

UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DE PERNAMBUCO

ANA LUIZA DA SILVA COSTA

**CARACTERÍSTICAS DE BACTÉRIAS NATURALMENTE
ESTABELECIDAS EM SOLOS DE MANGUEZAL CONTAMINADOS
POR MERCÚRIO**

RECIFE

2022

Ana Luiza da Silva Costa
Geóloga

**Características de bactérias naturalmente estabelecidas em solos de manguezal
contaminados por mercúrio**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciência do Solo, da Universidade Federal Rural de Pernambuco, como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre em Ciência do Solo.

Orientadora: Prof.^a Dra. Caroline Miranda Biondi

Coorientadoras:
Prof.^a Dra. Giselle Monteiro Fracetto
Dra. Simone Aparecida da Silva Lins

**Recife
2022**

Autorizo a reprodução e divulgação total ou parcial deste trabalho, por qualquer meio convencional ou eletrônico, para fins de estudo e pesquisa, desde que citada a fonte.

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação
Universidade Federal Rural de Pernambuco
Sistema Integrado de Bibliotecas
Gerada automaticamente, mediante os dados fornecidos pelo(a) autor(a)

C838c Costa, Ana Luíza
Características de bactérias naturalmente estabelecidas em solos de manguezal contaminados por mercúrio / Ana Luíza Costa. - 2022.
49 f. : il.

Orientadora: Caroline Miranda Biondi.
Coorientadora: Giselle Monteiro Fracetto; Simone Aparecida da Silva Lins.
Inclui referências.

Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal Rural de Pernambuco, Programa de Pós-Graduação em Ciência do Solo, Recife, 2022.

1. Contaminação. 2. Estuário do Rio Botafogo. 3. Isolamento. 4. Microbiota de manguezal. 5. sequenciamento genético. I. Biondi, Caroline Miranda, orient. II. Lins, Giselle Monteiro Fracetto; Simone Aparecida da Silva, coorient. III. Título

CDD 631.4

ANA LUIZA DA SILVA COSTA

**Características de bactérias naturalmente estabelecidas em solos de manguezal
contaminados por mercúrio**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciência do Solo, da Universidade Federal Rural de Pernambuco, como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre em Ciência do Solo.

Aprovada em 04 de agosto de 2022

Prof.^a Dra. Caroline Miranda Biondi

Orientadora

Universidade Federal Rural de Pernambuco

BANCA EXAMINADORA

Prof.^a Dra. Ana Dolores Santiago de Freitas

Universidade Federal Rural de Pernambuco

Dra. Simone Aparecida da Silva Lins

Universidade Federal Rural de Pernambuco

Dedico à minha mãe
Solange, avó Maria e tia Raquel, com todo carinho e gratidão.

AGRADECIMENTOS

À universidade Federal Rural de Pernambuco e ao Programa de Pós-Graduação em Ciências do solo pela oportunidade de cursar o mestrado;

A Fundação de Amparo à Ciência e Tecnologia do Estado de Pernambuco – FACEPE, pela concessão da bolsa de estudo;

Aos meus familiares por todo apoio e incentivo que sempre dedicaram a mim;

Aos professores do programa pelos conhecimentos adquiridos através das disciplinas ministradas durante a pandemia;

À minha orientadora, Prof.^a Dra. Caroline Biondi, por todo conhecimento, paciência e atenção que teve comigo durante o período do mestrado;

À Dra. Simone Lins por toda ajuda e apoio para realizar as atividades no laboratório de Química Ambiental do Solo;

Aos alunos do laboratório de microbiologia do solo por toda receptividade e ajuda para realizar as análises biológicas, em especial à Cíntia Gouveia e Adriana Bezerra;

À Prof.^a profa. Dra. Giselle Fracetto por toda ajuda e disponibilidade quando a procurei para sanar dúvidas, e por ter resolvido o processo do envio das amostras para sequenciamento;

Aos meus amigos Bruno Leonardo e Naylane Leite por todo apoio, incentivo e companheirismo desde o ensino médio;

Aos amigos que fiz no PPG em Ciências do Solo: Franciane Araújo, Rita Magally Renato Verissimo e Djennyfer Ferreira, obrigada pelo convívio, apoio e amizade. Nos acolhemos em momentos difíceis e partilhamos momentos de alegria. Espero que continuemos nutrindo esse vínculo por muitos anos;

À Paula Araújo pela disponibilidade dos dados físico-químicos e biogeoquímicos. E por ter me introduzido nas primeiras atividades laboratoriais, juntamente com Petronio Mendes.

A Petronio Mendes pela disponibilidade de me ajudar com o tratamento e interpretação dos dados do sequenciamento;

À Paula Caroline pela receptividade e momentos de escuta;

A todos que não foram mencionados, mas que tiveram alguma participação direta ou indireta para a realização desse trabalho.

Muito obrigada!

“A importância dos infinitamente pequenos é infinitamente grande.”

