour l'Environnement et les Matériaux, IPREM UMR 5254 CNRS, Université de Pau et des Pays de l'Adour, Hélioparc Pau Pyrénées, 2, av. P. Angot, 64053 Pau Cedex 9, France

^fLaboratorio de Calidad Ambiental (LCA), Instituto de Ecología, Universidad Mayor de San Andrés, Campus Universitario de Cota Cota, Casilla 3161, La Paz, Bolivia

† Electronic supplementary information (ESI) available. See DOI: 10.1039/c6em00547k

1. Introduction

As early as the sixteenth century, major expeditions searched for gold, silver and other precious metals in the “New World”.¹ Amongst other countries occupied by the Spanish, Bolivia became one of the major mining centers of the new world. In particular, the region of Oruro-Potosi in the Bolivian Altiplano, is one of the world's largest silver resources.^{2,3} It was the largest mining region occupied by the Spanish monarchy in 1545. Currently, Bolivian mining activities are essentially cooperative and semi-industrial with approximately 60 000 miners, representing almost 90% of the national mining employment.⁴ These mining activities are mostly dedicated to silver (Ag), gold (Au), bismuth (Bi), copper (Cu), zinc (Zn), tungsten (W) and particularly, tin (Sn) and antimony (Sb) extraction.⁵

From these extractive activities, significant volumes of mine tailing and acid waters from ore-washing operations are deposited or discharged into the surrounding mining soil or directly into rivers. Downstream of the Oruro mining region are Lakes Uru Uru and Poopó, both receiving acid mine drainage (AMD) which results in serious contamination of surface water and sediments.^{6–8} In addition, elevated Hg concentrations, above $0.5 \mu\text{g g}^{-1}$ have been reported in fish and birds.^{9,10}

In many mining districts around the world, Hg contamination has been highlighted as a major concern for the population as Hg is known to bioaccumulate in the trophic chain and can cause major health problems particularly in its organometallic form (*i.e.*, monomethylmercury – MMHg) which can induce nervous system dysfunction.^{11–13} Very little information is available concerning the speciation and reactivity of mercury compounds in such high-altitude lakes affected by mining activities and the associated biogeochemistry of this contaminant. MMHg is known to be produced in suboxic and anoxic environments and favored by microorganisms such as sulfate and iron reducing bacteria,^{14,15} and/or from abiotic pathways.¹⁶ It is important to note that MMHg concentrations reflect the balance between the production and degradation pathways, with MMHg degradation being microbially mediated (*e.g.*, oxidative and reductive demethylation) or resulting from photodegradation.^{17,18} High altitude lake ecosystems (above 3700 m a.s.l.) from the Bolivian Altiplano region, combine several of these conditions as their sedimentary substratum is mainly composed of sulfate-rich alluvium¹⁹ and the levels of dissolved oxygen are low. Preliminary field investigations²⁰ conducted in the Lake Uru Uru ecosystem using enriched Hg stable isotopes revealed significant methylation and demethylation transformation rates. The sediment compartment was found to represent a major source of MMHg formation (2.0 to $19.7 \text{ ng MMHg g}^{-1} \text{ d}^{-1}$), although floating organic aggregates were also found to promote MMHg formation. Periphyton associated with aquatic totora plants (*Schoenoplectus totora*) was found to play a role in MMHg degradation. Strong diurnal and seasonal MMHg variations were also reported suggesting that temperature and oxygen production/respiration gradients occurring in the high altitude lake systems of the Bolivian Altiplano region are likely to be the key parameters influencing Hg biogeochemistry.

In this study, we discuss the particle reactivity and the partition of different Hg compounds (*i.e.*, Hg, MMHg, dimethylmercury – DMHg and dissolved gaseous mercury – DGM), along with various metals and metalloids, along a north-south transect across Lake Uru Uru during dry and wet seasons. The compartments under study were the filtered water phase, suspended solids, sediments, and pore water. This complementary and dedicated level of measurements across a contamination gradient provides relevant information to document the spatiotemporal reactivity and fate of Hg in this high altitude lake ecosystem with regard to changes in physicochemical parameters, carrier phases (dissolved ligands and solid particles), and sources of Hg contamination.

2. Materials and methods

2.1. Study area

2.1.1 The Bolivian Altiplano: general setting. The Bolivian Altiplano region is a high altitude plateau (average altitude ~ 3750 m. a.s.l.) located in west-central South America. The Altiplano is an endorheic basin lying in the central Andes, occupying parts of northern Chile and Argentina, western Bolivia and southern Peru.

The climate is semi-arid to arid, with mean annual temperatures that vary from $3 \text{ }^\circ\text{C}$ near the western mountain range to $12 \text{ }^\circ\text{C}$ near Lake Titicaca; and total annual rainfall that ranges from less than 200 mm to the south west to 1400 mm near and over Lake Titicaca.^{21,22} The diurnal temperature cycle is very wide, with maximum temperatures in the order of 12 to $24 \text{ }^\circ\text{C}$ and the minimum in the order of -20 to $10 \text{ }^\circ\text{C}$. The coldest temperatures occur during the months of June and July, which correspond to the Austral winter.^{22,23} The seasonal cycle of rainfall is marked, with the rainy season between December and March. Due to its high altitude, the atmospheric pressure (and oxygen content) are low while solar radiation is high. The southern part of the Altiplano basin receives $39.4 \times 10^9 \text{ m}^3$ of water annually, of which 4% originates from the Desaguadero River.²⁴ Evaporation is estimated to be $\sim 1665 \text{ mm}$ per year.²⁵

2.1.2 Lake Uru Uru. Lake Uru Uru is located in the central part of the Bolivian Altiplano region (Fig. 1), to the south of Oruro city where numerous mining and smelting activities are concentrated. This aquatic ecosystem is part of the TDPS (Titicaca-Desaguadero-Poopó-Salar) watershed and is a man-made reservoir resulting from the creation of a dam which allowed the filling of the Santo Tomas plain by the Desaguadero River originating from Lake Titicaca. Lake Uru Uru's surface area varies between 120 and 350 km^2 and its depth between 0.25 and 1 m, as a function of the dry and wet seasons. A strong contrast exists between the northern and southern parts of the lake with a higher density of sedge (*Schoenoplectus totora*), grass (*Ruppia*) and algae (Characeae) in the southern part compared to the north.¹⁹ A previous investigation²⁰ studied 24 h biogeochemical cycles and demonstrated that diurnal variability (*e.g.*, temperature, oxygen) in Lake Uru Uru can overwhelm seasonal variations, with the stronger diurnal gradients being observed during the dry season.

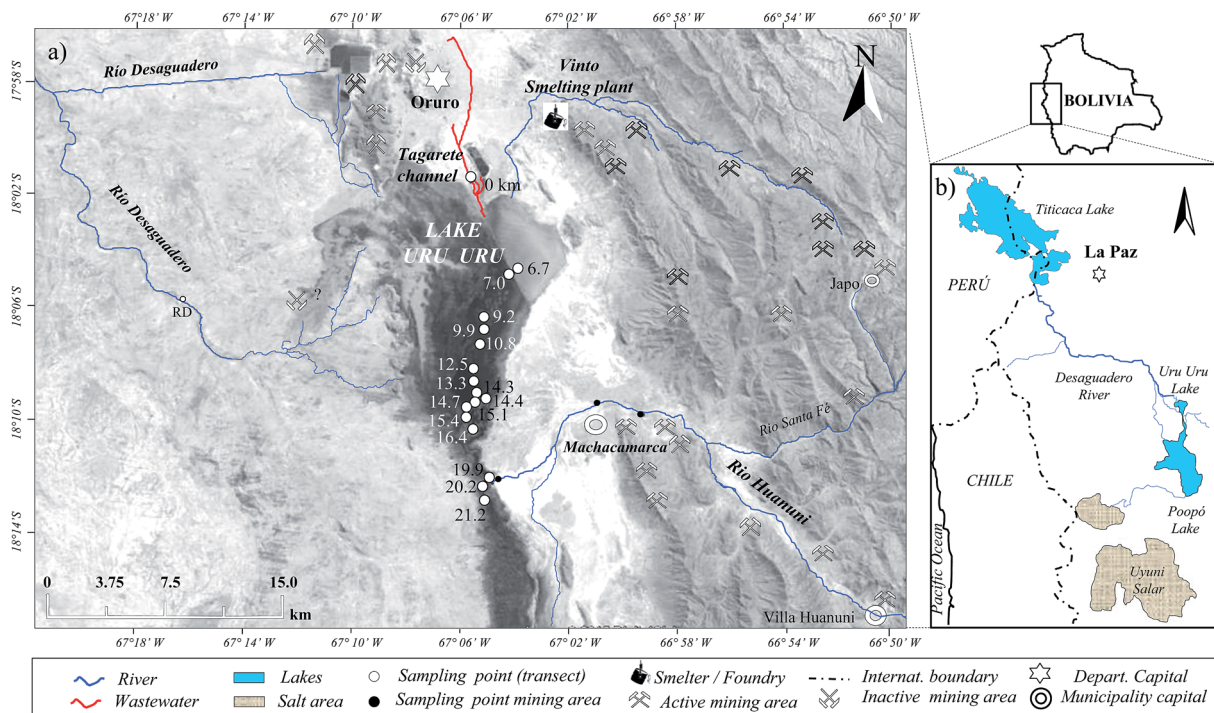


Fig. 1 Map of Lake Uru Uru in the Bolivian Altiplano, with sampling locations (white circles) along the transect (presented as kilometric points from the Tagarete wastewater channel). The main rivers affected by mining or urban effluents are also reported.

2.1.3 Historical and current anthropogenic (urban and mining) activities in the watershed. Mining is the major activity and source of revenue for the local inhabitants of the Oruro region.²⁶ The area is located in the Bolivian tin–silver belt which is typically associated with felsic volcanic domes of broadly rhyodacitic composition. These fractionated igneous rocks are assignable to ilmenite series.² The tin–silver deposits are characteristically of the vein type, with the ore comprising polymetallic massive sulfides with only relatively minor amounts of gangue. Well-developed metal zoning typifies many of the vein systems, with base metals and silver tending to increase both upwards and outwards at the expense of tin, bismuth and tungsten.^{27,28}

The Desaguadero River, the main tributary into Lake Uru Uru, enters the lake in (i) the north-eastern part where it drains the active San José mining area and (ii) in the western part, an area of historical mining⁸ (see Fig. 1). In the northern part of the lake, the Tagarete River, a second tributary, drains the untreated wastewater from Oruro city. A third tributary, located in the northeast, flows through the Vinto (Sb–Sn) smelting area and the region of the San José mine.⁶ Finally, in the southern part of the lake, the Huanuni River drains the Huanuni mining area (receiving direct dumping of the untreated tailings of the state-owned Huanuni Sn mine) and also receives domestic sewage from this urban area (Fig. 1). Dominant mineral deposits are composed of hydrothermal ores dominated by cassiterite (SnO_2) accompanied with various silver bearing sulfosalts enriched with W, Sb, Ag, Zn and Pb.²⁹ Throughout the entire mining district, mineral separation is performed by grinding the ore, and metal

extraction is performed using the flotation process (addition of the chemical flotation agent (xanthate) and sulfuric acid) combined with physical separation of the tin and silver minerals from the ore. Finally, mine tailings are generally deposited into the bordering rivers generating AMD which leads to the drop in the river pH to below pH 2.²⁹ In the case of gold extraction (mostly in the Oruro city area), Au is mainly reported to be recovered by cyanidation and smelting.³ However, many small-scale artisanal gold mining activities are present in the area but their processes are barely documented. Although historical mining activities were known to use large amounts of Hg for Ag extraction, it is unclear if current mining processes (including Ag and Au extraction) use Hg for metal extraction or if Hg originates from the ores (or both).

2.2. Sample strategy

2.2.1 Sampling strategy. Surface water and surface sediments (0–2 cm) were collected in the late dry season (October 2010) and wet season (May 2011) in order to maximize the hydrological contrast, along a north-south transect in Lake Uru Uru and its tributaries (*i.e.*, the Desaguadero, El Choro and Huanuni Rivers). Two additional samples were collected from the northern part of Lake Poopó (Fig. 1). All samples were collected between 12:00 and 3:00 p.m. (the period of maximum insolation), for a meaningful comparison of samples collected to minimize the effects of diurnal variability.²⁰

2.2.2 Sample conditioning. All details of the sampling and analytical procedures are described by Alanoca *et al.*²⁰ and in ESI 1†. Briefly, all filtered and unfiltered surface water samples for

Hg speciation were collected in acid-washed FEP Teflon containers,³⁰ filtered with 0.45 μm PVDF filters (Millipore, Bedford, MA, USA) and acidified with HCl (1%, v/v, Ultrex grade – Baker). Filtered subsamples of metals and cations were stored in acid washed polypropylene 15 mL vials, and acidified with HNO₃ (1% v/v, Ultrex grade – Baker). Filtered subsamples of dissolved organic carbon (DOC), were stored in 40 mL pre-burnt (550 °C) borosilicate vials and acidified with H₃PO₄ bi-distilled to 2% v/v. Filtered samples of anions were stored in unwashed 15 mL polypropylene vials and stored frozen (–20 °C) until analysis. Physico-chemical parameters (temperature, pH, conductivity, and dissolved O₂) were measured at each site in parallel to the water sample collection.

Surface sediments were recovered using a Large Bore Interface Corer (Aquatic Research Instruments®) equipped with a polycarbonate core tube (60 cm length; 10 cm inner diameter). Surface sediments from cores was subsequently extruded, sliced with an acid cleaned plastic cutter and immediately collected in acid cleaned 200 mL propylene centrifuge vials, N₂-flushed and centrifuged at 4000 rpm for 20 min. For each sample, the supernatant (*i.e.* porewater) was divided into three aliquots for nutrient, anion, and metal/metalloid analyses.

2.3. Analytical methods

All details for QA/QC are given in ESI 1.†

2.3.1 Surface and pore water analysis. 55 elements (Ca, Li, Be, Na, Mg, Al, P, K, Ti, V, Cr, Mn, Fe, Co, Ni, Cu, Zn, As, Se, Sr, Mo, Ag, Cd, Sn, Sb, Pb, U, B, Si, Ga, Ge, Rb, Nb, In, Te, Cs, Ba, La, Ce, Pr, Nd, Sm, Gd, Dy, Ho, Er, Tm, Yb, Lu, Hf, Ta, W, Tl, Th and Eu) were determined by means of atomic absorption spectroscopy for the major elements, and by means of ICP-MS (quadrupole 7000 ce, Agilent Technologies) for trace elements, which enabled multiple elements to be determined in the filtered water samples. Anions were determined by means of ion chromatography, using a Dionex ICS 2000 chromatograph. The detection limits (DLs) of SO₄²⁻, Cl⁻, and NO₃⁻ were 0.02, 0.04 and 0.002 mg L⁻¹, respectively, with a reproducibility of 5%. DOC was determined by means of the Shimadzu TOC-VCSN organic carbon analyzer. Organic and inorganic carbon and sulfur in sediments were analyzed by means of a Horiba Jobin Yvon Emia-320v C/S analyzer.

Hg compound analyses in water were performed by capillary gas chromatography connected to an inductively coupled plasma mass spectrometer (GC-ICPMS, X Series II, Thermo Fisher). Analytical set-up and methodology for the GC-ICPMS for Hg speciation analysis by species-specific isotope dilution are described by Monperrus *et al.*^{31,32} (ESI 1†). Gaseous mercury species (*i.e.*, dissolved gaseous mercury (DGM) and dimethylmercury (DMHg)) were purged (generally within ~0.5 h of sampling) and collected on gold-coated sand (Brooks Rand®) and activated charcoal (Carbotrap®, B, mesh 20–40, Sigma-Aldrich) traps, respectively. The analysis of the gaseous Hg species (*i.e.* Hg⁰ and DMHg) was carried out by cryogenic trapping gas chromatography connected to an inductively coupled plasma mass spectrometer (CT-GC-ICPMS) according to previous studies.^{33,34}

2.3.2 Sediment analysis. Solid samples (sediments and suspended solids) were freeze-dried and crushed to obtain a size smaller than 63 μm for elemental analysis. Total particulate organic carbon ([TOC]) concentrations were determined from the dry combustion of the solid powder sample aliquots using a C/S Horiba Jobin Yvon Emia-320v auto-analyzer.

Sediment digestion was performed using ~200 mg of freeze-dried sediments, digested in a mixture of HCl (2 mL, Ultrex grade – Baker), HNO₃ (9 mL, Ultrex grade – Baker) and HF (3 mL, Ultrex grade – Baker) in a microwave system (CEM Mars System 5 model). Digestion solutions were then diluted and subsequently measured by ICP-MS (model 7500ce, Agilent Technologies) to assess the total quantity of metals (Al, Ca, Mg, Fe, Cr, Cd, As, Cu, Mn, Ni, Pb, Se, and Zn) in each sediment sample. Accuracy was checked using a certified reference material (CRM), namely PACS-2 (National Research Council of Canada) for QA/QC (given replicates and values are tabulated in the ESI†).

Hg compound analysis of the sediments was performed by GC-ICPMS and is described elsewhere.³² Quantification of Hg species was carried out using species-specific isotope dilution and by applying isotope pattern deconvolution for data treatment.

Total particulate Hg concentrations ([THg_p]) were obtained by summing MMHg and IHg. Concentrations obtained for repeated analyses of CRMs never exceeded the published range of concentrations (IAEA 405: 818 ± 17 ng g⁻¹ and 5.29 ± 0.24 ng g⁻¹ for THg and MMHg, respectively). The detection limits, were 0.20 and 0.01 ng g⁻¹, for THg and MMHg, respectively.