(Louis Pasteur)

Características de bactérias naturalmente estabelecidas em solos de manguezal contaminados por mercúrio

RESUMO

Os manguezais desempenham um papel importante na atenuação de desastres ambientais, como tempestades e erosão. É uma importante área de desova e berçário para biota marinha. Além disso, se destaca no potencial de armazenamento de carbono e ampla diversidade microbiana. Apesar de tamanha importância, as áreas de manguezal vêm sofrendo grande desequilíbrio ambiental provocado por atividades humanas, principalmente a alta carga de contaminantes orgânicos e inorgânicos, que provocam alterações nos parâmetros físico-químicos, geoquímicos e biológico desse ecossistema. As amostras de solo utilizadas neste estudo (P1 e P2) foram coletadas no manguezal do estuário do Rio Botafogo, localizado em Itamaracá, Pernambuco, Brasil. Esse estuário se destaca pelas maiores concentrações de mercúrio (Hg) registradas no litoral brasileiro, provocadas por descarte inadequado de resíduos de uma antiga fábrica de cloro-soda instalada na região. O objetivo da pesquisa é isolar e caracterizar morfologicamente bactérias de solos contaminados com Hg coletados no estuário do Rio Botafogo. E, além disso, testar a resistência desses isolados a diferentes concentrações de Hg inorgânico (iHg) no meio de cultivo. Para isso foram utilizadas amostras coletadas no estuário do Rio Botafogo, Itamaracá, PE. As amostras de solo foram submetidas a análises de pH, Eh, MOS, granulometria e Hg total. Foi adotado o processo de isolamento de bactérias em meio de cultura Luria Bertani (LB), enriquecido com Hg, na forma de HgCl_2 , nas doses 0; 2,5; 5; 10; 50 e 100 mg L^{-1} . Foram obtido um total de 115 isolados, que foram submetidos a caracterização morfológica, molecular e teste de gram. As cepas resistentes a concentração de 100 mg L^{-1} de Hg em meio sólido (11 isolados) foram submetidas a testes de concentrações inibitórias mínimas (CIMs), resultando em CIMs entre 50 e 100 mg L^{-1} . As cepas que apresentaram as maiores CIMs foram isoladas da amostra de solo com maior teor de Hg total. Os isolados mais resistentes ao Hg foram identificados com base na região 16S rRNA e apresentaram maior similaridade com os gêneros *Enterococcus*, *Bacillus* e *Pseudomonas*.

Palavras-chave: Contaminação. Estuário do Rio Botafogo. Isolamento. Microbiota de manguezal. Sequenciamento genético.

Technical features of innate bacteria which residence in mangrove soil contaminated by mercury

ABSTRACT

Mangroves act important role in environment because operate as mitigating place in case of environmental disasters such as storms or erosion. These ecosystems are an important spawning area and nursery for marine biota. Beyond that, acts as key role in carbon capture and have a wide microbial diversity. Despite that importance, mangroves ecosystems have been adversely affected by human activities, primarily the high load of organic and inorganic contaminants. These activities are responsible for changes in the physical-chemical, geochemical and biological parameters of this ecosystem. The soil samples used in this study (P1 and P2) were collected in the mangrove swamp of the Botafogo River estuary, located in Itamaracá, Pernambuco, Brazil. This estuary has the worst mercury contamination rates recorded on the entire Brazilian coast, this pollution was caused by improper waste disposal from an old chlorine-soda factory installed in the region, named Brazilian agrochemical (Agroquímica do Brasil). Soil sample collection were analyzed in laboratory and provided results of pH levels, Eh (redox potential), Soil Organic Matter (SOM) and Granulometry. The purpose of the research is to isolate and morphologically characterize bacteria from soils contaminated with mercury (Hg) collected in the Botafogo River estuary. And, in addition, to test the resistance of these Bacterial isolation to different concentrations of inorganic mercury (Hg) in culture media. For this, the process of isolation of bacteria was adopted in selective rich medium with Hg, in the form of HgCl_2 , in doses 0; 2.5; 5; 10; 50 and 100 mg L⁻¹. Luria-Bertani broth was adopted in this study. As a result, a total of 115 isolation were obtained, which were submitted to morphological and molecular characterization and gram stain. Bacterial strain resistant to a concentration of 100 mg L⁻¹ of iHg in solid medium (11 isolation) were submitted to minimal inhibitory concentrations (MICs) tests, resulting in MICs between 50 and 100 mg L⁻¹. The strains that showed the highest MICs were isolated from the soil sample with the highest Hg concentrations. The isolation most resistant to iHg were identified based on the 16S rRNA region and showed greater similarity to the genus *Enterococcus*, *Bacillus* and *Pseudomonas*.

Keywords: Contamination. Botafogo River Estuary. Isolation. Mangrove Microbiota. Genetic Sequencing.

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1** – Mapa de localização da área de estudo, estuário do Rio Botafogo, PE 23
- Figura 2** – Distribuição total dos isolados obtidos por dose de Hg utilizada no isolamento em meio enriquecido (115). A) Total de isolados da amostra P1; B) Total de isolados da amostra P2 30
- Figura 3** – Dendrograma de similaridade pelo UPGMA, usando índice de Jaccard, com formação de grupos similares fenotipicamente (26 grupos monofiléticos e 100% similares) da amostra de solo P1 34
- Figura 4** – Dendrograma de similaridade pelo UPGMA, usando índice de Jaccard, com formação de grupos similares fenotipicamente (19 grupos monofiléticos e 100% similares) da amostra de solo P2 35
- Figura 5** - Árvore filogenética para a região do gene 16S rRNA para os 11 isolados (A, B, C, D, E, F, G, H, I, J e K) que foram identificados nos gêneros *Enterococcus*, *Bacillus* e *Pseudomonas*. A árvore filogenética de vizinhos mais próximos (*Neighbor-Joining*) foi construída usando o parâmetro Kimura 2 como método para comparar as sequências com as cepas tipo do *EZBioCloud*, pelo programa MEGA 11 aplicando um *bootstrap* de 1000 replicações mínimas 36

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Atributos químicos e físicos dos solos do Estuário do Rio Botafogo, PE 27

Tabela 2 – Teores totais de Hg para as amostras de solo (P1 e P2) coletadas no estuário do Rio Botafogo, PE 35

Tabela 3 – Características morfológicas e tipo de gram das bactérias isoladas da amostra P1, coletada no Estuário do Rio Botafogo, Itamaracá-PE 31

Tabela 4 – Características morfológicas e tipo de gram das bactérias isoladas da amostra P2, coletada no Estuário do Rio Botafogo, Itamaracá-PE 38

Tabela 5 - Primers e condições de ciclagem utilizados para amplificar o gene 16SrRNA 38

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO.....	14
1.1 Hipótese.....	15
1.2 Objetivos.....	15
1.2.1 <i>Objetivo Geral</i>	15
1.2.2 <i>Objetivos Específicos</i>	15
2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	16
2.1 Manguezais.....	16
2.1.1 <i>Microrganismos em manguezais</i>	17
2.2 Mercúrio (Hg).....	18
3 MATERIAL E MÉTODOS.....	23
3.1 Coleta das amostras de solo.....	23
3.2 Atributos químicos e físicos.....	23
3.2.1 <i>Análise granulométrica</i>	23
3.2.2 <i>Matéria orgânica do solo (MOS)</i>	24
3.2.3 <i>pH e Eh</i>	24
3.3 Caracterização geoquímica do solo.....	24
3.3.1 <i>Mercúrio total</i>	24
3.4 Análise de dados.....	24
3.5 Análise biológica.....	24
3.5.1 <i>isolamento de bactérias em meio seletivo enriquecido com mercúrio</i>	25
3.5.2 <i>Teste de Gram (KOH 3%)</i>	25
3.5.3 <i>Identificação molecular das bactérias resistentes ao Hg</i>	25
3.5.4 <i>Concentração inibitória mínima (CIM)</i>	26
4 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	26
4.1 Atributos químicos e físicos das amostras de solos.....	26
4.1.3 Caracterização geoquímica do solo (Hg total).....	27
4.2 Análise biológica.....	28
5 CONCLUSÕES.....	41

1 INTRODUÇÃO

O Rio Botafogo, localizado no litoral norte do estado de Pernambuco, é o principal Rio que deságua no Canal de Santa Cruz. Um braço de mar que possui cerca de 22 km de extensão, que se localiza entre a ilha de Itamaracá e o continente. O estuário do Rio Botafogo é um grande fornecedor de recursos para a comunidade ribeirinha. Porém, esse ecossistema vem sofrendo com um grande desequilíbrio ecológico proveniente do despejo de elevadas cargas de poluentes na região.

Dentre as contaminações presentes no estuário, destaca-se a elevada concentração de mercúrio (Hg), a maior entre os solos de manguezais de todo o Brasil. Porém as altas concentrações de mercúrio no solo do mangue do estuário do Rio Botafogo é uma condição incomum, visto que, de modo geral, as concentrações de mercúrio total em solos e sedimentos de manguezal são geralmente baixas e estão sempre ligadas a entrada por vias antrópicas, como é o caso do estuário do Rio Botafogo. Essa contaminação está diretamente ligada a indústria de cloro-soda que operou entre as décadas de 60 e 90, no município de Igarassu. No processo de produção eram utilizadas células eletrolíticas que geravam resíduos contaminados, que eram despejados diretamente no rio Botafogo, sem nenhum tratamento prévio. Estudos realizados na região, durante a década de 90, mostraram que cerca de 35 toneladas de Hg inorgânico foram lançados no Rio. O que se torna uma preocupação, visto que o ambiente de manguezal apresenta condições geoquímicas ideais (condições anóxicas, pH, salinidade, carbono orgânico lábil, disponibilidade de mercúrio divalente prevalência microrganismos metiladores) para a transformação do mercúrio inorgânico em metilmercúrio, a forma mais danosa desse metal.

O Hg apresenta elevado potencial de gerar danos ao meio ambiente e causar efeitos deletérios à saúde humana devido a alta toxicidade, mobilidade e longo período de resistência na atmosfera.

Atualmente, a recuperação de áreas contaminadas com mercúrio, conta com técnicas físico-químicas. Essas técnicas envolvem custos elevados e podem acarretar um grande desequilíbrio ecológico no meio ambiente. Pois, se tratando de um metal pesado, o Hg não pode ser degradado ou mineralizado. A única opção é transformá-lo da forma mais tóxica (Hg inorgânico e orgânico) para a menos tóxica (Hg elementar) ou imobilizado. Essas limitações das técnicas tradicionais abriram portas para o desenvolvimento de tecnologias verdes menos danosas e mais viáveis economicamente, como é o caso das técnicas de biorremediação, que consistem em biossorção e volatilização do Hg.

A abordagem biológica explora a interação entre os organismos e contaminantes do solo, ou seja, esses microrganismos ao serem expostos a ambientes contaminados por mercúrio e outros metais, desenvolveram a capacidade de resistir ao estresse gerado no meio.

Já que a microbiota estuarina responde rapidamente as condições ambientais provocadas por disfunções antropogênicas, os microrganismos sensíveis ao estresse gerado pela contaminação dos manguezais podem servir para o monitoramento dos impactos externos. por isso, o estudo de bactérias indígenas pode revelar um grande potencial para uso futuro em processos de biorremediação de ambientes contaminados com Hg. Para garantir o sucesso da abordagem de remediação biológica, é preciso primeiro entender os aspectos da ecologia microbiana (diversidade e função) da comunidade microbiológica e a relação entre as propriedades físico-químicas do solo e a diversidade bacteriana encontrada nos solos do manguezal.