2.4. Statistical treatment and data presentation

The correlation coefficients (*R*) and *p*-values are reported in the manuscript for the computed linear regressions. Pairwise slope comparison for regressions built from individual studies was realized with a *t*-test. We also used non-parametric tests, the Mann–Whitney rank sum test (*U*-test), and the Kruskal–Wallis one-way analysis of variance on ranks (*H*-test), to compare two, or more sets of data, respectively, and pairwise multiple comparisons according to Dunn's method to isolate the set or sets that differed from the others. Linear regressions were performed only when the data passed the normality test, constant variance test and alpha power of the performed regression (α test, $p > 0.8$). When datasets did not follow a normal distribution, we performed a Spearman rank order correlation test (Rho test). All statistical analyses were performed using the Sigmasat® package (Systat Software Inc.) or R software (R.2.14.2). All data are presented in the manuscript and (ESI 2†) as mean ± SD and the complete dataset is presented in ESI 3†.

3. Results and discussion

3.1. Geochemistry and methylmercury content in Lake Uru Uru

3.1.1 Eutrophication in the context of a high altitude ecosystem. The water cycle of this high altitude endorheic lake system is dominated by evaporation due to high solar radiation

which concentrates salts in the lake as shown by its high electrical conductivity ($\chi = 5.5 \pm 1.5$ and 3.6 ± 2.4 mS cm⁻¹ in the dry and wet seasons, respectively). Lake Uru Uru water is characterized by alkaline conditions over the year (pH mean \pm SD = 8.3 ± 0.6) with a predominance of sulfate (7.4 ± 2.3 and 3.4 ± 3.0 g L⁻¹, for the dry and wet seasons, respectively) which originates from the sulfate-rich substratum (*e.g.*, gypsum) and bicarbonates ($\text{HCO}_3^- = 229 \pm 47$ and 167 ± 33 mg L⁻¹ in the dry and wet seasons, respectively). This gives a strong buffering capacity to the lake water. Particularly high electrical conductivity is recorded downstream of the two main tributaries *i.e.*, (i) in the northern part of the lake (Desagadero and Tagarete River inlets - km 7) for both seasons and (ii) at the confluence of the Huanuni River (km 20) only during the dry season (Fig. 2). Both

the Oruro and Huanuni areas are the two main sources of contaminants, discharging combined urban wastewater and mining effluents which are illustrated by high organic matter (OM) inputs (*e.g.*, DOC - Fig. 2) and metal(oid) (*e.g.*, Hg, Fe, Mn, W, Sb, see Fig. 2 and ESI 2†) inputs into the lake. The high nutrient contents (*e.g.*, PO_4^{3-}) and metal(oid)s measured in Lake Uru Uru water (ESI 2†) are in the range of those reported for wastewater and urban impacted aquatic ecosystems around the world,³⁵⁻³⁷ which are typical of eutrophicated conditions, but under high diurnal oxygen gradients. Such elevated nutrient loads stimulate photosynthesis, and OM (*e.g.*, $\text{DOC} = 16.6 \pm 3.4$ mg L⁻¹ for both seasons) productivity, which results in high aquatic (micro)organism respiration (mean dissolved oxygen = 8.5 ± 3.3 mg L⁻¹). However, due to the extremely high diurnal

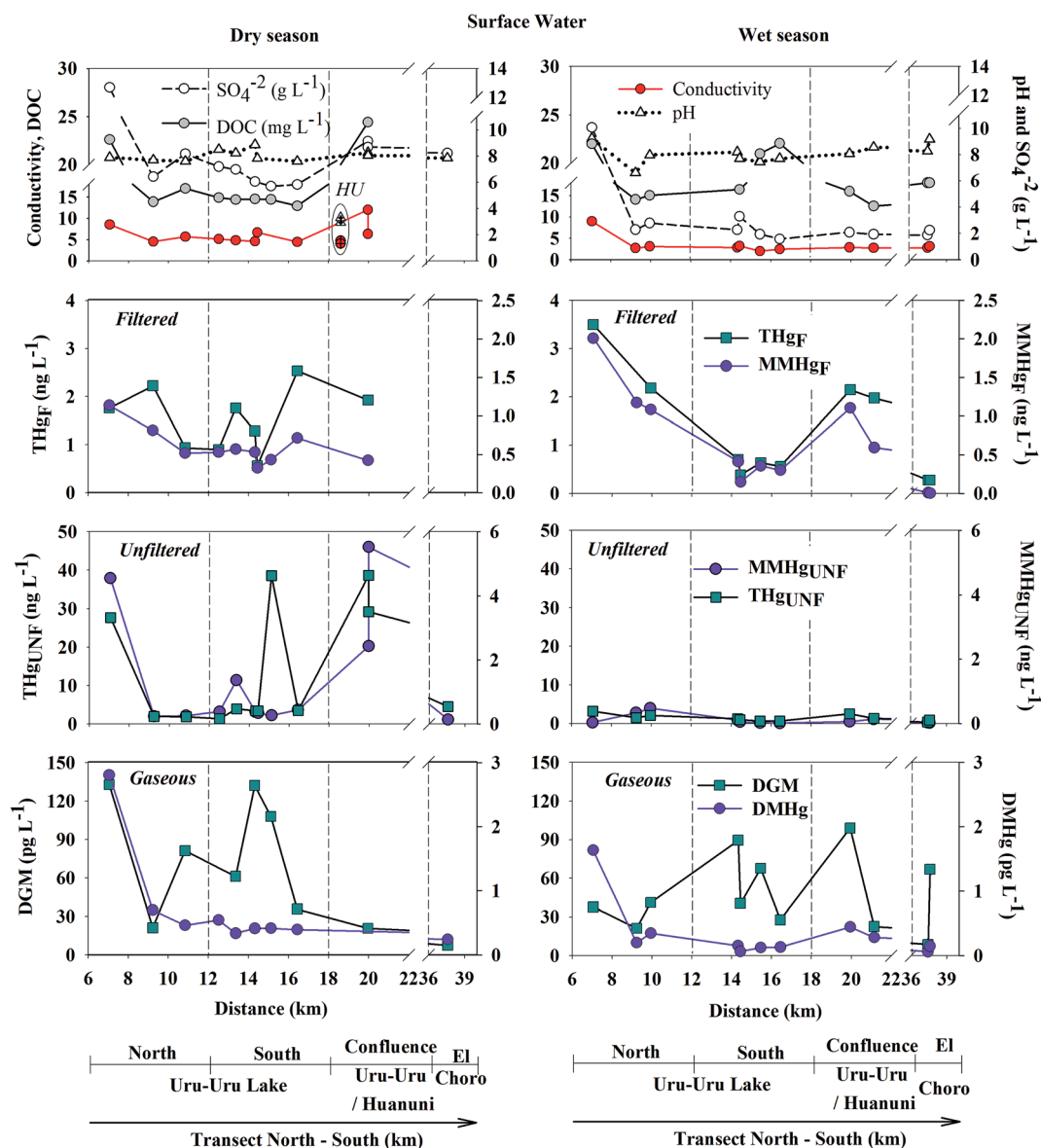


Fig. 2 pH, electrical conductivity and concentrations of dissolved organic carbon (DOC), sulfate (SO_4^{2-}) in filtered surface water (upper 2 panels), filtered (F) and unfiltered (UNF) mercury (Hg) and monomethylmercury (MMHg), dissolved gaseous mercury (DGM) and dimethylmercury (DMHg) concentrations in surface waters (lower 6 panels) along the Lake Uru Uru transect during the late dry season (left) and the late wet season (right). Additional data of pH and electric conductivity are also given for Rio Huanuni (HU) in the first panel.

biogeochemical gradient (*e.g.*, strong diurnal insolation and temperature gradients), diurnal cycles show that minimum O₂ concentrations in the water column drop to less than 3 mg L⁻¹ at night.²⁰ Since samples were collected during the period of maximum insolation and therefore of maximum photosynthesis, the promoted DO data likely reflect maximum O₂ concentration.²⁰

3.1.2 MMHg levels and distribution in the water compartment. Levels of total filtered Hg concentrations (THg_F; 1.4 ± 1.0 ng L⁻¹; Fig. 2) in Lake Uru Uru are in the lower range of reported concentrations for THg in urban and/or mine contaminated rivers and lakes around the world,^{36,38–40} while filtered MMHg concentrations (0.69 ± 0.47 ng L⁻¹) are higher than the concentrations reported in other high-altitude lake ecosystems, *e.g.*, compared to the southern oligotrophic Moreno Lake (Patagonia, 768 m. a.s.l., 0.002 to 0.01 ng L⁻¹)⁴¹ or in the hypereutrophic contaminated Dianchi Lake (Tibet, 1881 m. a.s.l., 0.07–0.19 ng L⁻¹).⁴² The most striking finding of our study is the extremely high percentage of filtered MMHg representing 47% ± 14% and 51% ± 7% of the THg_F concentrations along the transect for the dry and wet seasons, respectively. Such high filtered MMHg contribution is probably the highest ever reported in high-altitude lake ecosystems.^{41,42} Although, high filtered MMHg contributions were only reported in anoxic hypolimnion lake water,^{40,43} typical percentages of MMHg rarely exceeded 10% in shallow lake ecosystems.¹⁵ This confirms the strong *in situ* MMHg production that operates at the entire lake ecosystem level, as previously documented in two other locations.²⁰ These high MMHg concentrations and MMHg/THg percentages in the filtered phase are likely to be related to the abundance of organic ligands (*e.g.*, sulfur functional groups of OM) and to a lesser extent of inorganic (*e.g.*, Cl⁻) ones that may enhance MMHg solubility. Besides geochemical parameters that favor MMHg solubility, high levels of local production and/or restricted degradation may favor such levels. The morphology of the lake (*e.g.*, flat basin and shallow water column) promotes large exchanges with the sediment compartment (*e.g.*, low dilution of benthic fluxes) and the high dissolved and particulate OM loads likely restrict the penetration of UV radiation for MMHg photodegradation. For the latter, the low level of DGM that never exceeded 13% of filtered THg (DGM = 4.8 ± 4.6% of THg for both seasons) suggests that both photochemical and bacterial reductions of Hg compounds are low as confirmed by *in situ* incubations.²⁰ This is likely to favor Hg methylation pathways in the net balance towards MMHg production. In contrast to MMHg, dimethylmercury (DMHg) was found to be marginally low, and remained at a baseline level of 0.58 ± 0.72 pg L⁻¹ throughout both seasons. This accounts for less than 1‰ of filtered MMHg. A significant increase is observed only in the northern part of the lake (km 7 – downstream of Oruro city) reaching 2.8 and 1.6 pg L⁻¹ in the dry and wet seasons, respectively (Fig. 2). Such low DMHg levels suggest that DMHg is not a major end-product for MMHg but we cannot exclude fast DMHg evasion rates that keep a low steady state DMHg concentration value, regardless of potentially important DMHg production rates.

Spatial distributions of filtered and particulate THg and MMHg show the highest concentrations downstream of Oruro (km 7) and at the confluence with the Huanuni River (km 20) during the dry season. Aside from these two hotspots, filtered THg and MMHg concentrations remain between 1 and 2 ng L⁻¹, and between 0.15 and 0.7 ng L⁻¹ respectively over the year. During the wet season, unfiltered THg and MMHg concentrations (expressed in ng L⁻¹) are found to be relatively low and close to the filtered concentrations. During the dry season, THg and MMHg concentrations downstream of the mining areas are more than ten times higher than in the wet season. Such changes in unfiltered concentrations can be attributed to (i) dilution with freshly eroded particles with a lower Hg enrichment during the wet season, and (ii) the presence, during the dry season, of floating organic aggregates enriched in Hg (99.9 ± 14.3 ng g⁻¹) and MMHg (13.5 ± 0.8 ng g⁻¹) in the surface water.²⁰

This suggests that the major potential sources of MMHg are likely to be (i) the sediment compartment²⁰ and (ii) organic substrates present in the water column. In the second case, the abundance of OM and sulfates in the water column is likely to favor microbially mediated Hg methylation (*i.e.*, SRB) especially at night when respiration processes are dominant.²⁰ For example, large areas of the lake are covered by benthic macrophytes (*e.g.*, characeae) and their associated biofilms may be important MMHg contributors, as identified in the nearby Lake Titicaca (unpublished data). Beside *in situ* formation of MMHg, other external sources originating mainly from mining effluents should also be taken into consideration.

3.1.3 Mining effluents: a source of Hg and dissolved colloidal carrier phases. The fact that filtered THg remains in the same concentration range for both seasons suggests the existence of another contributing source of Hg during the wet season. The contribution of upstream mining inputs might be a significant source during the wet season. While mean concentrations of major elements (*e.g.*, SO₄²⁻, K⁺, Mg²⁺ and Na⁺ – ESI 2 and 3†) decrease 2.5- to 2.8-fold during the wet season along the transect due to dilution by fresh water, almost no dilution effect is observed for THg, MMHg and several metal(oid)s (*e.g.*, mean concentration ratio between dry and wet seasons for THg, MMHg, Fe, Ti and W are 1.3, 1.0, 0.5, 1.4 and 0.8, respectively). This likely results from the enhanced leaching and erosion of dissolved and particulate Hg and metal(oid)s from the upstream mining area (*e.g.*, tailings) during the wet season as illustrated by the increases in filtered and particulate metal(oid) concentrations (Fig. 2 and ESI 3†) in downstream mining effluents. Water originating from the mining areas is very acidic (*e.g.*, pH = 3.1 ± 0.3 in the Huanuni River – Fig. 2). These low pH conditions allow most metals and metalloids to remain in their reduced form. At the confluence with the lake, the sharp increase in pH to above 8 may be accompanied by a drop in the solubility of Fe, Al and Mn allowing their precipitation as oxides (*e.g.*, ferrihydrite or Fe(oxy)hydroxyl-sulfate), thus co-precipitating other dissolved metals.^{44,45,46} This is consistent with a sharp increase in metal concentrations in sediment observed downstream in the Huanuni River (see following Section 3.2), although metal concentrations in filtered

surface water remained 4 to 50 times higher than the mean concentrations measured in the central part of the lake (Fig. 2). Since the filtered Fe concentration (*i.e.*, $>120 \mu\text{g L}^{-1}$ downstream in the Huanuni River for both seasons) largely surpasses the solubility of Fe at pH 8,⁴⁷ this likely indicates the occurrence of filter-passing colloidal Fe. The occurrence of filter-passing colloidal material (*e.g.*, FeS and possibly other metal sulfides) may explain the high iHg and MMHg concentrations measured in the filtered phase downstream locations influenced by mining effluents.^{48,49} These observations are consistent with the study by Kimball *et al.*⁵⁰ showing how iron dominated colloidal composition was associated with substantial concentrations of other trace elements in the Arkansas River water downstream from the mining inflow. The correlation found, for the wet season, between (i) filtered Fe and THg concentration ($R = 0.97$, $p < 0.01$ – Fig. 3) at the confluence with the mining areas, (ii) filtered THg and MMHg ($R = 0.96$, $p < 0.01$) and (iii) unfiltered and filtered MMHg concentrations ($R = 0.98$, $p < 0.01$ – that are in the same concentration range) suggest that both Hg species are likely to be associated with similar colloidal carrier phases (*e.g.*, colloidal FeS and/or colloidal OM). In contrast, at the same location during the dry season, MMHg is suspected to be dominantly bound to coarser particles (*e.g.*, floating organic aggregates).²⁰ Thus, based on the assumption that Hg mainly originates from urban and mining effluents, we suggest that during the wet season, colloidal iHg originating from mining areas may be more reactive and/or available for methylation.⁵¹

3.2. Sediment of Lake Uru Uru: a major source of surface water MMHg

3.2.1 Source of THg in surface sediments. As opposed to surface water, surface sediments (0–2 cm) give an integrated (*i.e.*, almost annual) picture of metal distribution in the lake. THg and MMHg concentrations in surface sediments depict similar trends as for surface water with the highest concentrations measured downstream of Oruro (km 7) and the confluence with the Huanuni River (km 20) while in between THg and MMHg concentrations remain at similar baseline concentrations (*i.e.*, $100 \pm 53 \text{ ng g}^{-1}$ and $0.35 \pm 0.20 \text{ ng g}^{-1}$ for THg and MMHg, respectively) for both seasons. Besides, a single outlier is observed in the central part of the lake (at km 15) where particulate Hg concentrations increase downstream of the confluence with the southern arm of the Desaguadero River. No current mining activities are known in this area although ancient activities have been reported, suggesting a possible leaching from these now disused areas. As discussed in the previous paragraph, at the confluence with the lake, the sharp increase in pH to values above pH 8 is accompanied by high levels of precipitation and sedimentation of almost all metals. This is in line with the results of Tapia and Audry,¹⁹ who reported a very active redox loop through Fe-oxyhydroxide precipitation in the southern part of Lake Uru Uru (*e.g.*, downstream of the Huanuni area). In addition, the dense totora vegetation (stems covered by periphyton) of the lake is likely to

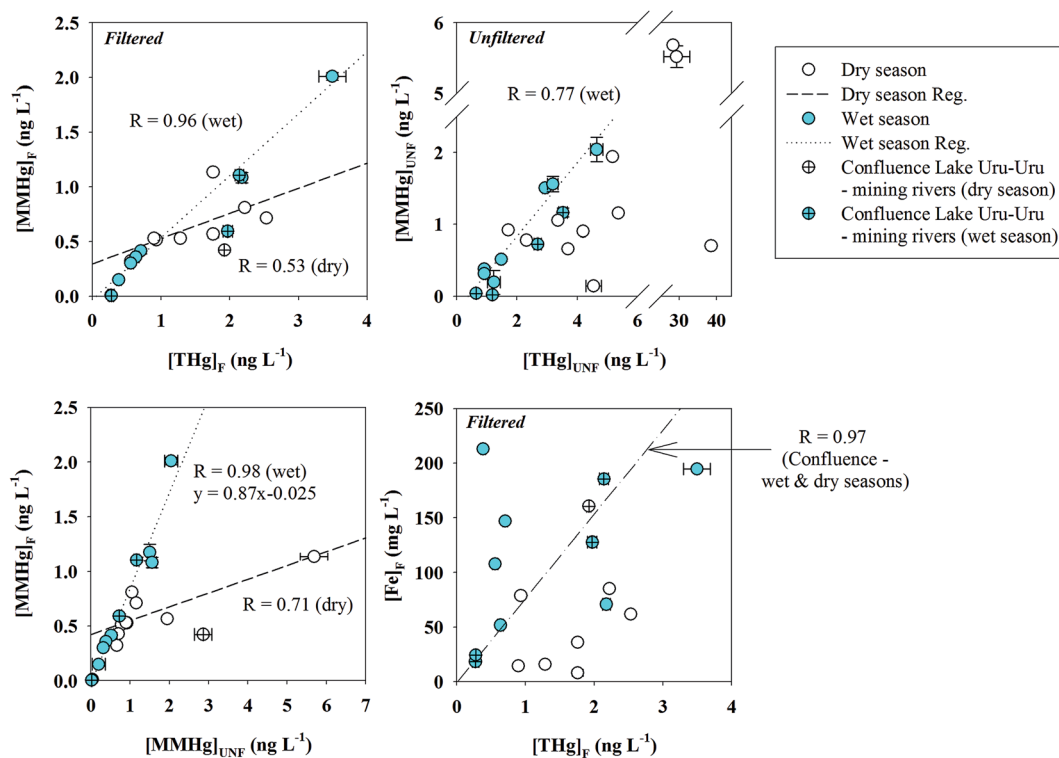


Fig. 3 Linear regressions for filtered (F) and unfiltered (UNF) total mercury (THg) vs. monomethylmercury (MMHg) concentrations (upper 2 panels), filtered vs. unfiltered monomethylmercury concentrations (lower left panel) and filtered iron (Fe) vs. total mercury (THg) concentrations (lower right panel) in surface waters collected along the Lake Uru Uru transect (empty symbols) and downstream the confluence with mining effluents (crossed symbols) during the late dry season (white symbols) and the late wet season (blue symbols).

enhance the trapping and sedimentation of such particles. This is verified by the high concentration of trace metal(oid)s (e.g., Hg, Sb, Ti, W, Cu, Cd, and As) in sediments downstream of the Oruro and Huanuni mining areas which exceed the values of the local geochemical background levels reported by Tapia *et al.*⁸ In addition, correlations were found between THg and tracers of exploited ores (i.e., $R = 0.61$ and 0.75 , $p < 0.01$ for Sb and W, respectively – ESI 4†),^{27–29} confirming that mining activities are likely to be the major source of Hg in the lake.

3.2.2 Seasonal contribution of MMHg from sediment to lake water. MMHg concentrations and partition measured in the sediment ($\text{MMHg} = 0.6 \pm 0.5\%$ of THg_{sed} – Fig. 4) display a similar pattern for both seasons with a marked increase downstream of the mining effluent inputs for both seasons. Assuming that MMHg concentrations in surface sediments are

representative of net Hg methylation (i.e., MMHg accumulation), our results highlight that both the northern and southern parts of the lake (i.e., downstream of mining effluents) are major MMHg accumulation areas. In contrast, iHg and MMHg concentrations in surface sediment porewater (PW) display very different patterns between the two seasons. During the dry season both iHg_{F} and MMHg_{F} in PW show large fluctuations with concentrations rising above 200 ng L^{-1} for iHg_{F} and between 20 and 150 ng L^{-1} for MMHg_{F} in downstream mining effluent areas (Fig. 4). During the wet season, PW iHg and MMHg levels remain in a lower range of concentrations around 2.9 ± 0.8 and $0.1 \pm 0.1 \text{ ng L}^{-1}$, respectively. This seasonal drop of PW concentrations is also found for the percentages of MMHg which represents $57\% \pm 35\%$ and $5\% \pm 6\%$ of THg_{FPW} for the dry and wet seasons, respectively. Partition coefficients

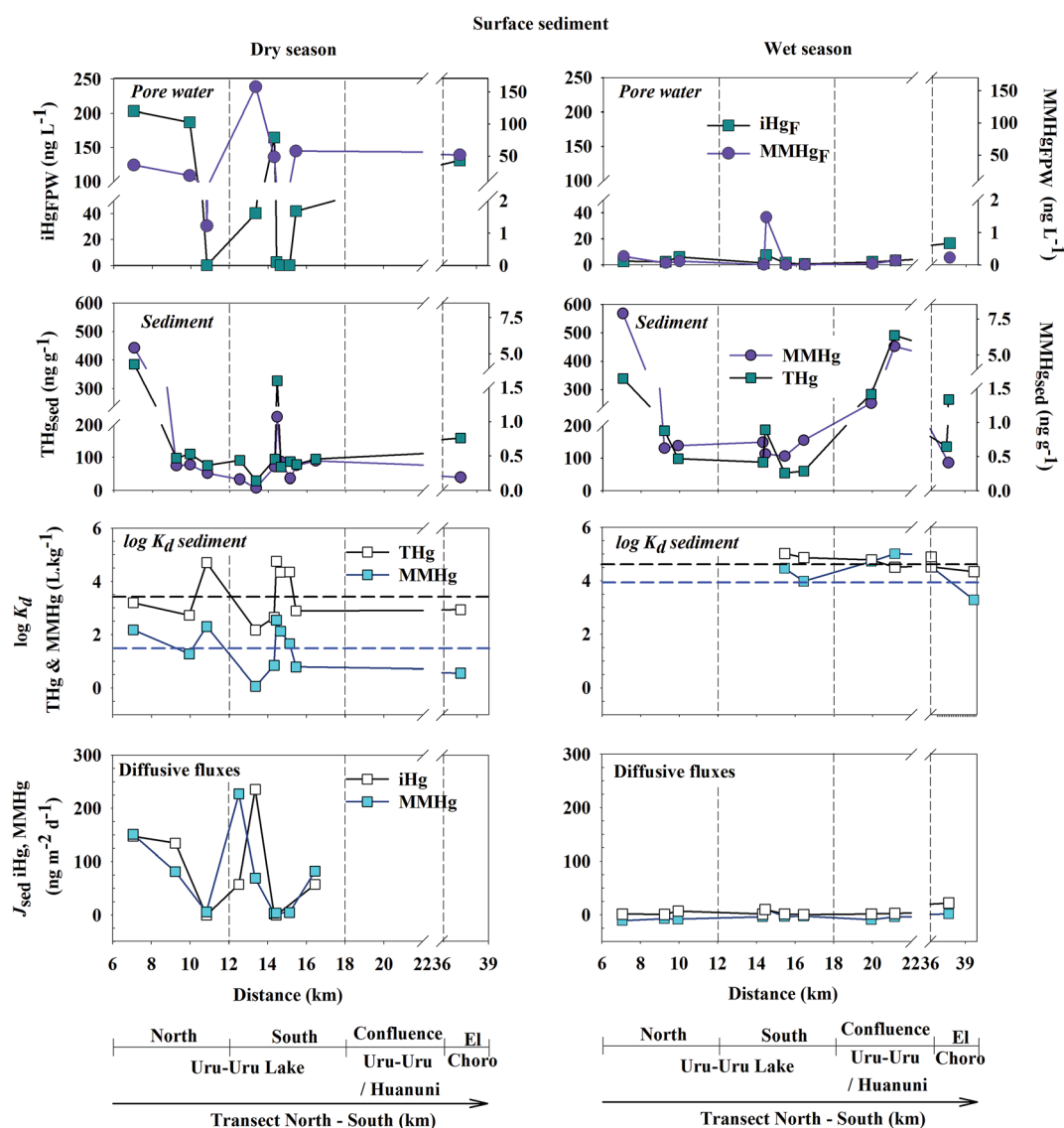


Fig. 4 Upper 4 panels: filtered (F) and unfiltered (UNF) inorganic mercury (iHg) and monomethylmercury (MMHg) concentrations in surface sediment pore water and total mercury (THg) and monomethylmercury (MMHg) concentrations in surface sediments of Lake Ururu. Lower 4 panels: log partitioning coefficient ($\log K_d$) and daily diffusive fluxes of THg (iHg) and MMHg in surface sediments (PW and solid) of Lake Ururu for the end of the dry season (October 2010 – left panels) and of the wet season (May 2011 – right panels). Dotted line refers to mean $\log K_d$ values of THg (black dotted line) and MMHg (blue dotted line).

($K_d = [\text{Hg}_{\text{sed}}]/[\text{Hg}_{\text{FPW}}]$) for THg and MMHg in surface sediments illustrate well the seasonal change in Hg partitioning, as $\log K_d$ increases from 3.5 ± 1.0 and 1.5 ± 1.0 (dry season) to 4.6 ± 0.3 and 3.9 ± 0.8 (wet season) for IHg and MMHg, respectively (Fig. 4). Such changes in the partition between the filtered and solid phases are likely to be related to the redox state of surface sediments. Thus, we can suggest that low $\log K_d$ measurements during the dry season are related to the stagnant and shallow water column (due to evaporation) promoting anoxia and element saturation in PW during the dry season. In contrast, during the wet season, freshwater inputs may favor O_2 penetration into the surface sediments displacing the redox front deeper in the sediments.¹⁹ This suggestion is in accordance with thermodynamic modeling studies^{52,53} which showed that the maximum $\log K_d$ for Hg is obtained under oxic conditions, in the absence of inorganic sulfides. Then, considering a more pronounced oxygen-depletion of surface sediments during the dry season,⁸ the solubility of Hg would increase because of an increasing dominance of HgS_2H^- and HgS_2^{2-} in the porewater solution⁵³ of such a neutral to alkaline and sulfate-rich environment. At this pH, it is also probable that the limiting effect of S(II) concentration for precipitation of $\beta\text{-HgS(s)}$ increases.⁵³ Therefore, the seasonal variation of $\log K_d$ for Hg and MMHg illustrate that (i) during the dry season sulfides are formed and build up in the anoxic PW decreasing $\log K_d$ because of the formation of soluble Hg-sulfides and potential polysulfides while (ii) the wet season is likely to be characterized by more oxygenated surface sediments, and the formation of authigenic Fe oxyhydroxides^{8,43,54,55} is favored and act as a trap for dissolved Hg species causing $\log K_d$ to increase.

From these results, a large seasonal change in the diffusive Hg flux contribution of surface sediments to the water column is expected. Based on the assumption that the shallow water column is well homogenized, we calculated diffusive fluxes using Fick's first law (details of the calculations are given in ESI 1[†]):⁵⁶ $J_{\text{sed}} = -\phi D_{\text{sed}}(\partial C/\partial z)$. Spatial variation of calculated diffusive fluxes (Fig. 4) shows that during the dry season, both IHg and MMHg exhibit positive J_{sed} indicating an upward-directed flux (efflux from the sediment into the overlying water column). In contrast, during the wet season J_{sed} values for IHg are slightly positive (slight upward-directed flux) and J_{sed} values for MMHg are close to zero or negative indicating a downward-directed flux (influx from the water column into the sediment). Therefore, both $\log K_d$ and J_{sed} highlight surface sediment PW as a major source of MMHg for surface water during the dry season while it appears limited during the wet season when the water column is higher. This observation is consistent with the lower methylation capacity found in sediment during the wet season by previous *in situ* Hg methylation (M) and MMHg demethylation (D) potential experiments performed in Lake Uru Uru.²⁰ We cannot exclude a significant contribution from the sediment during the wet season, due to the probable high diurnal change in the position of the redox front in the sediment which may favor positive nocturnal fluxes (when photosynthesis is stopped and respiration consumes O_2). This suggestion is pertinent since Alanoca *et al.*²⁰ demonstrated the large variation of MMHg concentrations in the water column

during 24 hour cycles with maximum concentrations measured in the absence of sunlight when the water column becomes O_2 depleted. Note that the contribution of the Lake Uru Uru surface sediments to the water column concentration of MMHg, roughly estimated here from diffusion only, is probably an underestimation. Such contribution should be significantly higher when bioturbation and physical advection resulting in enhanced MMHg fluxes into the water column are taken into account.

4. Conclusion

We showed in this study that current and historical mining activities combined with untreated urban effluents promote high mercury and metal(oid) loads into shallow, productive and high altitude (3686 m a.s.l.) Lake Uru Uru. High percentages of methylmercury concentrations standing around 50% of THgF for both seasons were found along the north-south transect of the eutrophic Lake Uru Uru where abundant OM may favor both Hg methylation and preservation in the water column. In addition, the alkaline pH and the abundant organic ligands and colloids (especially downstream of mining effluents) seem to favor the lability of MMHg in the water column. Surface sediments were identified as a major MMHg source for the water column during the dry season while during the wet season its contribution appears limited. However, the calculation of MMHg diffusive fluxes from the sediments to the water column during the wet season was probably underestimated since intense diurnal biogeochemical variations and fluxes related to bioturbation and physical advection were not considered. Other unidentified sources (*e.g.*, urban and mining effluents and biofilms covering benthic macrophytes) may also significantly contribute to MMHg inputs or *in situ* production in the lake during the wet season. In particular, the large Hg discharge originating from the AMD (probably associated with colloids) was considered as a potentially significant source of both IHg and MMHg. Such high levels of filtered MMHg in the water column are likely to be a plausible hypothesis behind the high MMHg levels reported in the local trophic chains.¹⁰ Huge efforts must be taken regarding mercury and other metal emissions from the mining area to reduce trophic transfer and address environmental concerns.

Acknowledgements

This work is a contribution to the COMIBOL project (INSU CNRS/IRD EC2CO Program, PI: D. Point) and LA PACHAMAMA project (ANR CESA program, No ANR-13-CESA-0015-01, PI: D. Amouroux). We wish to thank J. Tapia, A. Castillo, M. Claire, J. L. Duprey (IRD Bolivia) and Don German Calizaya (Fishermen Association, Machacamarca, Bolivia) for their help and assistance during the field campaigns.

References

- 1 J. O. Nriagu, *Sci. Total Environ.*, 1994, **149**, 167–181.