Com isso, o objetivo da pesquisa é isolar e caracterizar morfologicamente bactérias de solos contaminados com Hg coletados no estuário do Rio BotafogoGoiana, Pernambuco, Brasil. E, além disso, testar a resistência desses isolados a diferentes concentrações de Hg inorgânico no meio de cultivo.

1.1 Hipótese

As bactérias indígenas do estuário do Rio Botafogo, pertencentes a diferentes grupos taxonômicos, apresentam capacidade de resistir a altas concentrações de Hg presente no meio de cultivo (sólido e líquido)

1.2 Objetivos

1.2.1 Objetivo Geral

Isolar e caracterizar morfologicamente bactérias de solos contaminados com Hg coletados no estuário do Rio Botafogo, Itamaracá, Pernambuco, Brasil. E, além disso, testar a resistência desses isolados a diferentes concentrações de Hg inorgânico no meio de cultivo.

1.2.2 Objetivos Específicos

1.2.2.1 Caracterizar morfologicamente as bactérias isoladas dos solos do manguezal do estuário Rio Botafogo;

1.2.2.2 Relacionar as características das bactérias com os teores de Hg total dos solos do estuário do Rio Botafogo;

1.2.2.3. Identificar, com base na região 16S rDNA, os isolados mais resistentes ao estresse provocado por Hg adicionado no meio de cultivo.

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 Manguezais

Os manguezais são encontrados principalmente nas zonas entremarés das regiões costeiras tropicais e subtropicais do mundo, entre as latitudes 30°N e 30°S. (ROMAÑACH et al., 2018). Corresponde a 0,1% da superfície continental terrestre, ocupando cerca de 110.000 a 240.000 km² da área global total (FRIESS et al., 2019). A distribuição, por continente, segue a seguinte ordem de predomínio: Ásia (42%), África (20%), América do Norte e Central (15%), Oceania (12%) e América do sul (11%). O Brasil ocupa a terceira posição em área de manguezais do mundo, correspondendo a 963.000 hectares, um total de 7% da área global (GIRI et al., 2011).

É um ecossistema importante, pois atua como área de desova e berçário para biota marinha, regula a entrada de água salgada, atenua os efeitos das tempestades e da erosão costeira, previne inundações e serve de apoio para as atividades humanas (GIRI et al., 2011; M. BRANDER et al., 2012). Além disso, é o ecossistema terrestre e/ou de transição mais eficiente na fixação biológica e armazenamento de Carbono (DONATO et al., 2011; KRISTENSEN et al., 2008). Chegando até 50 vezes mais carbono sequestrado em relação as florestas tropicais (KOMIYAMA; ONG; POUNGPARN, 2008), os que os colocam em destaque quanto a importância para mitigar as mudanças climáticas (HOWARD et al., 2017). Com todos esses serviços ecossistêmicos desempenhados pelos manguezais, esses ambientes são prioridade para fins de conservação em todo o mundo (SANDILYAN; KATHIRESAN, 2012), porém sofrem intensos impactos de degradação e desmatamento (SASMITO et al., 2019). Como estão localizados, principalmente, próximos a locais de intensa industrialização, esses ambientes são considerados com grande potencial de desaparecimento da Terra (LEE et al, 2006; DUKE et al, 2007).

Uma das principais razões para isso é o desmatamento de grandes áreas de manguezais para desenvolvimento costeiro (desenvolvimento urbano, agricultura, aquicultura, turismo) ou para uso de recursos (GIRI et al., 2011). Além do desmatamento direto, alterações hidrológicas, mudanças climáticas (em particular, aumento do nível do mar), infestações de insetos e poluição química podem contribuir para a degradação dos manguezais (FRIESS et al., 2012).

Esse ecossistema atua como um sumidouro para diversos poluentes oriundos de atividades antrópicas. E, em média, cerca de 55% dos manguezais foram expostos a degradação nas últimas duas décadas devido a exposição à poluentes (FELLER et al., 2010; TORRES et al., 2019; ARSHAD et al., 2020). A alta carga de poluentes pode gerar desequilíbrio ambiental

e alterações nos atributos físico-químicos e processos geoquímicos do ambiente (BAYEN, 2012). O que pode afetar severamente o microbioma.

Os solos de mangue apresentam subóxicas a anóxicas, determinadas pela ação das marés e descarga de água doce, que reduzem a difusão de O_2 (OTERO et al., 2017). Ou seja, os solos desse ambiente apresentam condições redutoras e salinidade do solo altamente variável (SHERMAN; FAHEY; HOWARTH, 1998). Em resposta a esse ambiente geoquímico, a atividade dos microrganismos aeróbios são reduzidas e outros aceptores de elétrons além do O_2 são usados para a respiração dos microrganismos anaeróbios, os mais atuantes nesses solos (por exemplo, NO_3^- , $Mn^{III,IV}$, Fe^{III} , SO_4^{2-} e CO_2) (SEYBOLD et al., 2002).