- 2 R. H. Sillitoe, G. B. Steele, J. F. H. Thompson and J. R. Lang, *Miner. Deposita*, 1998, **33**, 539–546.
- 3 J. Garcia-Guinea and M. Harffy, *Ambio*, 1998, 251–253.
- 4 J. Michard, *Cooperativas mineras en Bolivia; formas de organizacion, production y comercializacion*, Centro de Documentation e Information Bolivia, Cochabamba, 2008.
- 5 I. Montes de Oca, *Geografia y recursos naturales de Bolivia, Editorial Educacional del Ministerio de Educación y Cultura (1945)*, La Paz, 2nd edn, 1989, p. 574.
- 6 M. E. Garcia Moreno, PhD thesis, Lund Institute of Technology, Lund University, 2006.
- 7 T. Rötting, J. Amezaga, P. Younger, P. Jimenez, C. Talavera, J. Quintanilla, R. Oyarzun and G. Soto, *Catchment Management and Mining Impacts in Arid and Semi-Arid South America (CAMINAR): Case studies in Peru, Bolivia and Chile, 8th ICARD*, Skelleftea, Sweden, 2009, p. 10.
- 8 J. Tapia, S. Audry, B. Townley and J.-L. Duprey, *Geochem.: Explor., Environ., Anal.*, 2012, **12**, 3–20.
- 9 A. Garitano-Zavala, J. Cotin, M. Borràs and J. Nadal, *Environ. Monit. Assess.*, 2010, **168**, 629–644.
- 10 C. I. Molina, C. Ibañez and F.-M. Gibon, *Ecologia en Bolivia*, 2012, **47**, 99–118.
- 11 E. Benefice, S. Luna-Monroy and R. Lopez-Rodriguez, *Int. J. Hyg. Environ. Health*, 2010, **213**, 458–464.
- 12 S. Bose-O'Reilly, B. Lettmeier, R. Matteucci Gothe, C. Beinhoff, U. Siebert and G. Drasch, *Environ. Res.*, 2008, **107**, 89–97.
- 13 J. Lebel, D. Mergler, M. Lucotte, M. Amarin, J. Dolbec, D. Miranda, G. Arantes, I. Rhéault and P. Pichet, *Neurotoxicology*, 1996, **17**, 157–168.
- 14 J. M. Benoit, E. B. Ekstrom and F. M. M. Morel, *Abstracts of Papers of the American Chemical Society*, 2002, vol. 223, p. U525.
- 15 W. F. Fitzgerald, C. H. Lamborg and H. D. H. K. Turekian, in *Treatise on Geochemistry*, Elsevier, Oxford, 2nd edn, 2014, pp. 91–129.
- 16 J. H. Weber, *Chemosphere*, 1993, **26**, 2063–2077.
- 17 W. F. Fitzgerald, C. H. Lamborg, A. A. Heinrich and K. T. Karl, in *Treatise on Geochemistry*, Pergamon, Oxford, 2007, pp. 1–47.
- 18 C.-C. Lin, N. Yee and T. Barkay, in *Environmental chemistry and toxicology of mercury*, ed. G. Liu, Y. Cai and N. O'Driscoll, John Wiley & Sons, Inc., Hoboken, New Jersey, 2012, ch. 5, pp. 155–191.
- 19 J. Tapia and S. Audry, *Appl. Geochem.*, 2013, **31**, 60–78.
- 20 L. Alanoca, D. Amouroux, M. Monperrus, E. Tessier, M. Goni, R. Guyoneaud, D. Acha, C. Gassie, S. Audry, M. Garcia, J. Quintanilla and D. Point, *Environ. Sci. Pollut. Res.*, 2016, **23**, 6919–6933.
- 21 T. Condom, A. Coudrain, A. Dezetter, D. Brunstein, F. Delclaux and J.-E. Sicart, *Hydrol. Processes*, 2004, **18**, 2395–2408.
- 22 L. G. Thompson, E. Mosley-Thompson, J. F. Bolzan and B. R. Koci, *Science*, 1985, **229**, 971–973.
- 23 P. A. Baker and S. C. Fritz, *Quat. Sci. Rev.*, 2015, **124**, 31–47.
- 24 A. Coudrain, M. Loubet, T. Condom, A. Talbi, P. Ribstein, B. Pouyaud, J. Quintanilla, C. Dieulin and B. Dupre, *Hydrol. Sci. J.*, 2002, **47**, 293–306.
- 25 CAMINAR, *Catchment Management and Mining Impacts in Arid and Semi-Arid South America*, B. Instituto de Investigaciones Químicas & Centro de Estudios Ecologicos - Universidad Mayor de San Andrés La Paz, European Commission & UMSA - CEEDI, La Paz, Bolivia, 2008.
- 26 E. R. Quiroga, *Nat. Resour. Forum*, 2002, **26**, 127–139.
- 27 F. S. Turneure, *Econ. Geol.*, 1960, **55**, 217–254.
- 28 W. C. Kelly and F. S. Turneure, *Econ. Geol.*, 1970, **65**, 609–680.
- 29 F. Moricz, I. F. Walder and F. Madai, *Geochemical and mineralogical characterization of waste material from Itos Sn–Ag deposit, Bolivia, Proceeding of securing the future and 8th ICARD*, Skellefteå, Sweden, 2009.
- 30 D. Cossa, J. Sanjuan, J. Cloud, B. Stockwell and W. Corns, *Water, Air, Soil Pollut.*, 1995, **80**, 1279–1284.
- 31 M. Monperrus, E. Tessier, S. Veschambre, D. Amouroux and O. Donard, *Anal. Bioanal. Chem.*, 2005, **381**, 854–862.
- 32 M. Monperrus, P. R. Gonzalez, D. Amouroux, J. I. G. Alonso and O. F. X. Donard, *Anal. Bioanal. Chem.*, 2008, **390**, 655–666.
- 33 S. Bouchet, D. Amouroux, P. Rodriguez-Gonzalez, E. Tessier, M. Monperrus, G. Thouzeau, J. Clavier, E. Amice, J. Deborde and S. Bujan, *Biogeochemistry*, 2013, **114**, 341–358.
- 34 S. Bouchet, E. Tessier, M. Monperrus, R. Bridou, J. Clavier, G. Thouzeau and D. Amouroux, *J. Environ. Monit.*, 2011, **13**, 1351.
- 35 S. J. Balogh and Y. H. Nollet, *Sci. Total Environ.*, 2008, **406**, 145–153.
- 36 S. Guédron, C. Duwig, B. L. Prado, D. Point, M. G. Flores and C. Siebe, *Water, Air, Soil Pollut.*, 2014, **225**, 1–19.
- 37 A. D. S. Oliveira, A. Bocio, T. M. B. Trevilato, A. M. M. Takayanagui, J. L. Doming and S. I. Segura-Munoz, *Environ. Sci. Pollut. Res.*, 2007, **14**, 483–489.
- 38 D. Cossa, F. Elbaz-Poullichet and J. M. Nieto, *Aquat. Geochem.*, 2001, **7**, 1–12.
- 39 D. Cossa and C. Gobeil, *Can. J. Fish. Aquat. Sci.*, 2000, **57**, 138–147.
- 40 A. García Bravo, C. Cosio, P.-A. Chevalley, J. Zopfi, D. Amouroux, J. Spangenberg, V.-G. Ungureanu and J. Dominik, *Water Res.*, 2014, **49**, 391–405.
- 41 M. Arcagni, L. Campbell, M. A. Arribère, M. Marvin-DiPasquale, A. Rizzo and S. R. Guevara, *Sci. Total Environ.*, 2013, **454**, 170–180.
- 42 S. Wang, M. Zhang, B. Li, D. Xing, X. Wang, C. Wei and Y. Jia, *Sci. Total Environ.*, 2012, **417–418**, 204–213.
- 43 S. Feyte, C. Gobeil, A. Tessier and D. Cossa, *Geochim. Cosmochim. Acta*, 2012, **82**, 92–112.
- 44 G. Lee, J. M. Bigham and G. Faure, *Appl. Geochem.*, 2002, **17**, 569–581.
- 45 J. G. Webster, P. J. Swedlund and K. S. Webster, *Environ. Sci. Technol.*, 1998, **32**, 1361–1368.
- 46 D. B. Johnson and K. B. Hallberg, *Sci. Total Environ.*, 2005, **338**, 3–14.

- 47 R. M. Cornell and U. Schwertmann, *The iron oxides: structure, properties, reactions, occurrences and uses*, John Wiley & Sons, 2006.
- 48 D. Dyrssen and M. Wedborg, *Water, Air, Soil Pollut.*, 1991, **56**, 507–519.
- 49 S. Guédron, S. Devin and D. A. L. Vignati, *Environ. Toxicol. Chem.*, 2016, **35**, 330–339.
- 50 B. A. Kimball, E. Callender and E. V. Axtmann, *Appl. Geochem.*, 1995, **10**, 285–306.
- 51 H. Hsu-Kim, K. H. Kucharzyk, T. Zhang and M. A. Deshusses, *Environ. Sci. Technol.*, 2013, **47**, 2441–2456.
- 52 A. R. Khwaja, P. R. Bloom and P. L. Brezonik, *Environ. Sci. Technol.*, 2006, **40**, 844–849.
- 53 U. Skyllberg, in *Environmental chemistry and toxicology of mercury*, ed. G. Liu, Y. Cai and N. O'Driscoll, John Wiley & Sons, Inc., Hoboken, New Jersey, 2012, ch. 7, pp. 219–258.
- 54 B. Muresan, D. Cossa, M. Coquery and S. Richard, *Geochim. Cosmochim. Acta*, 2008, **72**, 5416–5430.
- 55 B. Muresan, D. Cossa and D. Jezequel, *RMZ - Mater. Geoenviron.*, 2004, **51**, 1247–1250.
- 56 S. Guédron, L. Huguet, D. A. L. Vignati, B. Liu, F. Gimbert, B. J. D. Ferrari, R. Zonta and J. Dominik, *Mar. Chem.*, 2012, **130–131**, 1–11.

Artículo 2 : Diurnal variability and biogeochemical reactivity of Hg species in an extreme high-altitude lake ecosystem of the Bolivian Altiplano

Diurnal variability and biogeochemical reactivity of mercury species in an extreme high-altitude lake ecosystem of the Bolivian Altiplano

**L. Alanoca, D. Amouroux,
M. Monperrus, E. Tessier, M. Goni,
R. Guyoneaud, D. Acha, C. Gassie,
S. Audry, M. E. Garcia, J. Quintana et al.**

**Environmental Science and Pollution
Research**

ISSN 0944-1344

Environ Sci Pollut Res
DOI 10.1007/s11356-015-5917-1



Your article is protected by copyright and all rights are held exclusively by Springer-Verlag Berlin Heidelberg. This e-offprint is for personal use only and shall not be self-archived in electronic repositories. If you wish to self-archive your article, please use the accepted manuscript version for posting on your own website. You may further deposit the accepted manuscript version in any repository, provided it is only made publicly available 12 months after official publication or later and provided acknowledgement is given to the original source of publication and a link is inserted to the published article on Springer's website. The link must be accompanied by the following text: "The final publication is available at link.springer.com".

Diurnal variability and biogeochemical reactivity of mercury species in an extreme high-altitude lake ecosystem of the Bolivian Altiplano

L. Alanoca¹ · D. Amouroux^{1,2} · M. Monperrus² · E. Tessier² · M. Goni³ ·
R. Guyoneaud³ · D. Acha⁴ · C. Gassie³ · S. Audry¹ · M. E. Garcia⁵ · J. Quintanilla⁵ ·
D. Point^{1,4}

Received: 19 August 2015 / Accepted: 2 December 2015
© Springer-Verlag Berlin Heidelberg 2015

Abstract Methylation and demethylation represent major transformation pathways regulating the net production of methylmercury (MMHg). Very few studies have documented Hg reactivity and transformation in extreme high-altitude lake ecosystems. Mercury (Hg) species concentrations (IHg, MMHg, Hg⁰, and DMHg) and in situ Hg methylation (M) and MMHg demethylation (D) potentials were determined in water, sediment, floating organic aggregates, and periphyton compartments of a shallow productive Lake of the Bolivian Altiplano (Uru Uru Lake, 3686 m). Samples were collected during late dry season (October 2010) and late wet season

(May 2011) at a north (NS) and a south (SS) site of the lake, respectively. Mercury species concentrations exhibited significant diurnal variability as influenced by the strong diurnal biogeochemical gradients. Particularly high methylated mercury concentrations (0.2 to 4.5 ng L⁻¹ for MMHg_T) were determined in the water column evidencing important Hg methylation in this ecosystem. Methylation and D potentials range were, respectively, <0.1–16.5 and <0.2–68.3 % day⁻¹ and were highly variable among compartments of the lake, but always higher during the dry season. Net Hg M indicates that the influence of urban and mining effluent (NS) promotes MMHg production in both water (up to 0.45 ng MMHg L⁻¹ day⁻¹) and sediment compartments (2.0 to 19.7 ng MMHg g⁻¹ day⁻¹). While the sediment compartment appears to represent a major source of MMHg in this shallow ecosystem, floating organic aggregates (dry season, SS) and Totorá's periphyton (wet season, NS) were found to act as a significant source (5.8 ng MMHg g⁻¹ day⁻¹) and a sink (-2.1 ng MMHg g⁻¹ day⁻¹) of MMHg, respectively. This work demonstrates that high-altitude productive lake ecosystems can promote MMHg formation in various compartments supporting recent observations of high Hg contents in fish and water birds.

Responsible editor: Philippe Garrigues

Electronic supplementary material The online version of this article (doi:10.1007/s11356-015-5917-1) contains supplementary material, which is available to authorized users.

✉ D. Amouroux
david.amouroux@univ-pau.fr

¹ Géosciences Environnement Toulouse, UMR 5563-IRD UR 234, Université Paul Sabatier, 14 Avenue Edouard Belin, 31400 Toulouse, France

² Laboratoire de Chimie Analytique Bio-inorganique et Environnement, IPREM UMR 5254 CNRS, Université de Pau et des Pays de l'Adour, HélioParc Pau Pyrénées, 2, av. P. Angot, 64053 Pau cedex 9, France

³ Equipe Environnement et Microbiologie, IPREM UMR 5254 CNRS, Université de Pau et des Pays de l'Adour, Bâtiment IBEAS, BP1153, 64013 Pau Cedex, France

⁴ Laboratorio de Calidad Ambiental, Instituto de Ecología, Universidad Mayor de San Andrés, Campus Universitario de Cota Cota, casilla 3161, La Paz, Bolivia

⁵ Laboratorio de Hidroquímica, Instituto de Investigaciones Químicas, Universidad Mayor de San Andrés, Campus Universitario de Cota Cota, casilla 3161, La Paz, Bolivia

Keywords Mercury · Biogeochemistry · Altiplano · Lake · Methylation · Demethylation · Bolivia

Introduction

Methylmercury (MMHg) is considered as a potent neurotoxin and represents a significant health concern (Allen et al. 2002). Human MMHg exposure is mainly controlled by the consumption of fish products (Fitzgerald and Clarkson 1991;

UNEP 2013). MMHg can be produced in different compartments of the aquatic ecosystem as influenced by biogeochemical conditions (Fitzgerald and Lamborg 2004; Hintelmann 2010). In aquatic ecosystems, Hg methylation may take place in the anoxic zone (Eckley and Hintelmann 2006) or oxic zone (Bouchet et al. 2013; Monperrus et al. 2007; Ribeiro Guevara et al. 2008), in the first few centimeters of sediments (Bouchet et al. 2013; Hollweg et al. 2009) and in the periphyton mainly associated with the roots of aquatic plants (Gentès et al. 2013; Guimarães et al. 2000). The mechanisms of mercury methylation (M) mainly involve microbial processes linked to the activities of various communities such as sulfate- and/or iron-reducing bacteria (Barkay and Wagner-Döbler 2005; Compeau and Bartha 1984) and, to a lesser extent, abiotic processes (Craig and Morton 1978; Weber 1993). Overall, net production rates of MMHg, and its bioaccumulation in the food chain of aquatic systems, is drastically regulated by such transformation processes (Hintelmann 2010).

Mediated by biotic and abiotic processes, MMHg may be methylated and form dimethylmercury (DMHg) (Baldi et al. 1995), and/or broken down or demethylated (D), giving rise to inorganic Hg and elemental mercury (Hg^0). In sediments, the methylation process involves sulfate- and nitrate-reducing bacteria as well as methanogenic bacteria, along oxidative or reductive pathways (Oremland et al. 1991; Schaefer et al. 2004; Spangler et al. 1973). In the water column, most of MMHg demethylation likely originates from photodegradation reactions (Black et al. 2012; Hammerschmidt and Fitzgerald 2006; Sellers et al. 1996).

Because of its importance for human health, Hg cycling has been studied in different aquatic systems (oceans, lakes, lagoons, rivers, and wetlands). Hg reactivity and transformation in lake and wetland ecosystems is well documented (Hintelmann 2010), but few studies have investigated Hg reactivity in extreme high-altitude ecosystems (Maruszczak et al. 2011; Qianggong et al. 2014; Ribeiro Guevara et al. 2008). Aquatic ecosystems located in the South American Altiplano region at 3800 m exhibit extreme thermal and solar irradiance diurnal variability including intense UV radiations (Blumthaler et al. 1997; Zaratti et al. 2003), contrasted seasonal hydrological cycles, as well as intense primary production (Aguirre et al. 2014). Lake Uru Uru (3686 m a.s.l.) is part of the lake system occupying the central Bolivian Altiplano region. This lake ecosystem acts as a sink for several mining and urban waste effluents (Garcia 2006; Tapia et al. 2012), while it hosts numerous endemic avian and fish species and has social and economic importance for the region's indigenous population, who live from hunting and fishing (Aguirre et al. 2014; Garcia 2006). Elevated Hg levels were documented in different species of water birds and fish from Lake Uru Uru (Aguirre et al. 2014; Molina et al. 2012)

This work aims at documenting for the first time Hg biogeochemistry and Hg methylation capacity in the case of high-

altitude tropical productive lakes, using Lake Uru Uru as a reference study site. In this lake, a contaminated northern (NS) and a less impacted southern (SS) site were carefully investigated on a diurnal and seasonal basis with the measurement of different Hg compounds (IHg, MMHg, Hg^0 , and DMHg) and the complementary determination of in situ Hg methylation (M) and MMHg demethylation (D) potentials in water, sediment, floating organic aggregates, and periphyton compartments collected from Totora's (*Schoenoplectus californicus*) aquatic plants.

Materials and methods

Study area

Lake Uru Uru is a shallow aquatic system (1.5 m av. depth) located at 3686 m above sea level in the central part of the Bolivian Altiplano region, in South America (Fig. 1). Lake Uru Uru is located downstream of Lake Titicaca and upstream of Lake Poopó and is part of the closed, evaporative endorheic Titicaca-Desaguadero-Poopo-salar (TDPS) basin. During the wet season, Lake Uru Uru displays a surface area of 350 km², reduced to 120 km² during the dry season. Further details on the study area are provided in the [Supplementary Material \(SM\)](#) section.

Samples collection and processing

Samples of sediment, surface waters, and organic substrates were collected from Lake Uru Uru at two different sites (Fig. 1). The first site (NS) located in the northern part of the lake represents a contaminated site, under the influence of both mining and urban effluents originating from the mining city of Oruro (Fig. 1). The second site (SS) is located in the southern part of the lake and is supposed to represent a less polluted area, although lateral inputs of mining effluent from Rio Huanuni may be considered. All samples were taken at the end of the dry season (October 2010) and at the end of the wet season (May 2011), respectively, for investigating seasonal differences. Diurnal cycles (24 h) were also investigated in the water column at the two stations at a 4-h resolution step at the NS site (only for wet season) and at a 2-h resolution step at the SS site (both seasons). Because both NS and SS sites are very shallow (<1 m) and present a well-mixed water column, water sample was directly hand-collected from a rubber boat at the subsurface (ca. 10–30 cm depth, depending on the seasonal water level). Each water sample was divided into three aliquots, two of them subsequently acidified: one was filtered (“dissolved fraction”) using a vacuum filtration pump and 0.45- μm porosity PVDF filters (Millipore, Bedford, MA, USA), while the second was kept unfiltered (total content). A last aliquot was kept intact and directly processed to purge

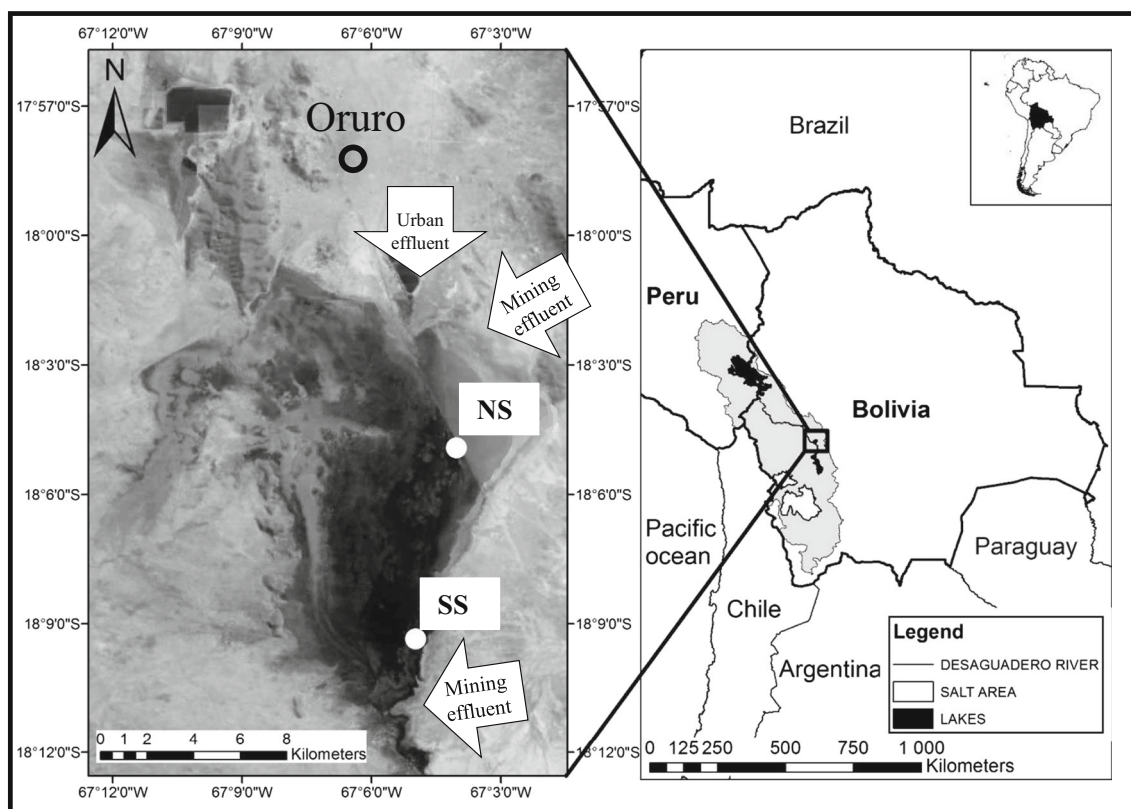


Fig. 1 Map of Lake Uru Uru and its location in the Bolivian Altiplano (Bolivia, South America), showing the investigated sites in the northern (NS) and southern (SS) part of the lake, during late dry and wet seasons

(October 2010 and May 2011). The major sources of contamination are also indicated: urban effluent (north) and mining effluent (south)

and trap the gaseous Hg compounds (i.e., DGM, DMHg). Further details for surface sediments (0–1 cm) and bio-organic substrates (periphyton, aggregates) sampling are given in the SM section. For comparison with other lacustrine environments of the TDPS hydrosystem, sediment samples were also taken from Lake Titicaca during the dry season and from Lake Poopó during the wet season. Further details on sample processing and ancillary parameters determination are included in the SM section.

Mercury transformations assays

Mercury species transformation potentials were determined through in situ incubations performed using isotopically enriched mercury species ($^{199}\text{HgCl}_2$ and $\text{CH}_3^{201}\text{HgCl}$) for water, sediment, periphyton, and floating organic aggregates, according to the incubation protocol, analyses, and calculations of methylation (M), demethylation (D), and reduction (R) potentials described elsewhere (Monperrus et al. 2007; Rodriguez-Gonzalez et al. 2013). This methodology allows the simultaneous and quantitative determination of newly formed and remaining Hg species derived from each isotope, and the determination of specific formation/degradation yields (Monperrus et al. 2007; Rodriguez-Gonzalez et al. 2013).

Further details on the incubation protocols and the evaluation of the net mercury methylation obtained from the incubation experiments and diurnal cycles are described in the SM section.

Samples analysis methodologies

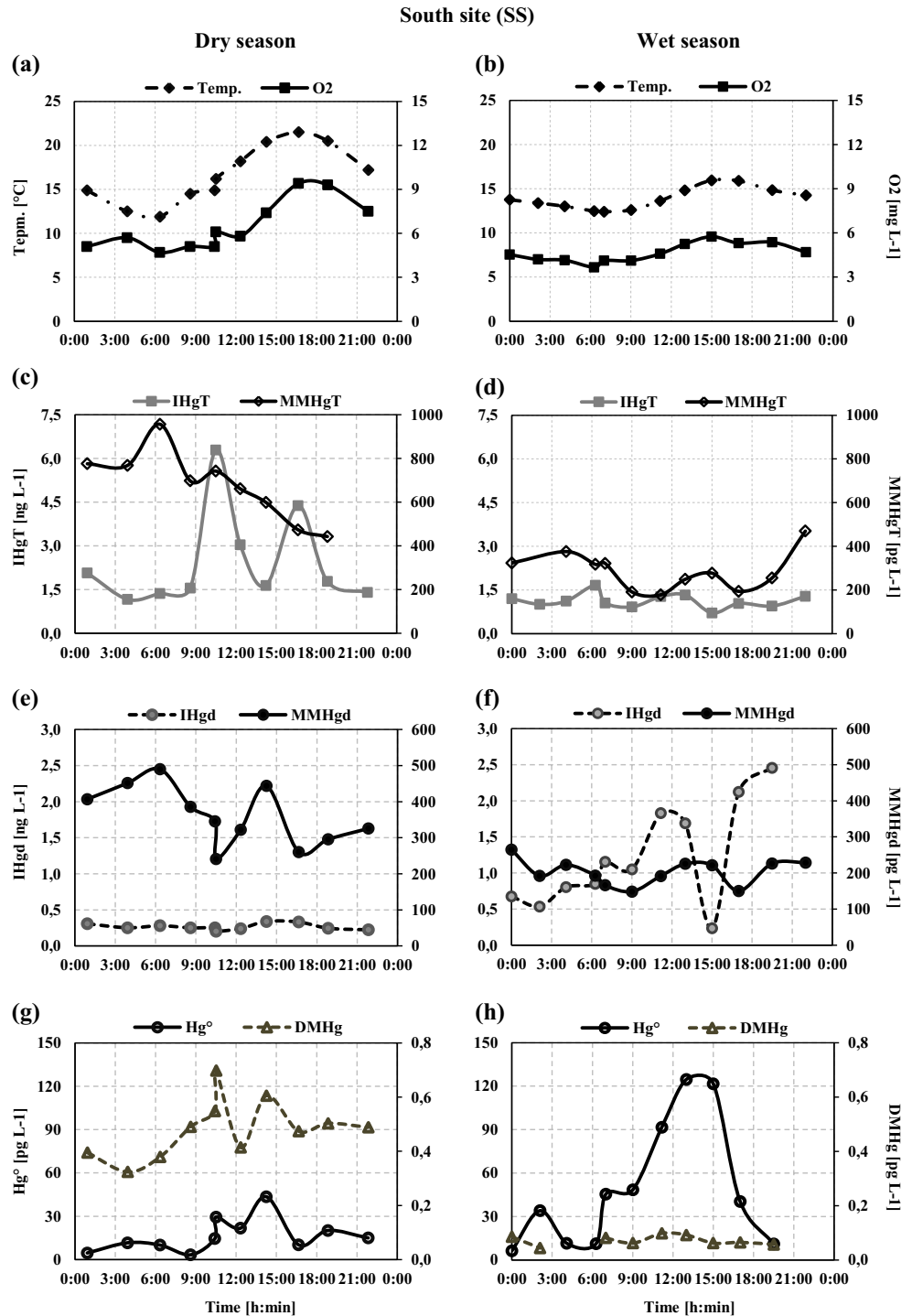
For water samples, the concentrations of total and dissolved Hg species, such as MMHg, IHg, Hg° , and DMHg were determined. For solid samples, concentration of MMHg and IHg was determined. Hg species analysis in water, sediment, and biological substrates was performed by capillary gas chromatography connected to an inductively coupled plasma mass spectrometer (GC-ICPMS, Trace). Analytical set-up and methodology for the GC-ICPMS for Hg speciation analysis are described in detail elsewhere (Monperrus et al. 2008; Monperrus et al. 2005). The analysis of the gaseous Hg species (i.e., Hg° and DMHg) was carried out by cryogenic trapping gas chromatography connected to an inductively coupled plasma mass spectrometer (CT-GC-ICPMS) according to previous works (Bouchet et al. 2013; Bouchet et al. 2011). Other analytical methods used for ancillary parameters are described in SM section.

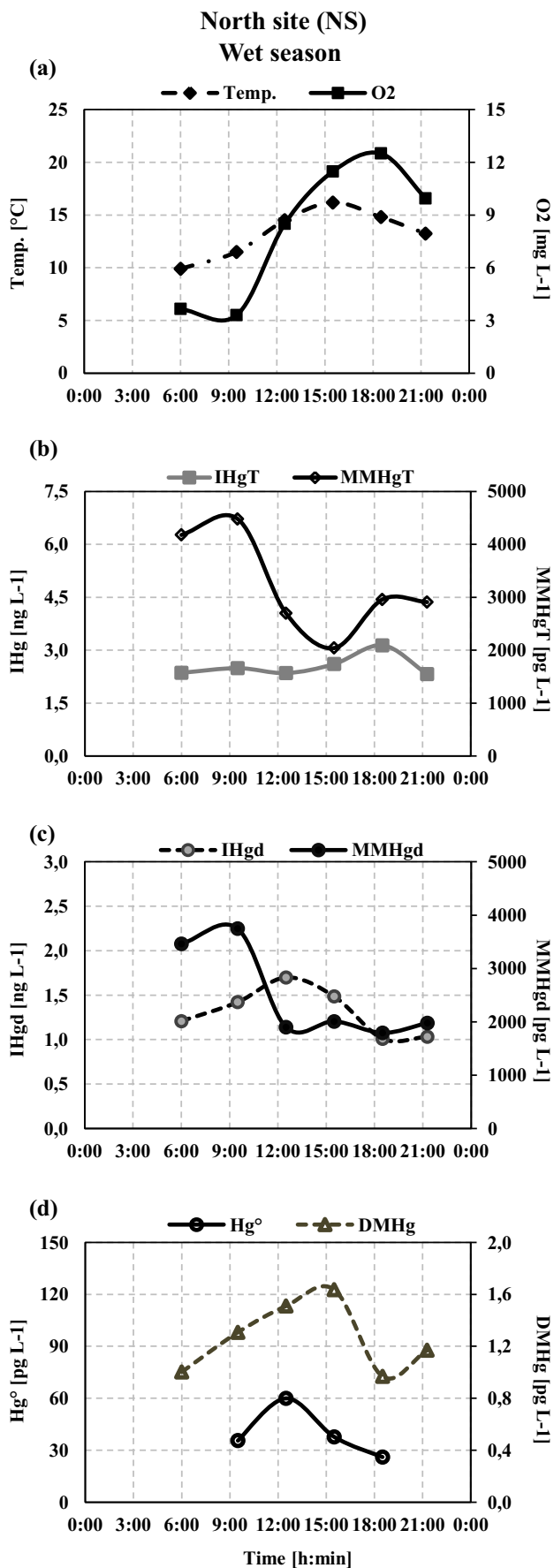
Bacterial community characterization

Water samples (triplicates) were concentrated (250 mL for SS and 60 mL for NS) by filtration on sterile cellulose acetate filters (Millipore, 0.22 μm). After filtration, the filters were immediately frozen in liquid nitrogen. Samples from sediments, floating aggregates, or Totorá's biofilms were directly sampled in cryovials and frozen in

liquid nitrogen. DNA was extracted with the Ultra Clean Soil DNA Isolation Kit using the alternative lysis method (MoBio Laboratories Inc., USA). All extracted genomic DNA samples were stored at -20 °C until further processing. T-RFLP was performed as previously used by Gentés et al. (2013). T-RFLP profiles were compared by principal component analysis (PCA) using MVSP v3.13d software (Rockware Inc., UK).

Fig. 2 a–h Diurnal variability (24 h) of the different Hg species (IHg_T, IHg_d, MMHg_T, MMHg_d, Hg⁰, DMHg) in comparison with oxygen and temperature at the southern site (SS) of Lake Uru Uru for late dry and wet seasons. *T* total, *d* dissolved





Statistics

For dataset comparison, statistical parametric test (Student *t* test) for normal data distribution and non-parametric test (Kruskal-Wallis test) for non-normal data distribution were considered, using SigmaStat (version 3.0.) or R software (R.2.14.2).

Results and discussion

Major biogeochemical characteristics

High-resolution diurnal profiles of selected parameters are displayed in Fig. 2 (data summary in Table A, SM). At the SS site, relative different trends can be observed during the diurnal cycles and between the dry and wet seasons. Mean diurnal temperature and oxygen concentrations were higher during the dry season compared to the wet season but not statistically different (16.3 and 13.9 °C, 6.5 and 4.6 mg L⁻¹, respectively), while pH values were relatively close (7.9 and 8.1). However, their diurnal gradient amplitude between sunrise and sunset (Fig. 2) was much higher during the dry season (11.9–21.5 and 12.4–16.0 °C, 7.0–8.2 and 7.8–8.4, 4.7–9.4 and 3.7–5.8 mg L⁻¹, respectively). This reflects the change in solar radiations intensity among seasons. Solar radiation levels measured close to the study site in Patacamaya (Oruro Dpt, Bolivia) from September to November 2010 (dry season) and from April to June 2011 (wet season) were, respectively, 313.8±55.4 and 243.5±36.2 W m⁻². Conductivity at the SS varied significantly (*s test*, *p*<0.05) between dry (6.2 mS cm⁻¹) and wet (3.1 mS cm⁻¹) seasons due to the intense evaporation process, while at the NS diurnal variations during the wet season, exhibited wider ranges for temperature, pH, and oxygen than at SS (9.9–16.2 °C, 9.2–10.1 and 3.3–12.5 mg L⁻¹, respectively). Conductivity was higher at the NS site (8.8 mS cm⁻¹) compared to SS site (3.1 mS cm⁻¹) during the wet season. Since bacterial activity is one of the main driver responsible for mercury methylation and demethylation, strong daily variations of temperature, pH, and oxygen may strongly affect diurnal Hg cycle at short timescale. While not measured over 24 h, dissolved organic carbon (DOC), particulate organic carbon (POC), and suspended particulate matter (SPM) may influence significantly mercury speciation. For instance, DOC concentrations reach high values for both seasons at SS and NS station (14.4–16.4 and 19.8–24.5 mg L⁻¹, respectively), while SPM remains rather low (<10 mg L⁻¹) but enriched in organic carbon (10 % of POC).

◀ **Fig. 3** a–d Diurnal variability (24 h) of the different Hg species (IHg_T, IHg_d, MMHg_T, MMHg_d, Hg⁰, DMHg) in comparison with oxygen and temperature at the northern site (NS) of Lake Uru Uru for the late wet season. *T* total, *d* dissolved

Sulfate-reducing bacteria communities

The T-RFLP based on *dsr* genes polymorphism, applied to detect sulfate-reducing bacteria, indicated that they were present in all the samples collected at NS and SS in Lake Uru Uru. During the dry season, the composition of sulfate-reducing bacterial communities in sediments and bio-organic aggregates was homogeneous (Fig. 4), but very heterogeneous in water samples. Similar results were obtained in the water samples during the wet season (data not shown). This heterogeneity is probably due to the occurrence in different proportion of particulate material and also to the lower abundances in *dsrAB* genes. The correspondence analysis shows a strong effect of the reducing conditions (sediments vs water) on the samples' *dsrAB* diversity as distributed along the axis 1 (32 % of the variance). It also highlights the influence of available organic carbon (water vs bio-organic aggregates) through the axis 2, explaining 30 % of the sulfate-reducing bacteria community composition.

Hg species distribution and transformation in the water column

Mercury species seasonal and diurnal variations

Hg species concentration average and range obtained over the diurnal high-resolution sampling at the two sites are reported in Table A (SM). At the SS, higher concentrations of total mercury (Hg_T) and total methylmercury ($MMHg_T$) were observed during the dry season (3.1 ± 1.7 and 0.7 ± 0.2 ng L⁻¹, respectively) than for the wet season (1.4 ± 0.3 and 0.3 ± 0.1 ng L⁻¹) ($p < 0.05$). This is consistent with the difference observed for conductivity and other metallic cations (data not shown), likely reflecting a concentration effect resulting from

the enhanced evaporation at the end of the dry season. At the NS, the concentrations of total mercury (Hg_T) (4.6 – 7.0 ng L⁻¹) and total methylmercury ($MMHg_T$) (2.0 – 4.5 ng L⁻¹) were significantly higher ($p < 0.05$) than at the SS for the two seasons. Interestingly, the relative proportion of dissolved $MMHg$ ($MMHg_d$) was found extremely high, representing between 57 ± 5 and 23 ± 9 % at SS during the dry and wet season, respectively, with a maximum value of 64 ± 8 % at NS during the wet season. This high-dissolved $MMHg$ partition is probably the highest ever reported in high-altitude lake ecosystems, compared to the southern oligotrophic Moreno Lake (Patagonia, at 768 m, 0.4 to 2.4 %, Arcagni et al. 2013) or in the hypereutrophic contaminated Dianchi Lake (Tibet, 1881 m, 0.2–1.5 %, Wang et al. 2012). Concentrations of total dissolved mercury (Hg_{Td}) at the SS site were 0.6 ± 0.1 ng L⁻¹ in the dry season and 1.3 ± 0.8 ng L⁻¹ during the wet season, although higher values were measured at the NS site 3.8 ± 0.8 ng L⁻¹ for the same season. Overall, Hg_{Td} values in Lake Uru Uru are similar to measurements in Moreno Lake (1 – 5 ng L⁻¹, Arcagni et al. 2013) or in waters from Andean glaciers (2.2 to 2.6 ng L⁻¹, Maurice-Bourgoin et al. 2000), with the relative proportion of $MMHg$ being significantly higher.