2.1.1 Microrganismos em manguezais

Os manguezais são considerados os maiores reservatórios de biodiversidade da Terra, e servem de abrigo para vastas comunidades de microrganismos (FLEMMING; WUERTZ, 2019). Porém, essa diversidade (funcional e estrutural) das comunidades microbianas em áreas de manguezal é amplamente moldada por variáveis ambientais como salinidade, temperatura e nível de oxigênio, que sofrem modificações resultantes da ação das marés e bioturbações. Essas variações acarretam em fauna, flora e microbiota únicas (BAI et al., 2013). Bactérias, Archaea e Fungos correspondem a cerca de 91% da biomassa microbiana, enquanto microalgas e protozoários correspondem a apenas 2 a 7% da (ALONGI, 2002). A comunidade microbiana destes solos desempenham um importante papel na manutenção da produtividade, conservação e recuperação dos manguezais. Estão diretamente ligados a papéis ecológicos e biogeoquímicos dentro do ecossistema manguezal, como transformação de nutrientes, fotossíntese, fixação de nitrogênio, metanogênese, solubilidade de fosfato, redução de sulfato e produção substâncias (antibióticos e enzimas) e, podem caracterizar um importante reservatório de produtos de interesse biotecnológico (SANTOS et al., 2011). A microbiota desse ecossistema atua significativamente na decomposição de poluentes orgânicos, consumo de gases do aquecimento global, atenuação da toxicidade de metais, como o Hg, fixação de carbono e biosurfactantes e biorremediação. Além disso, a microflora do ambiente de manguezal é de grande importância para a indústria farmacêutica, sendo utilizada na produção de medicamentos, enzimas, vacinas, agentes antimicrobianos, moduladores imunológicos, inseticidas e vitaminas. Embora seja um ambiente de grande importância devido a diversidade microbiana e potencial uso biotecnológico, poucos dados descrevendo a filogenia desses microrganismos (SINGH; SINGH; PANDA, 2020).

Devido à importância desses microrganismos, principalmente em processos biogeoquímicos, é preciso compreender os efeitos dos contaminantes, como os metais pesados, sobre essa comunidade microbiana nos solos de manguezais.

2.2 Mercúrio (Hg)

O Hg é um metal tóxico bioacumulativo persistente com propriedades físico-químicas únicas e que de grande interesse para a saúde pública, devido seu alto risco para a saúde humana e ambiental (BJØRKLUND et al., 2017). É classificado pela Organização Mundial da Saúde (OMS) como uma das dez substâncias químicas mais nocivas para a saúde pública global, pois, associado à sua elevada toxicidade, é estimado que cerca de 19 milhões de pessoas em todo o mundo correm o risco de exposição a este elemento (BLACKSMITH INSTITUTE, 2015).

De forma natural, o Hg é liberado no meio ambiente através da degradação de minerais e rochas e ação do vulcanismo. Porém, as atividades antrópicas, principalmente mineração, queima de combustível fóssil e indústrias de cloro-soda, estão elevando o nível de mercúrio no meio ambiente e acarretando a contaminação de solos e águas ao redor do mundo (DASH; DAS, 2012).

O Hg, uma vez presente no meio ambiente, transita entre os vários compartimentos ambientais (atmosfera, água e solo), e diferentes níveis tróficos, até ser aprisionado no solo ou sedimento (SIUDEK; FALKOWSKA; URBA, 2011). Os solos correspondem a um grande reservatório de Hg, onde sua permanência é a mais longa dentre os compartimentos ambientais.

O Hg pode ser encontrado no meio ambiente nas seguintes formas químicas: Hg elementar ou metálico (Hg^0), inorgânico (iHg) e orgânico (oHg). O Hg é o único metal que, em sua forma elementar, mantém-se no estado líquido à temperatura ambiente, e é extremamente volátil e seu vapor é altamente tóxico. É encontrado principalmente na atmosfera, onde pode residir de 6 a 2 anos (OSTERWALDER et al., 2017), e ser transportado por longas distâncias até ser oxidado para a forma inorgânica bivalente.

A forma orgânica corresponde a forma mais frequente de exposição ao Hg (CROWE et al., 2017) é extremamente tóxica devido a capacidade de cruzar barreiras celulares. Predomina como metil mercúrio (MeHg) e etil mercúrio (EtHg). O Hg quando consumido é rapidamente absorvido pelo corpo, amplamente distribuído por todos os tecidos e eliminado lentamente (CRESPO-LÓPEZ et al., 2009). Além disso, é capaz de cruzar barreiras rígidas, como as barreiras hematoencefálica e placentária, obtendo fácil acesso ao sistema nervoso central (SNC) e ao feto, respectivamente. (CRESPO-LÓPEZ et al., 2009; OMS, 2017).

O iHg é encontrado nas formas de bivalente (Hg^{+2}) e monovalente (Hg^{+1}), sendo a forma bivalente a mais estável. Quando o iHg é exposto a condições biogeoquímicas favoráveis pode ser biotransformado em MeHg, por bactérias metanogênicas (CRESPO-LOPEZ et al., 2021). Após formado, o MeHg bioacumula, fica armazenado nos seres aquáticos, como peixes e crustáceos. Além disso, o MeHg pode biomagnificar, ou seja, tende a aumentar a sua concentração à medida que se move de um nível trófico para o seguinte. Consequentemente, a biota aquática passa a ser a principal forma de exposição do mercúrio do ambiente contaminado para os seres humanos, principalmente quando os peixes carnívoros, e que ocupam o topo da cadeia alimentar, fazem parte da dieta das populações (CRESPO-LÓPEZ et al., 2009).

Como a maior parte do Hg encontrado em peixes e marisco é orgânico (metilmercúrio), de 75 a 90%, essa é a forma mais encontrada no corpo das pessoas (HONG; KIM; LEE, 2012). E por estar no topo da cadeia alimentar, os humanos acabam sendo expostos a maiores concentrações de Hg, o que pode acarretar diversos problemas de saúde. Tanto o oHg quanto o iHg são capazes de bioacumular no corpo humano e gerar danos em múltiplos órgãos (PRIYADARSHANEE et al., 2022). Porém, a forma orgânica, metilmercúrio, é a forma com maior toxicidade para humanos. Enquanto o iHg possui uma taxa de absorção entre 2 e 38%, o oHg é absorvido em quase sua totalidade e passa diretamente para a corrente sanguínea (ABERNETHY et al., 2010).