DGM concentrations were mainly composed by 97.0 to 99.9 % of Hg^0 with only 0–3 % $DMHg$. DGM accounted for 0 to 15 % of Hg_{Td} . DGM concentrations (as Hg^0) at the SS averaged 16.8 ± 11.7 pg L⁻¹ during the dry season and 49.7 ± 43.8 pg L⁻¹ during the wet season, whereas the NS exhibits concentrations averaging 39.8 ± 14.3 pg L⁻¹ in the wet season. The Hg^0 concentrations in Lake Uru Uru (3.3 – 124.7 pg L⁻¹) are in the same range as those documented for Alaskan lakes (20.0 – 46.1 pg L⁻¹) (Tseng et al. 2004) or Canadian lakes (32.1 – 58.2 pg L⁻¹) (Amyot et al. 1997). Levels of $DMHg$ ($<LD=0.04$ – 1.64) are rather low if compared with published

Table 1 Inorganic mercury methylation, methylmercury demethylation, inorganic mercury reduction, and mercury net methylation (mean±SD, n=3) estimates in the water column of the

Lake Uru Uru, under dark and diurnal conditions, during late dry and wet seasons (October 2010 and May 2011) at both southern and northern sites

Matrix	Station	Season	Diurnal		Dark		Diurnal R % day ⁻¹	Diurnal Net methylation ng L ⁻¹ day ⁻¹	Dark Net methylation ng L ⁻¹ day ⁻¹
			M % day ⁻¹	D % day ⁻¹	M % day ⁻¹	D % day ⁻¹			
Surface water	NS	Dry	4.9±0.8	21.0±1.8	7.7±1.7	20.5±1.4	0.6±0.2	0.20±0.30	0.45±0.48
		Wet	0.6±0.4	6.0±2.5	0.7±0.1	3.7±3.9	0.3±0.2	-0.11±0.08	-0.06±0.10
	SS	Dry	1.0±1.0	6.7±1.2	0.9±0.8	4.0±1.9	1.0±0.2	-0.01±0.04	0.00±0.03
		Wet	0.04±0.02	0.4±0.6	< LD	0.2±0.3	0.1±0.1	-0.00±0.00	-0.00±0.00
Filtered surface water	NS	Dry	1.0±0.9	0.8±1.2	0.6±0.2	0.02±0.23		0.01±0.04	0.01±0.00
		Wet	0.7±0.4	4.3±1.2	0.7±1.5	3.0±2.7		-0.06±0.08	-0.03±0.16
	SS	Dry	<LD	<LD	0.7±0.9	< LD		0.00±0.00	0.02±0.02
		Wet	<LD	<LD	0.1±0.1	2.0±0.4		-0.01±0.00	0.00±0.00

Limit of detection of the M and D method: LD=0.02 % day⁻¹

M mercury methylation, D methylmercury demethylation, R inorganic mercury reduction, SS southern, NS northern

marine studies in the Mediterranean Sea (4–84 pg L⁻¹) (Monperrus et al. 2007) or in the Arctic Ocean (7.9±4.4 pg L⁻¹) (Kirk et al. 2008).

The diurnal concentrations of MMHg_T during the wet season decreased from sunrise (~6 h) to sunset (~18 h) and increased overnight until sunrise (Figs. 2c and 3b). The concentration of Hg^o in SS and NS (Fig. 2h) increased from 06 h, with a peak between 12 and 15 h to further decrease until sunset. The same behavior was also observed for Hg^o and DMHg in NS during the wet season (Fig. 3d).

Between both seasons, total MMHg and IHg exhibit different trends at SS that might be related to the occurrence of higher particle contents (and aggregates) during the dry season in the water column. MMHg showed a decreasing trend with increasing oxygen at the SS site during the dry season and at the NS for the wet season ($r^2=0.8$, $p<0.002$ and $r^2=0.8$, $p<0.05$, respectively) but no trend for SS during the wet season ($p>0.05$) (Figure A.a,b in SM). This result suggests that MMHg net accumulation in the water column is likely enhanced when lower oxygen concentrations occur, especially at night when oxygen consumption processes are dominant. Besides MMHg has been reported to be produced within the anoxic layer of lake waters (Eckley and Hintelmann 2006), no

anoxia has been observed in this study. This may suggest that more reductive conditions in the water column likely associated to organic matter mineralization can promote Hg methylation as previously observed (Bouchet et al. 2013; Monperrus et al. 2007). The occurrence of anaerobic bacteria communities in the water column located into anoxic micro-environments (e.g., particles) playing a role in Hg methylation, such as SRB, has been shown in this study and also previously established in other aquatic systems (Acha et al. 2012). During daytime, water in Lake Uru Uru exhibited oxygen supersaturation, demonstrating intense primary productivity when MMHg levels are decreasing. Such photosynthetic activity may inhibit Hg methylation triggered under more reductive conditions. Also, this may be due to increased activity of filamentous algae *Oedogonium* sp. and other algae that have been found to accumulate MMHg (Lanza et al. 2015). The explanation of such decline in MMHg concentrations may also be associated to stronger light-induced demethylation (Black et al. 2012; Lehnherr and St. Louis 2009). As shown in Fig. 2b–d, lower MMHg concentrations coincide with daylight maxima, which mean that solar radiation may influence decline of MMHg. However, the in situ incubations described later (“Biogeochemical transformation of mercury

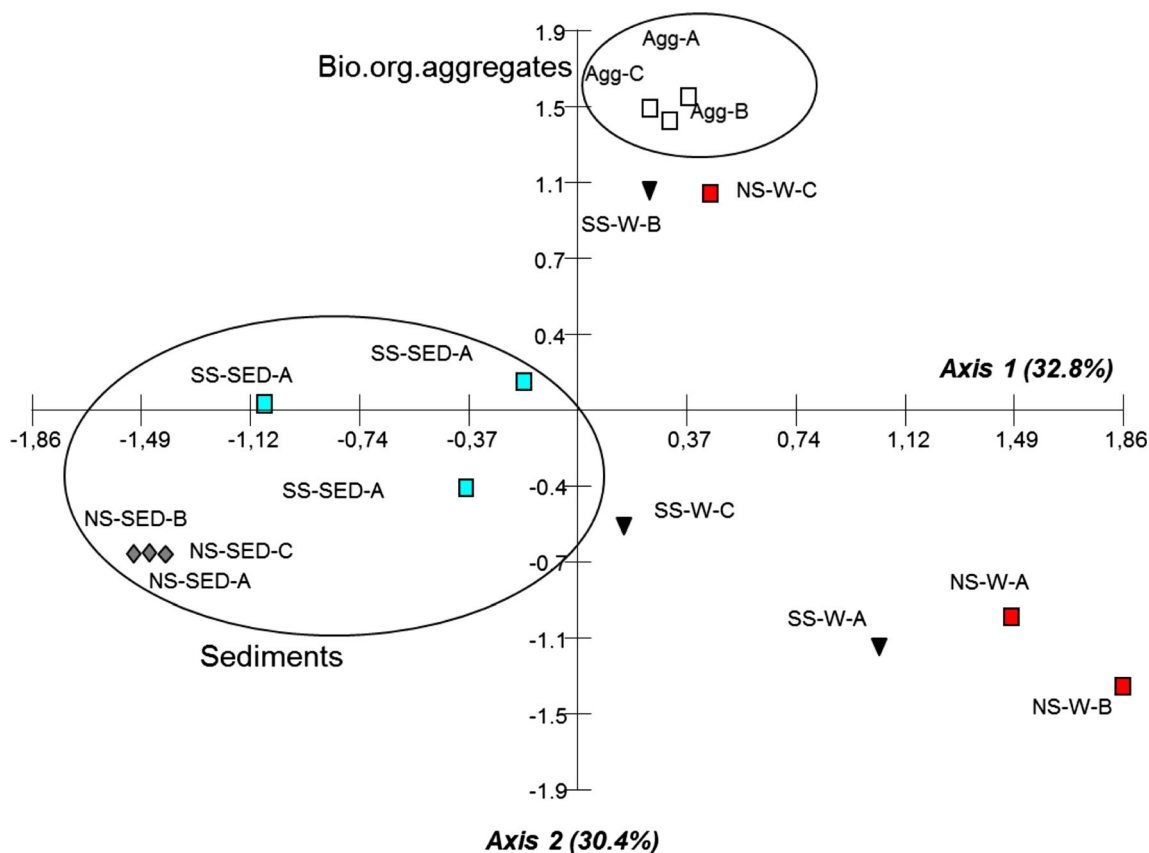


Fig. 4 Correspondence analysis based on T-RFLP results for the *dsrAB* genes in the samples collected during the late dry season at stations SS and NS and in different compartments (*W* water, *Sed* sediments, *Agg*

floating bio-organic aggregates). The letters *A*, *B*, and *C* refer to triplicates for each sample

species in water” section) have shown that light-induced pathways might not be so significant in these waters, since high DOM contents can play an important inhibition effect for UV light-induced demethylation pathways (Black et al. 2012). The behavior of volatile Hg species also obeys diurnal changes (Figs. 2g, h and 3d); Hg⁰ formation processes may be induced by solar radiation (Amyot et al. 1997). Low concentrations of Hg⁰ can be attributed to high-DOC concentrations, which decrease the availability of UV-B radiation to reduce IHg (Amyot et al. 1997). We can also observe (Figs. 2c–h and 3b–d) that a small fraction of decreasing MMHg might be converted to DMHg (Monperrus et al. 2007). Overall, we have shown that MMHg and IHg in both dissolved and particulate (or total) phases can exhibit strong diurnal variations which are controlled by various biotic and abiotic processes difficult to be constrained for each season and site. Several pathways such as methylation, demethylation, or reduction of Hg species in water are able to contribute to these variations (see below “Biogeochemical transformation of mercury species in water” section), while the dynamic exchange with other compartments such as surface sediments and Totorá's substrates (see “Mercury methylation and demethylation in surface sediments” and “Methylation and Demethylation in Bio-organic substrates” sections) might involve other sources and sinks for the water column.

Biogeochemical transformation of mercury species in water

Methylation M potentials obtained in unfiltered water samples from Lake Uru Uru ranged between <0.02 and 4.9 % day⁻¹. Under light conditions, M potentials obtained from unfiltered water samples varied with seasonal changes at both sites (see Table 1, Fig. 5), with higher methylation

during the dry season ($p < 0.05$, Kruskal-Wallis test). M potentials were 4.9 ± 0.6 and 0.6 ± 0.4 % day⁻¹ at the NS and 1.0 ± 0.9 and 0.04 ± 0.02 % day⁻¹, at the SS, during the dry and wet seasons, respectively. Dark condition incubations exhibited M potential between 0.7 ± 0.1 and 7.7 ± 1.7 % day⁻¹, for the dry and wet seasons, respectively, at the NS site, although no differences were found at the SS site among seasons (0.9 ± 0.8 and < 0.02 % day⁻¹).

For filtered water, M potentials, obtained from light and dark incubations, were lower than M potential measures in unfiltered water ($p < 0.05$). While M potentials obtained at NS site under light and dark conditions were still significant, those obtained at SS site were below the detection limit ($< LD = 0.02$ % day⁻¹) under light conditions and rather limited M potentials in dark condition (Table 1). This finding corroborates the observation made on the variations of MMHg concentrations during the 24-h cycles. This also confirms that Hg methylation is probably mediated by micro-organisms and organic matter in the absence of sunlight and may also benefit from higher temperatures in the dry season. SRB were detected in all matrices, but the structure of the community was highly variable and specific to the matrix incubated (water, sediments, floating organic aggregates) (Fig. 4).

Comparison to literature values (Table 3) shows that the maximum M potential obtained under light condition (NS, 4.9 % day⁻¹) is significantly higher than the maximum values obtained in the Arcachon Bay (0.8 % day⁻¹, Bouchet et al. 2013) or in estuarine and coastal waters (0.4 % day⁻¹; Sharif et al. 2014). However, these significant M potential values remain in the range of M potential rates determined in the anoxic waters of Canadian lakes (0.6–14.8 % day⁻¹, Eckley and Hintelmann 2006), in oxic waters from the Mediterranean (0.3–6.3 % day⁻¹) (Monperrus et al. 2007) and in Moreno

Table 2 Inorganic mercury methylation, methylmercury demethylation, and mercury net methylation (mean \pm SD, $n=3$) estimates in surface sediments and bio-organic substrates (aggregates and periphyton) in the Lake Uru Uru, under dark and diurnal

conditions, during late dry and wet seasons (October 2010 and May 2011) at both southern and northern sites and Lake Titicaca and Popoo (sediments only)

Matrix	Station	Season	Diurnal		Dark		Diurnal Net methylation ng g ⁻¹ day ⁻¹	Dark Net methylation ng g ⁻¹ day ⁻¹
			M % day ⁻¹	D % day ⁻¹	M % day ⁻¹	D % day ⁻¹		
Surface sediment	NS	Dry	1.1 \pm 0.2	68.3 \pm 0.2	5.1 \pm 0.5	27.8 \pm 3.3	3.4 \pm 1.2	19.7 \pm 4.0
		Wet	1.0 \pm 0.1	10.1 \pm 3.2	1.3 \pm 0.2	28.8 \pm 3.6	2.0 \pm 0.5	2.0 \pm 1.0
	SS	Dry	0.25 \pm 0.04	15.6 \pm 1.9	0.35 \pm 0.02	28.0 \pm 1.3	0.5 \pm 0.2	0.6 \pm 0.1
		Wet	0.14 \pm 0.05	9.2 \pm 1.8	0.26 \pm 0.04	5.2 \pm 0.7	0.19 \pm 0.15	0.5 \pm 0.1
	TC	Dry	0.10 \pm 0.00	78.1 \pm 1.9	0.10 \pm 0.01	78.1 \pm 1.7	-0.17 \pm 0.03	-0.17 \pm 0.03
PP	Wet	0.06 \pm 0.02	26.0 \pm 4.0	< LD	29.1 \pm 1.4	-0.02 \pm 0.03	-0.03 \pm 0.01	
Bio-organic aggregates	SS	Dry	9.58 \pm 0.05	18.0 \pm 2.4	16.51 \pm 2.8	15.1 \pm 2.6	5.8 \pm 1.8	12.2 \pm 5.1
Totoras periphyton	NS	Wet	0.1 \pm 0.0	13.4 \pm 1.3	0.1 \pm 0.0	13.0 \pm 0.4	-2.1 \pm 0.6	-2.1 \pm 0.5

Limit of detection of the M and D method: LD = 0.1 % day⁻¹

M mercury methylation, D methylmercury demethylation, SS southern, NS northern, TC Lake Titicaca, PP Popoo

Lake, Argentina (23 ± 11 % day^{-1}) (Ribeiro Guevara et al. 2008).

Demethylation Significant demethylation potentials (D) were measured in surface unfiltered water of Lake Uru Uru (0.4 to 21 % day^{-1}), with almost no significant difference between daylight and in dark conditions (Table 1, Fig. 6). However, D potentials varied seasonally and among sites, being higher in the dry season compared to the wet season ($p < 0.05$) and higher at the NS compared to SS for both season ($p < 0.05$). At NS, D potentials in dry season were significantly higher (21 % day^{-1}) than for the wet season (3.7 – 6.0 % day^{-1}). At SS, D potentials during the dry season were also much higher (4.0 – 6.7 for dark and light) than during the wet season (0.2 – 0.4 % day^{-1}). In filtered water, D was either below the detection limit for SS or lower to the values obtained from unfiltered water (except for wet season/dark conditions in SS). These results suggest that demethylation remains a major pathway in waters of Lake Uru Uru, mostly associated to the presence of suspended particulate material and via biotic processes, while direct light-induced photochemical pathways appear to be of a lower importance. As previously observed in various coastal environments (Bouchet et al. 2013; Sharif et al. 2014), biotic-induced demethylation can be a significant pathway to reduce MMHg extent in the water column.

D potentials results for unfiltered water incubation are higher than those measured in the anoxic waters of lakes in Canada (0.12 % day^{-1}) (Eckley and Hintelmann 2006), comparable with those measured in a tidal bay by (Bouchet et al. 2013) (6.2 – 11.9 % day^{-1}) but lower compared to those recorded in coastal and marine waters (6.4 – 24.5 % day^{-1} , Monperrus et al. (2007) and 6.6 – 55.3 % day^{-1} , Sharif et al. (2014), respectively) (Table 3).

Reduction The reduction potential (R) in Lake Uru Uru was found of limited intensity and could only be detected during the dry season (0.6 – 1.0 % day^{-1} , Table 1). These low R potentials are consistent with the low Hg° concentrations measured in the lake (Table A). The high content of DOC found in the lake is large enough to potentially inhibit UV and visible light radiations that may induce mercury reduction reactions (Amyot et al. 1997). Further on, Hg° concentrations can also be limited by concomitant photo-oxidation processes catalyzed by organic radicals (Lalonde et al. 2001; Mason et al. 2001).