A forma elementar de Hg apresenta a menor biodisponibilidade (0,01%). Além disso, possui baixa absorção pelo corpo humano. A principal via de exposição humana é a inalação de vapor de Hg (PARK; ZHENG, 2012). Após inalado, cerca de 80% do vapor de Hg é prontamente absorvido nos pulmões e rapidamente transportado para a corrente sanguínea e difundido por múltiplos órgãos (RISHER, 1999). Os principais alvos do vapor de Hg são o sistema nervoso central e os rins. Os principais sintomas da exposição crônica ao vapor de Hg são tremores, distúrbios psicológicos, síndrome neuropsíquica (eretismo), parestesia, perda de memória, reflexos retardados e gengivite (LIU et al., 2008).

O Hg inorgânico apresenta maior risco quando a exposição é por via oral. A exposição de um adulto a uma dose entre 1 e 4 g de Hg inorgânico pode ser fatal (VON BURG, 1995). O Hg inorgânico tem os rins como seu principal alvo, podendo causar distúrbios gastrointestinais. A exposição aguda a essa forma de Hg pode acarretar problemas dermatológicos nas unhas e pele, corroer as membranas mucosas e gerar queimaduras corrosivas. Já a exposição crônica pode acarretar acrodinia, anorexia, fadiga, apatia, irritabilidade, fotofobia e vários problemas de hipersensibilidade (RISHER; NICKLE; AMLER, 2003).

Devida a sua alta toxicidade, o metilmercúrio é alvo de grande atenção dos especialistas em saúde ambiental. O que levou alguns países, como Canadá, EUA e Japão, a estabelecerem e gerenciarem padrões de recomendações para a ingestão de frutos do mar como medida de proteção de vulneráveis, como grávidas e fetos (HONG; KIM; LEE, 2012). Pois, embriões e fetos são os mais vulneráveis a exposição ao metilmercúrio, segundo estudos do *CODEX Alimentarius* (HONG; KIM; LEE, 2012). O metilmercúrio é capaz de atravessar a barreira hematoencefálica e a placenta, acumulando-se no cérebro dos fetos. A exposição ao metilmercúrio também pode gerar danos ao sistema reprodutor humano, levando a uma diminuição dos espermatozoides, atrofia do testículo, redução do tamanho e a sobrevivência dos bebês, além de deformidade nos fetos (USEPA, 2010).

A toxicidade do Hg além de acarretar danos ambientais também tem grandes efeitos destrutivos na saúde humana. O que torna de grande urgência a implantação de estratégias eficientes e economicamente viáveis para mitigar o risco de toxicidade desse metal. Como o Hg é um metal pesado, não pode ser degradado ou mineralizado. Assim, a única alternativa para remediar solos e águas contaminadas com Hg é transformá-lo na sua forma menos tóxica e menos persistente, o Hg⁰. Ou imobilizá-lo através de técnicas físicas, como vitrificação.

As principais tecnologias adotadas atualmente para o tratamento de solos contaminados por Hg, incluem: lavagem do solo para gerar uma separação física do Hg do solo; imobilização do Hg reativo por encapsulamento com objetivo de reduzir a mobilidade do Hg no solo; tratamento térmico para volatilizar o Hg, na forma de mercúrio elementar; e o processo de vitrificação, que objetiva imobilizar o Hg em uma matriz vítrea. Visto que as técnicas convencionais físico-químicas usadas para remediação, além de caras, resultam em um grande volume de resíduos contaminados (KUMARI et al., 2020). Esses fatores negativos associados as técnicas tradicionais abriram caminho para propostas mais ecológicas, como a biorremediação microbiana e a fitorremediação, que além de economicamente viáveis, são favoráveis ao meio ambiente, gerando menos danos ambientais (DASH; DAS, 2012; MOSA et al., 2016).

O processo de biorremediação consiste no uso de microrganismos naturais do ambiente ou adicionados intencionalmente com o objetivo de transformar ou quebrar poluentes ambientais tóxicos para formas menos tóxicas. Esses poluentes seriam utilizados pelos microrganismos como fonte de energia para seus processos metabólicos resultando em subprodutos atóxicos ou de menor toxicidade (ALKORTA; EPELDE; GARBISU, 2017).

A biorremediação microbiana pode ocorrer através de volatilização microbiana ou através da biossorção (WAGNER-DÖBLER, 2003). A capacidade de volatilizar o mercúrio é conferida pela presença de um grupo de genes, o *operon mer*.

Essa abordagem de remediação microbiana através da volatilização do Hg vem apresentando bons resultados, em escala piloto, na remoção de Hg de águas industriais contaminadas com Hg (WAGNER-DÖBLER, 2003; WAGNER-DÖBLER, 2013). Porém, apesar desses resultados positivos em águas contaminadas, não há evidências sobre aplicação de BRM em escala de campo ou industrial para recuperação de solos contaminados por Hg. (MAHBUB et al., 2017b).