Net methylation assessment During the dry season, the diurnal net methylation capacity (see SM for details) obtained from unfiltered water samples at NS was 0.20 ± 0.30 $\text{ng L}^{-1} \text{day}^{-1}$ under light conditions, compared to 0.45 ± 0.48 $\text{ng L}^{-1} \text{day}^{-1}$ in dark conditions. During the wet season, the net methylation capacity exhibits a loss of MMHg within the same range under light (-0.11 ± 0.08 $\text{ng L}^{-1} \text{day}^{-1}$) and dark conditions (-0.06 ± 0.10 $\text{ng L}^{-1} \text{day}^{-1}$), while this was rather limited when compared to the dry season. At the SS site, net MMHg production for both seasons was found insignificant for both dark and diurnal conditions (Table 1). The rather limited net MMHg production observed in the water column of the lake contrasts with the high MMHg concentrations determined in this compartment (Figs. 2 and 3; Table A). This suggests that MMHg present in the water column likely originates from another source. The comparison between the extent of the diurnal variation of MMHg concentrations in water with the net M potentials integrated for the same compartment during the same period of time (24 h) (details in SM, Table C) shows that the high accumulation of MMHg measured in water reflects mainly MMHg released from sediment

Fig. 5 Diurnal methylation potentials of Hg determined in the different compartments (bulk and filtered water, sediments, bio-organic substrates) at station SS and NS of Lake Uru Uru for the dry (solid bars) and wet (striped bars)

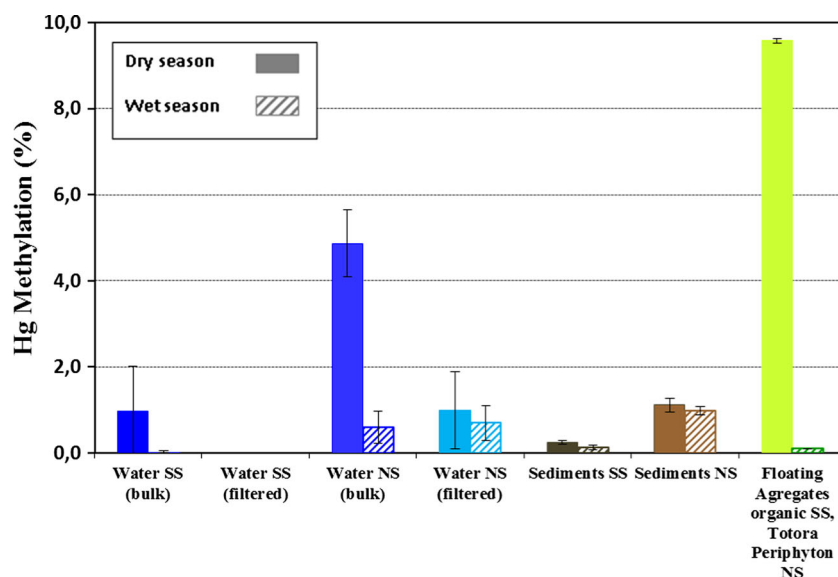


Table 3 Comparison of potential methylation of inorganic mercury and demethylation of methylmercury obtained in water, sediment, and bio-organic substrates (e.g., macrophytic and rhizospheric periphyton, or aggregated biofilms) of Lake Uru Uru with values obtained from incubations in different regions and ecosystems

Matrix	Location-ecosystem	Tracers and method	Incubation time (day)	Diurnal methylation yields (% day ⁻¹)	Diurnal demethylation yields (% day ⁻¹)	Reference
Waters	Mediterranean Sea (marine surface water)	¹⁹⁹ Hg Me ²⁰¹ Hg	1	0.3–6.3	6.4–24.5	Monperrus et al. (2007)
	Canada, Lakes (oxygenic, water column)	¹⁹⁹ Hg Me ²⁰¹ Hg	1	0.6–14.8	0.12	Eckley and Hinkelmann (2006)
	France, Arcachon Bay (1 m depth, water column)	¹⁹⁹ Hg Me ²⁰¹ Hg	1	≤0.02–0.8	6.2–11.9	Bouchet et al. (2013)
	Argentina-Moreno lake (water with plankton <50 μm & UV-PA radiation)	¹⁹⁷ Hg	1	23±11	–	Ribeiro Guevara et al. (2008)
	France, Adour River estuary (Bay of Biscay, SW) (coastal surface water)	¹⁹⁹ Hg Me ²⁰¹ Hg	1	< 0.01–0.4	6.6–55.3	Sharif et al. (2014)
	Bolivia, Altiplano Lake Uru Uru (water column)	¹⁹⁹ Hg Me ²⁰¹ Hg	1	0.04–4.9	0.4–21.0	Present study
	Brazil, Amazonian Lakes	²⁰³ Hg	3	0.022–0.41	–	Guimarães et al. (1994, 1999)
	Brazil, Pantanal Lake	²⁰³ Hg	2–5	1.2	–	Guimarães et al. (1998)
	Brazil, Sao Paulo L. do Diogo Lake	²⁰³ Hg	1	2.5	–	Lemos et al. (1999)
	France, Mediterranean Sea (coastal surface sediments)	¹⁹⁹ Hg Me ²⁰¹ Hg	1	0.79–1.32	0.47–1.42	Monperrus et al. (2007)
Sediments	France, Arcachon Bay (surface sediment)	¹⁹⁹ Hg Me ²⁰¹ Hg	1	0.4–3.2	47–72	Bouchet et al. (2013)
	Bolivia, Altiplano, Lake Uru Uru (surface sediment)	¹⁹⁹ Hg Me ²⁰¹ Hg	1	0.14–1.1	9.2–68.3	Present study
	Brazil, Pantanal Ipiranga Lake	²⁰³ Hg	3	2.2–3.5	–	Guimarães et al. (1998)
	Brazil, Ribeirão das Lajes Reservoir	²⁰³ Hg	4	1.5	–	Coelho-Souza et al. (2006)
	Brazil, eutrophic tropical Lagoinha Lake	²⁰³ Hg	4–12	17 / 1.5–7.7	–	Mauro et al. (2002)
	Bolivia, Amazon La Granja Lake	²⁰⁰ Hg ²⁰³ Hg	1	27.5–42.7	–	Acha et al. (2005); Correia et al. (2012)
	Bolivia, Amazon Viejo River Lake	²⁰³ Hg	1	3.1–4.4	–	Correia et al. (2012)
	Bolivia, Amazon, Salinas Lake	²⁰³ Hg	1	0.19–0.21	–	Gentès et al. (2013)
	France, SW Sanguinet Lake	¹⁹⁹ Hg Me ²⁰¹ Hg	1	6.0±2.3	–	–
	France, SW Aureilhan Lake	¹⁹⁹ Hg Me ²⁰¹ Hg	1	4.7±3.7	–	–
Totoras Periphyton	Bolivia, Altiplano, Lake Uru Uru	¹⁹⁹ Hg Me ²⁰¹ Hg	1	0	–	Present study
	Bolivia, Altiplano Lake Uru Uru	¹⁹⁹ Hg Me ²⁰¹ Hg	1	9.58±0.05	–	Present study

or bio-organic substrates as previously suggested in other ecosystems (Table 3, Bouchet et al. 2013; Guimaraes et al. 1999; Guimarães et al. 2000; Point et al. 2007).

Mercury methylation and demethylation in surface sediments

MMHg concentrations in sediments from Lake Uru Uru were found to range from 0.9 ± 0.2 to 4.0 ± 1.3 ng g⁻¹ and those of IHg from 200 ± 12 to 394 ± 35 ng g⁻¹, with the highest values being observed at the NS site (Table B). Also, the percentages of organic carbon (~5.8 %) and sulfur (~1 %) were similar in magnitude at both sites. Concentrations of MMHg and IHg in sediments from Lakes Titicaca and Poopó were very low in comparison to those in Lake Uru Uru (Table B).

Methylation Overall, diurnal M rates in Lake Uru Uru sediments ranged from 0.14 ± 0.05 to 1.1 ± 0.2 % day⁻¹ (Table 2, Fig. 5). Higher M values were found at NS (1.0 – 1.1 % day⁻¹) than for SS (0.14 – 0.25 % day⁻¹) for both seasons ($p < 0.05$). M potentials remained significantly higher in dark conditions at both sites and for both seasons. Complementary data obtained from nearby Lake Titicaca and lake Poopó showed similar ($p > 0.05$) but low M potentials (give values here), in the same range as those measured at SS for the same season (Table 2). These data probably reflect a baseline value for Hg methylation in undisturbed sediment of the TDPS watershed. The diurnal M potential in the sediments of Lake Uru Uru are also comparable with other lacustrine or coastal sites previously investigated under similar experimental conditions (Table 3).

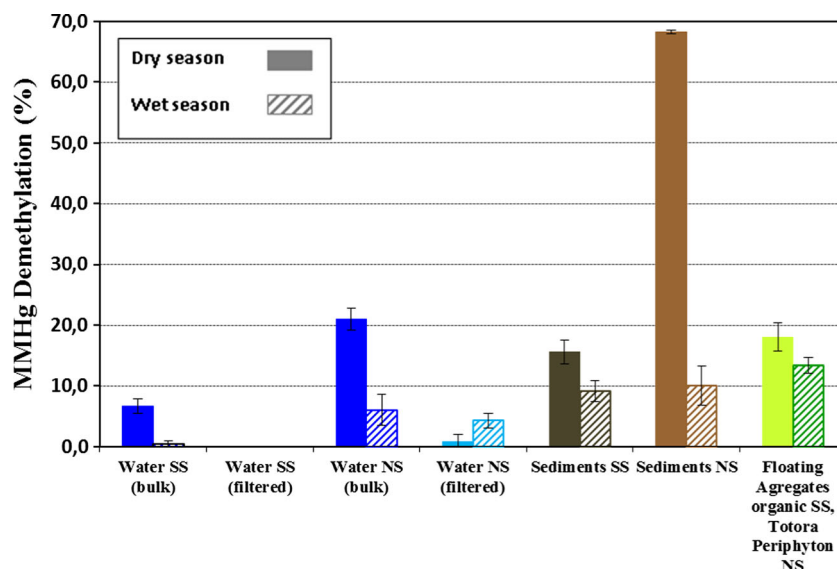
Demethylation Demethylation potentials in Lake Uru Uru sediments during the dry season, under daylight conditions, were significantly different between NS and SS sites

($p < 0.05$), exhibiting 68.3 ± 0.2 and 15.6 ± 1.9 % day⁻¹, respectively (Table 2, Fig. 6). Under dark conditions, the D potentials were similar (28 ± 3 and 28 ± 1 % day⁻¹) at both sites. In the wet season, the D potentials were significantly lower for both NS and SS (respectively, 10.1 ± 3.2 and 9.2 ± 1.8 % day⁻¹, $p < 0.05$). While under dark condition, the D potentials were 29 ± 4 % day⁻¹ for the NS and 5.2 ± 0.7 % day⁻¹ for SS.

In Lake Poopó, D values were similar under daylight and darkness conditions (26.0 – 29.1 % day⁻¹, Table 2) ($p > 0.05$), while much higher D potentials were measured in Lake Titicaca (ca. 78 % day⁻¹). In all sediment types from the different lakes of this Altiplano region, D always remains a significant process, as previously shown in sediments from other locations (Table 3). Degradation of MMHg in sediments of Lake Uru Uru cannot be clearly attributed to either light-induced or dark processes, but likely involving more specifically different bacteria communities and assemblages. For instance, a study carried out by Oremland et al. (1991) in anoxic sediments found that communities of metallogenic and sulfate-reducing bacteria are involved in MMHg demethylation processes. Bouchet et al. (2013) also found significant demethylation rates in a shallow coastal lagoon under similar experimental conditions (Table 3) which was clearly not enhanced under light exposition.

Net methylation assessment The net M calculations (Table 2) indicate that the methylation capacity of sediments was much higher relative to the water compartment and leading to higher yield during the dry season. The comparison of the two sites shows that MMHg was mainly produced in the sediment at NS, for both seasons (3.4 ± 1.2 and 2.0 ± 0.5 ng g⁻¹ day⁻¹ for the dry and wet seasons, respectively). Although net methylation rates at SS were lower than those at NS, they remained slightly positive (0.5 ± 0.2 and 0.19 ± 0.15 ng g⁻¹ day⁻¹ for the

Fig. 6 Diurnal demethylation potentials of Hg determined in the different compartments (bulk and filtered water, sediments, bio-organic substrates) at station SS and NS of Lake Uru Uru for the dry (solid bars) and wet (striped bars) season



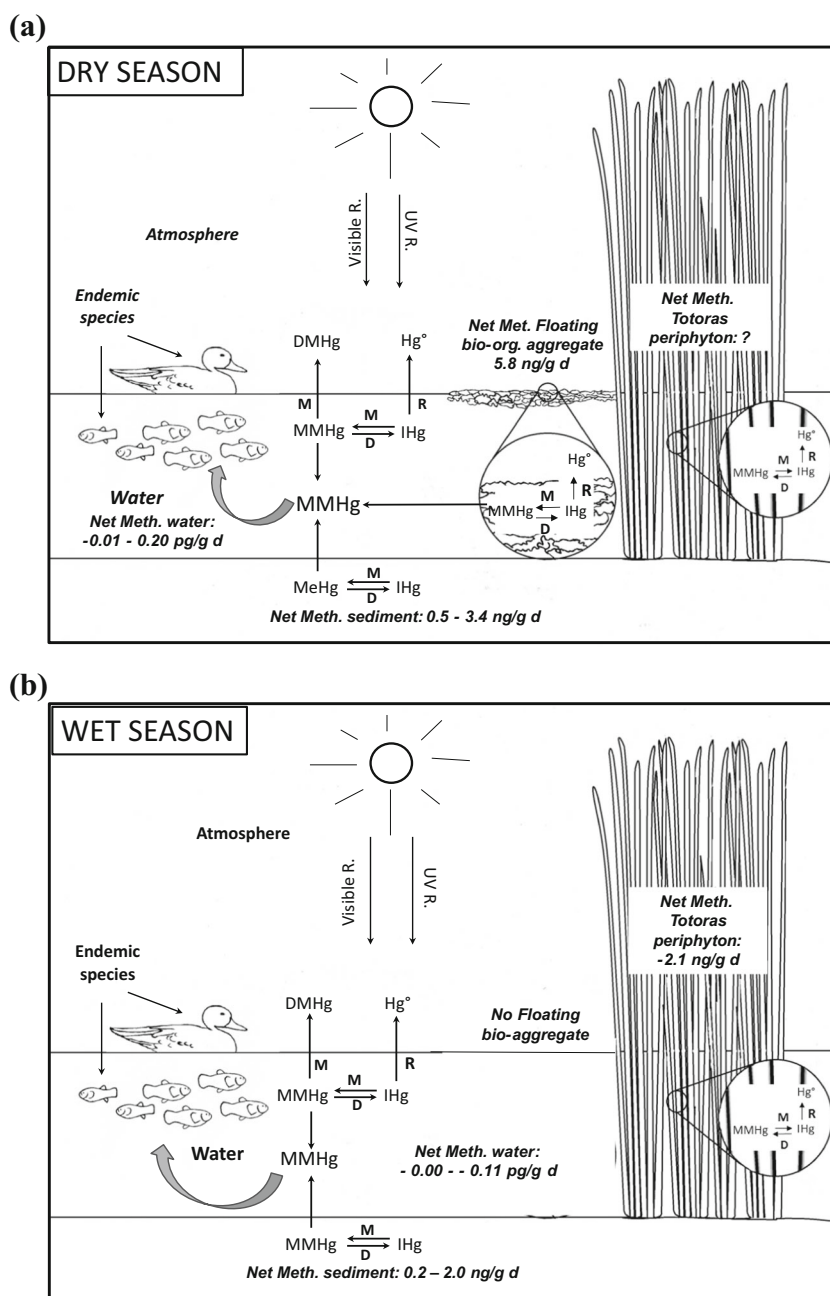
dry and wet seasons, respectively). In contrast, the negative net M in Lakes Titicaca and Poopó suggest that the sediment may not be a significant source, but a sink of MMHg (-0.17 ± 0.03 and -0.02 ± 0.03 ng g⁻¹ day⁻¹, respectively).

Methylation and demethylation in bio-organic substrates

Organic floating aggregates presented higher concentrations of IHg (86.4 ± 13.5 ng g⁻¹) than the periphyton associated with the Totorá plant (33.5 ± 2.5 ng g⁻¹) (Table B). Similar concentrations of MMHg were found in the Totorá's periphyton (16.1 ± 3.2 ng g⁻¹) and in floating organic aggregates (13.5 ± 0.8 ng g⁻¹).

The M potential of the floating organic aggregates incubated under sunlight conditions was 9.58 ± 0.05 and 16.51 ± 2.8 % day⁻¹ under dark conditions (Table 2, Figs. 5 and 6). Diurnal and dark D rates were in a similar range, with 18.0 ± 2.4 and 15.1 ± 2.6 % day⁻¹, respectively. This indicates that in floating organic aggregates, methylation takes place principally by means of dark biotic mechanisms. This process is probably linked to sulfate-reducing bacterial community identified in this matrix, which is also different from other SRB communities found in the waters and sediments of Lake Uru Uru (Fig. 4). The formation of anoxic niches in the organic aggregates may also promote Hg methylation mediated by

Fig. 7 Schematic representation of the potential net methylation of Hg occurring in different compartments of Lake Uru Uru for **a** dry season and **b** wet season. Net methylation are expressed in nanograms per gram per day in order to compare water, sediment, and bio-organic substrate incubation measurements



anaerobic communities. In this sense, it should be taken into account that the particulate matter, and more specifically large and small organic aggregates, may be also components contributing to MMHg burden in the water column as observed during the dry season.

Hg methylation capacity of the periphyton associated with *Totora* plants was found negligible ($<LD=0.1\% \text{ day}^{-1}$). However, significant D extents were measured ($13.4 \pm 1.3\% \text{ day}^{-1}$), with no difference with the incubation made under darkness (Table 2, Figs. 5 and 6). Conversely, these results show a high MMHg demethylation capacity involving the participation of diverse aquatic micro-organisms, including bacteria communities. Periphyton associated with *Totora*'s plant tend to accumulate MMHg. Interestingly, Lanza et al. (2015) suggest that algae found in these periphyton, such as *Oedogonium* sp. can bioconcentrate metals and also MMHg in Lake Uru Uru showing that periphyton could be beneficial in reducing aqueous MMHg by both accumulation and degradation.

Net methylation assessment The floating organic aggregates were characterized by a net methylation capacity of $5.8 \pm 1.8 \text{ ng g}^{-1} \text{ day}^{-1}$, which is twice higher under dark conditions, while *Totora*'s periphyton showed a net demethylation capacity of $2.3 \pm 0.7 \text{ ng g}^{-1} \text{ day}^{-1}$, with no change in dark conditions (Table 2). MMHg production in periphyton isolated from *Totora* plants seems very low in comparison to previous experiments with periphyton associated to macrophytes from the Bolivian Amazon (Table 3). Meanwhile, the diurnal methylation potential of floating organic aggregates ($9.58 \pm 0.05\% \text{ day}^{-1}$) was found to be in the same range than the periphyton associated with macrophytes from tropical ecosystems and from other temperate lakes (Table 3).