Após exposição a contaminação por metais, microrganismos podem desenvolver mecanismos de resistência para se adaptarem a esses metais tóxicos. Esses mecanismos de resistência têm sido amplamente estudados para a implementação em processos de redução de riscos ambientais, tais como biorremediação microbiana. Esse processo pode ocorrer através dos processos de redução ou adsorção. O principal caminho pelo qual as bactérias remédiam a contaminação de Hg no solo é através da redução de Hg^{+2} para a forma volátil Hg^0 mediante o mecanismo *operon mer*. Esse mecanismo tem sido o foco da maioria dos estudos até o momento (DASH; DAS, 2012; GIRI et al., 2014; YU et al., 2014). Pois é o único sistema de resistência bacteriana a metais, conferido por genes, que apresenta altos resultados na transformação de contaminante tóxico em sua forma menos tóxica (SCHAEFER et al., 2004).

Cepas bacterianas que apresentam resistência ao Hg já foram isoladas de diferentes ambientes, como ambiente marinho (DASH; DAS, 2012; ZHANG; CHEN; LIU, 2012), água doce (MØLLER et al., 2011), solo e sedimento (PEPI et al., 2011), ambiente termofílico (RADWAN; AL-MAILEM; KANSOUR, 2017) e a neve do Ártico (MØLLER et al., 2014). A presença de variadas espécies de BRM em diferentes ambientes está ligada a três fatores combinados: conexão através de linhagens estendidas, exposição de longo prazo a compostos mercuriais e transferência de determinantes *mer* por elementos genéticos móveis como transposons e plasmídeos (PRIYADARSHANEE et al., 2022).

Embora a resistência genética ao Hg possa ser encontrada tanto em bactérias gram-negativas quanto gram-positivas, as gram-negativas são mais amplamente estudadas. Mesmo com esses genes estando presentes e organizados em ordem semelhantes em ambas (MATHEMA; THAKURI; SILLANPÄÄ, 2011). Existem poucas diferenças características em relação aos genes *mer* entre bactérias Gram-negativas e Gram-positivas. No entanto, o gene *merB* é mais comum em operons *mer* Gram-negativos do que em Gram-positivos (BARKAY et al. 2003).

Muitas espécies bacterianas apresentam resistência ao Hg (RAVEL et al. 2000), como *Pseudomonas putida*, *Pseudomonas stutzeri*, *Pseudomonas fluorescens*, *Klebsiella pneumoniae*, *Xanthomonas*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Geobacillus kaustophilus*, *Achromobacter*, *Acinetobacter calcoaceticus*, *Serratia marcescens*, *Shigella flexneri*, *Sphingobium sp.*, *Mycobacterium marinum*, *Bacillus sp.*, *Psychrobacter sp.*, *Enterobacter*, *Staphylococcus aureus*, *Sphingopyxi sp.*, *Brevibacillus sp.*, *Anoxybacillus sp.*, *Luteimonas sp.*, e *Morganella morganii* (Mahbub et al., 2017). *Staphylococcus*, *Bacillus*, *Pseudomonas*, *Citrobacteria*, *Klebsiella* e *Rhodococcus* são organismos comumente usados em mecanismos de biorremediação (KERAMATI et al. 2011).

Apesar de muito promissora, a utilização de BRM para biorremediar ambientes contaminados por Hg é ainda limitada a condições laboratoriais (VON CANSTEIN et al., 1999). Por isso, a biotecnologia de remoção de Hg precisa de aplicações em larga escala. Um resultado promissor de redução e volatilização do Hg foi encontrado por Mahbud et al. (2016), no qual uma cepa de *Sphingobium* SA2 altamente resistente ao Hg foi responsável por volatilizar 79% de Hg do meio em 6 h.

A combinação de métodos de remediação e o melhoramento genético das cepas bacterianas com potencial para remediação do Hg são tecnologias promissoras, que podem ampliar a eficiência do processo de remediação de solos contaminados por Hg.

A engenharia genética pode ser usada para integrar genes em bactérias para aumentar a resistência e o acúmulo de mercúrio. Bactérias podem ser modificadas para expressar os genes metalotioneína e polifosfatos, que quando expressos, podem aumentar a resistência e o acúmulo de Hg. Um estudo de Ruiz et al. (2011) mostrou que bactérias modificadas com a expressão desses genes elevaram sua resistência e aumentaram o potencial para acumular o Hg.

Outro avanço biotecnológico é a utilização de bactérias indígenas que apresentam potencial de resistência ao mercúrio. Ou seja, coleta-se o microrganismo com alta tolerância ao contaminante do ambiente alvo, cultiva-se em laboratório e através da engenharia genética, o o potencial de degradação do contaminante é aumentado, para posteriormente ser inoculado no local contaminado (AZUBUIKE; CHIKERE; OKPOKWASILI, 2016). Essa técnica de biorremediação é chamada de bioaugmentação. Através dela é adicionada uma grande quantidade de organismos geneticamente modificados no local de interesse com intuito de aumentar a taxa de degradação do contaminante (RANI; SRIVASTAV; KAUSHAL, 2021), pois bactérias geneticamente modificados podem atingir maior eficiência de degradação de contaminantes que as bactérias naturais (SAYLER; RIPP, 2000).

3 MATERIAL E MÉTODOS

3.1 Coleta das amostras de solo

As amostras de solo foram coletadas no manguezal do Rio Botafogo, litoral norte de Pernambuco, na profundidade de 0-10 cm, em dois pontos de coleta distintos (P1 e P2). As localizações dos pontos de coleta estão ilustradas na figura 1. As amostras coletadas foram acondicionadas em sacos plásticos, e transportadas em caixa térmica até o laboratório de Química Ambiental de Solos, na UFRPE, onde foram homogeneizadas e armazenadas em potes de plástico e mantidas no freezer a 4°C.

Figura 1 – Mapa de localização da área de estudo, estuário do Rio Botafogo, PE.



Figura modificada de Araújo (2018).