Implications for MMHg contamination in Lake Uru Uru

Lake Uru Uru (and part of the TDPS watershed, Bolivian Altiplano) acts as a sink for several mining and urban waste effluents (Garcia 2006; Tapia et al. 2012). Mercury pollution may become an important threat for local population living from hunting and fishing of several endemic species. Potential exposure to elevated MMHg levels was assessed in various species of water birds and fish from Lake Uru Uru exhibiting Hg levels averaging around 2 and $1 \mu\text{g g}^{-1}$ in birds and fish muscle, respectively (Aguirre et al. 2014; Molina et al. 2012). Thus, the elucidation of the main processes controlling the production of MMHg in the lake is of primary importance and is summarized in Fig. 7. During the dry season, the highest Hg methylation potential was found in floating organic aggregates, followed by sediments (Fig. 7a). A lower methylation capacity in sediments was found during the wet season

(Fig. 7b). The origin of the floating organic aggregates and their biological composition is not well understood. Their presence was only reported during the dry season and may result from the decomposition and flocculation of fresh organic matter originating from the autotrophic production of plankton, *Totora*'s periphyton exudates, and suspended particulate matter in combination with the higher conductivity reported during this season. The complementary contribution of organic matter originating from the discharge of urban effluents localized in the northern part of Lake Uru Uru has also to be considered. Hg methylation potentials measured were low in the water column compared to the sediments. This suggests that the increasing MMHg concentrations measured in the water during the 24-h cycle may also reflect the contribution of MMHg originating from other aquatic compartments, such as bio-organic substrates during the dry season, but with a constant resupply from the sediment compartment.

Acknowledgments This work is a contribution to the COMIBOL project (INSU CNRS/IRD EC2CO Program) and LAPACHAMAMA project (ANR CESA program, No. ANR-13-CESA-0015-01). We wish to thank J.L. Duprey, A. Castillo, M. Claire (IRD Bolivia), and Don German Calizaya (Fishermen Association, Machacamarca, Bolivia) for their help and assistance during the field campaigns.

References

- Acha D, Hintelmann H, Pabon CA, Iñiguez V, Roulet M, Guimaraes JRD, Luna R, Alanoca L, Sanchez S (2005) Sulfate-reducing bacteria in floating macrophyte rhizosphere from an Amazonian flood plain lake in Bolivia and their association with Hg methylation. *Appl Environ Microbiol* 71(11):7531–7535
- Acha D, Pabon CA, Hintelmann H (2012) Mercury methylation and hydrogen sulfide production among unexpected strains isolated from periphyton of two macrophytes of the Amazon. *FEMS Microbiol Ecol* 80:637–645
- Aguirre M, Lazzaro X, Point D, Pouilly M (2014) Línea base de conocimientos sobre los recursos hidrológicos en el sistema TDPS con enfoque en la cuenca del Lago Titicaca. IRD - UICN, Quito, Ecuador, p 320
- Allen JW, Shanker G, Tan KH, Aschner M (2002) The consequences of methylmercury exposure on interactive functions between astrocytes and neurons. *Neurotoxicology* 23:755–759
- Amyot MS, Mierle G, Lean D, McQueen DJ (1997) Effect of solar radiation on the formation of dissolved gaseous mercury in temperate lakes. *Geochim Cosmochim Acta* 61:975–987
- Arcagni M, Campbell L, Arribère MA, Marvin-DiPasquale M, Rizzo A, Ribeiro GS (2013) Differential mercury transfer in the aquatic food web of a double basined lake associated with selenium and habitat. *Sci Total Environ* 454–455:170–180
- Baldi F, Parati F, Filippelli M, Electric Power Research Institute PACAUS, Environment C, Atmospheric Environment Service C et al (1995) Dimethylmercury and dimethylmercury-sulfide of microbial origin in the biogeochemical cycle of Hg (English). In: Mercury as a global pollutant. International conference (English), vol 80. Springer, Dordrecht, pp 805–815
- Barkay T, Wagner-Döbler I (2005) Microbial transformations of mercury: potentials, challenges, and achievements in controlling mercury toxicity in the environment. *Adv Appl Microbiol* 57:1–52

- Black FJ, Poulin BA, Flegal AR (2012) Factors controlling the abiotic photo-degradation of monomethylmercury in surface waters. *Geochim Cosmochim Acta* 84:492–507
- Blumthaler M, Ambach W, Ellinger R (1997) Regular paper: increase in solar UV radiation with altitude. *J Photochem Photobiol B Biol* 39: 130–134
- Bouchet S, Tessier E, Monperrus M, Bridou R, Clavier J, Thouzeau G et al (2011) Measurements of gaseous mercury exchanges at the sediment-water, water-atmosphere and sediment-atmosphere interfaces of a tidal environment (Arcachon Bay, France). *J Environ Monit: JEM* 13:1351–1359
- Bouchet S, Amouroux D, Rodriguez-Gonzalez P, Tessier E, Monperrus M, Thouzeau G et al (2013) MMHg production and export from intertidal sediments to the water column of a tidal lagoon (Arcachon Bay, France). *Biogeochemistry* 114:341–358
- Coelho-Souza SA, Guimarães JRD, Mauro JBN (2006) Mercury methylation and bacterial activity associated to tropical phytoplankton. *Sci Total Environ* 364:188–199
- Compeau G, Bartha R (1984) Methylation and demethylation of mercury under controlled redox, pH and salinity conditions. *Appl Environ Microbiol* 48:1203–1207
- Correia RRS, Miranda MR, Guimaraes JRD (2012) Mercury methylation and the microbial consortium in periphyton of tropical macrophytes: effect of different inhibitors. *Environ Res* 112:86–91
- Craig PJ, Morton SF (1978) Kinetics and mechanism of the reaction between methylcobalamin and mercuric chloride. *J Organomet Chem* 145:79–89
- Eckley CS, Hintelmann H (2006) Determination of mercury methylation potentials in the water column of lakes across Canada. *Sci Total Environ* 368:111–125
- Fitzgerald WF, Clarkson TW (1991) Mercury and monomethylmercury—present and future concerns. *Environ Health Perspect* 96:159–166
- Fitzgerald WF, Lamborg CH (2004) *Geochemistry of mercury in the environment treatise on geochemistry*, vol 9. Elsevier, Oxford
- García ME (2006) Transport of arsenic and heavy metals to Lake Poopó–Bolivia Natural Leakage and Anthropogenic Effects Department of Water Resource Engineering Lund Institute of Technology. Doctoral Thesis. Lund, Sweden
- Gentès S, Monperrus M, Legeay A, Maury-Brachet R, Davail S, André J-M et al (2013) Incidence of invasive macrophytes on methylmercury budget in temperate lakes: central role of bacterial periphytic communities. *Environ Pollut* 172:116–123
- Guimarães JRD, Malm O, Padovani C, Sanches M, Forsberg B, Pfeiffer WC (1994) A summary of data on net mercury methylation rates in sediment, water, soil and other samples from the Amazon region obtained through radiochemical methods. Proceedings of the international workshop on environmental mercury pollution and its health effects in Amazon River Basin, Rio de Janeiro, p 94–99
- Guimarães JRD, Meili M, de Souza Brito EM (1998) Hg methylation in sediments and floating meadows of a tropical lake in the Pantanal floodplain, Brazil. *Sci Total Environ* 213:165–175
- Guimaraes JRD, Fostier A-H, Forti MC, Melfi JA, Kehrig H, Mauro JBN et al (1999) Mercury in human environmental samples from two lakes in Amapá, Brazilian Amazon. *Ambio* 28:296–301
- Guimarães JRD, Meili M, Hylander LD, EdCe S, Roulet M, Mauro JBN et al (2000) Mercury net methylation in five tropical flood plain regions of Brazil: high in the root zone of floating macrophyte mats but low in surface sediments and flooded soils. *Sci Total Environ* 261:99–107
- Hammerschmidt CR, Fitzgerald WF (2006) Photodecomposition of methylmercury in an Arctic Alaskan Lake (English). *Environ Sci Technol* 40:1212–1216
- Hintelmann H (2010) Organomercurials. Their formation and pathways in the environment. *Met Ions Life Sci* 7:365–401
- Hollweg TA, Gilmour CC, Mason RP (2009) Methylmercury production in sediments of Chesapeake Bay and the mid-Atlantic continental margin. *Mar Chem* 114:86–101
- Kirk JL, Louis VLS, Hintelmann H, Lehnerr I, Else B, Poissant L (2008) Methylated mercury species in marine waters of the Canadian high and sub arctic (English). *Environ Sci Technol* 42:8367–8373
- Lalonde JD, Amyot M, Kraepiel AML, Morel FMM (2001) Photooxidation of Hg(0) in artificial and natural waters (English). *Environ Sci Technol* 35:1367–1372
- Lanza WG, Acha D, Point D, Masbou J, Alanoca L, Amouroux D, et al (2015) Association of a specific algal group to methylmercury accumulation in periphyton of a tropical high-altitude Andean Lake. 2015; submitted
- Lehnerr I, St. Louis VL (2009) Importance of ultraviolet radiation in the photodemethylation of methylmercury in freshwater ecosystems (English). *Environ Sci Technol* 43:5692–5698
- Lemos RA, Guimarães JRD, Bianchini JI (1999) Mercury methylation in *Eichhornia azuara* roots and sediments during a seasonal cycle in a Brazilian lake. Proceedings of the 5th International Conference on Hg as a Global Pollutant, Rio de Janeiro, Brazil, p 462
- Marusczak N, Larose C, Dommergue A, Paquet S, Beaulne J-S, Maury-Brachet R et al (2011) Mercury and methylmercury concentrations in high altitude lakes and fish (Arctic charr) from the French Alps related to watershed characteristics. *Sci Total Environ* 409:1909–1915
- Mason RP, Lawson NM, Sheu GR (2001) Mercury in the Atlantic Ocean: factors controlling air-sea exchange of mercury and its distribution in the upper waters. *Deep-Sea Res II Top Stud Oceanogr* 48:2829–2853
- Maurice-Bourgoin L, Quiroga I, Chincheros J, Courau P (2000) Mercury distribution in waters and fishes of the upper Madeira rivers and mercury exposure in riparian Amazonian populations. *Sci Total Environ* 260:73–86
- Mauro JBN, Guimarães JRD, Hintelmann H, Watras CJ, Haack EA, Coelho-Souza SA (2002) Mercury methylation in macrophytes, periphyton, and water-comparative studies with stable and radio-mercury additions. *Anal Bioanal Chem* 374:983–989
- Molina CI, Ibañez C, Gibon FM (2012) Proceso de biomagnificación de metales pesados en un lago hiperhalino (Poopó, Oruro, Bolivia): Posible riesgo en la salud de consumidores. *Ecología en Bolivia [online]* 47:99–118
- Monperrus M, Tessier E, Veschambre S, Amouroux D, Donard O (2005) Simultaneous speciation of mercury and butyltin compounds in natural waters and snow by propylation and species-specific isotope dilution mass spectrometry analysis. *Anal Bioanal Chem* 381:854–862
- Monperrus M, Tessier E, Amouroux D, Leynaert A, Huonnic P, Donard OFX (2007) Mercury methylation, demethylation and reduction rates in coastal and marine surface waters of the Mediterranean Sea. *Mar Chem* 107:49–63
- Monperrus M, Gonzalez PR, Amouroux D, Garcia Alonso JI, Donard OFX (2008) Evaluating the potential and limitations of double-spiking species-specific isotope dilution analysis for the accurate quantification of mercury species in different environmental matrices. *Anal Bioanal Chem* 390:655–666
- Oremland RS, Culbertson CW, Winfrey MR (1991) Methylmercury decomposition in sediments and bacterial cultures: involvement of methanogens and sulfate reducers in oxidative demethylation (English). *Appl Environ Microbiol (Print)* 57:130–137
- Point D, Monperrus M, Tessier E, Amouroux D, Chauvaud L, Thouzeau G et al (2007) Biological control of trace metal and organometal benthic fluxes in a eutrophic lagoon (Thau Lagoon, Mediterranean Sea, France). *Estuar Coast Shelf Sci* 72:457–471
- Qianggong Z, Ke P, Shichang K, Aijia Z, Wen-Xiong W (2014) Mercury in wild fish from high-altitude aquatic ecosystems in the Tibetan Plateau. *Environ Sci Technol* 48:5220–5228

- Ribeiro Guevara S, Queimaliños CP, Diéguez MC, Arribére M (2008) Methylmercury production in the water column of an ultraoligotrophic lake of Northern Patagonia, Argentina. *Chemosphere* 72:578–585
- Rodriguez-Gonzalez P, Bouchet S, Monperrus M, Tessier E, Amouroux D (2013) In situ experiments for element species-specific environmental reactivity of tin and mercury compounds using isotopic tracers and multiple linear regression. *Environ Sci Pollut Res Int* 20:1269–1280
- Schaefer JK, Jane Y, Reinfelder JR, Cardona T, Ellickson KM, Tel-Or S et al (2004) Role of the bacterial organomercury lyase (MerB) in controlling methylmercury accumulation in mercury-contaminated natural waters. *Environ Sci Technol* 38:4304–4311
- Sellers P, Kelly CA, Rudd JWM, MacHutchon AR (1996) Photodegradation of methylmercury in lakes. *Nature [London]* 380:694–697
- Sharif A, Monperrus M, Tessier E, Bouchet S, Pinaly H, Rodriguez-Gonzalez P et al (2014) Fate of mercury species in the coastal plume of the Adour River estuary (Bay of Biscay, SW France). *Sci Total Environ* 496:701–713
- Spangler WJ, Spigarelli JL, Rose JM, Flippin RS, Miller HH (1973) Degradation of methylmercury by bacteria isolated from environmental samples. *Appl Microbiol* 25:488–493
- Tapia J, Audry S, Townley B, Duprey JL (2012) Geochemical background, baseline and origin of contaminants from sediments in the mining-impacted Altiplano and Eastern Cordillera of Oruro, Bolivia. *Geochem Explor Environ Anal* 12:3–20
- Tseng CM, Lamborg C, Fitzgerald WF, Engstrom DR (2004) Cycling of dissolved elemental mercury in Arctic Alaskan lakes. *Geochim Cosmochim Acta* 68:1173–1184
- UNEP (2013) Global mercury assessment 2013: sources, emissions, releases and environmental transport 2013. UNEP Chemicals Branch, Geneva
- Wang S, Zhang M, Li B, Xing D, Wang X, Wei C et al (2012) Comparison of mercury speciation and distribution in the water column and sediments between the algal type zone and the macrophytic type zone in a hypereutrophic lake (Dianchi Lake) in southwestern China. *Sci Total Environ* 417–418:204–213
- Weber JH (1993) Review of possible paths for abiotic methylation of mercury(II) in the aquatic environment. *Chemosphere* 26:2063–2077
- Zaratti F, Forno RN, Garcia Fuentes J, Andrade MF (2003) Erythemally weighted UV variations at two high-altitude locations. *J Geophys Res* 108:ACH5-ACH1-6

The biogeochemical cycle of Hg in the high altitude and tropical hydrosystem of Lake Uru-Uru, Bolivian Altiplano

This thesis is dedicated to the study of the biogeochemical cycle of Hg (Hg) in the high altitude (3800m a.s.l.) and tropical aquatic ecosystem Uru-Uru, located on the Bolivian Altiplano. The aim of this study is to gather information about the concentration levels of different Hg species, and to understand the mechanisms involved in the formation of methylHg (MMHg) which bioaccumulates in trophic food webs. In this environment, Hg methylation is mediated predominantly by sulphate-reducing bacteria. Floating bio-inorganic aggregates and surface sediments contributes significantly to the MMHg pool of the ecosystem. The partition coefficients of MMHg and inorganic Hg (iHg) suggest that sediments are the main source of MMHg to the water column. High percentages of dissolved MMHg (~50%) suggest this compound to be highly stable in the water, probably due to the important attenuation of UV radiation and the occurrence of complexing colloidal material. Eventually, analyses of correlation factors Hg/Sb and Hg/W in the sediments show that the main source of Hg is probably from mining origin.

Thèse de doctorat

Thèse présentée et soutenue par: *Lucia Alanoca*

Le : 16 décembre 2016

Au **Laboratoire Géosciences de l'Environnement Toulouse (GET)**, Université **Toulouse Paul Sabatier**.

Sous la direction de : *Patrick Seyler* Directeur de recherche à l'IRD.

Spécialité : Sciences de la Terre et des Planètes Solides.

Cycle biogéochimique du Hg dans l'hydrosystème tropical d'altitude lac UruUru de l'Altiplano bolivien

Cette thèse est consacrée à l'étude du cycle biogéochimique du Hg (Hg) dans l'écosystème aquatique tropical Uru-Uru, situé sur l'Altiplano bolivien à 3800m. L'objectif était de documenter les niveaux de concentrations pour différentes espèces de Hg, et de comprendre les mécanismes mis en jeu dans la formation du méthylHg (MMHg), qui se bioaccumule dans la chaîne trophique. Dans cet environnement, la méthylation du Hg résulte majoritairement de l'activité des bactéries sulfato-réductrices. Les agrégats bio-inorganiques flottants et les sédiments de surface contribuent significativement au pool de MMHg de l'écosystème. Les coefficients de partition du MMHg et du Hg inorganique (iHg) suggèrent que les sédiments sont la source principale du MMHg vers la colonne d'eau. Les fortes proportions en MMHg dissous (~50%) suggèrent une grande stabilité de ce composé dans l'eau, probablement influencé par l'atténuation forte du rayonnement UV et la présence de matériel colloïdal complexant. Finalement, les analyses de coefficients de corrélation Hg/Sb et Hg/W dans les sédiments, indiquent que la source principale du Hg est probablement d'origine minière.

Mots clés : Hg, méthylHg, isotopes stables, Altiplano bolivien, méthylation, deméthylation, métaux, lac, coefficients de partition.

Laboratoire Géosciences de l'Environnement Toulouse (GET)
Observatoire Midi-Pyrénées
14, avenue Edouard Bélin
31400 Toulouse