3.2 Atributos químicos e físicos

3.2.1 Análise granulométrica

A análise granulométrica foi realizada pelo método do densímetro. As amostras de solo passaram por um tratamento prévio, que consistiu da remoção de sais, através de lavagem com álcool 60%, e remoção da matéria orgânica, através da oxidação com peróxido de hidrogênio aa 15% (ARAÚJO, 2018). O dispersante utilizado na análise foi a solução de hexametáfosfato de sódio (CAMARGO et al., 2009).

3.2.2 Matéria orgânica do solo (MOS)

Para determinar a MOS do solo foi adotado o método de termogravimetria. Para isso, foi usado 5 g de solo seco em mufla a 450 °C por 2 horas (DAVIES, 1974). Para determinar o teor total de MOS, foi realizada a diferença entre as massas dos solos antes e depois da combustão (ARAÚJO, 2018).

3.2.3 pH e Eh

O potencial redox (Eh) e o pH do solo foram determinados *in situ* através do uso do potenciômetro.

3.3 Caracterização geoquímica do solo

3.3.1 Mercúrio total

Para determinar as concentrações totais de Hg no solo foi adotado o método 3051^a (USEPA, 1998). Foi utilizada uma amostra de 0,500g de solo previamente, macerada em almofariz de ágata e peneirada em uma peneira de malha 0,15. Após tamisada, a amostra foi digerida em ácido nítrico (HNO₃) e ácido clorídrico (HCl) a 175° durante 4 minutos e meio em um sistema forno de micro-ondas. Após a digestão, e resfriamento, os extratos foram transferidos para balões volumétricos. Uma solução de permanganato de potássio a 5% foi adicionada e o volume ajustado para 25 mL com água ultrapura e posteriormente filtrados (ARAÚJO et al., 2019).

3.4 Análise de dados

Todas as análises foram realizadas em triplicata. Foram calculados as médias dos parâmetros físicos, químicos e biogeoquímicos (pH, eh, Hg total, MOS, areia, silte e argila).

3.5 Análise biológica

Todas as etapas foram realizadas nos laboratórios de química ambiental do solo e de microbiologia do solo, no Departamento de Agronomia da UFRPE. O preparo das placas antes da adição de Hg ocorreu em capela de fluxo laminar, e o manuseio de placas contendo meio enriquecido com Hg foi realizado em capela de exaustão. Para isso, a capela foi higienizada com água sanitária e álcool antes de qualquer procedimento.

3.5.1 Isolamento de bactérias em meio seletivo enriquecido com mercúrio

Para o isolamento das bactérias resistentes ao Hg foi adotado o método de enriquecimento primário em meio de cultura. Para isso, 0,1g de solo foi adicionado a 20 ml de caldo Luria Bertani – LB, composto de: cloreto de sódio (5 g L^{-1}), triptona (10 g L^{-1}) e extrato de levedura (5 g L^{-1}), suplementado com diferentes doses Hg, na forma de HgCl_2 (2,5; 5 e 10 mg L^{-1}) e incubadas por um período de 24 h a $30 \text{ }^\circ\text{C}$. Essas concentrações foram definidas com base nas concentrações médias de Hg total encontradas nos solos do estuário do Rio Botafogo. Após 24 h de incubação, uma alíquota de 1 mL do meio de cultura foi transferida para tubos contendo o mesmo meio e as mesmas concentrações de Hg utilizadas na etapa anterior, e novamente incubados por 24 h a $30 \text{ }^\circ\text{C}$. Encerrada essa etapa, foi transferido uma alíquota de $30 \text{ }\mu\text{L}$ do meio enriquecido para o meio ágar LB suplementado com $2,5 \text{ mg L}^{-1}$, 5 mg L^{-1} e 10 mg L^{-1} de Hg e incubado por 24 h a $30 \text{ }^\circ\text{C}$ (figura 5) (GIOVANELLA et al., 2016). As colônias formadas em meio seletivo contendo Hg foram selecionadas e subcultivadas várias vezes até obtenção de culturas puras. Os isolados que toleraram a concentração 10 mg L^{-1} foram transferidos para placas com meio suplementado com 50 e 100 mg L^{-1} de Hg na forma de HgCl_2 . Todos os isolados obtidos foram estocados em glicerol a 20%. As culturas que toleraram a concentração de 100 mg L^{-1} foram caracterizadas morfológicamente (tempo de crescimento, tamanho da colônia, forma da colônia, transparência da colônia, cor da colônia, produção de muco, quantidade de muco, transparência do muco e elevação da colônia). As etapas de incubação e inoculação foram realizadas em triplicata. Os isolados foram submetidos ao teste de gram (KOH 3%),).

3.5.2 Teste de Gram (KOH 3%)

Consiste em colocar uma gota de KOH (3%) em uma lâmina para microscopia, previamente identificada, e com a alça de platina ou palito de madeira, transfere-se a colônia da placa de Ágar e coloca-se em contato com a gota de KOH. Realiza-se, então, movimentos circulares até formar uma mistura viscosa (aproximadamente 30 s). Em seguida, levanta-se a alça ou o palito para verificar se formou um fio viscoso. Bactérias Gram-negativas formam o fio viscoso e as Gram-positivas não formam o fio viscoso (OLIVEIRA, 2000).

3.5.3 Identificação molecular das bactérias resistentes ao Hg

Os isolados obtidos foram submetidos a extração de DNA pelo método *bead beating*. A reação de amplificação do gene 16S rDNA foram utilizados os seguintes primers: 27f e 1492r. para cada reação de amplificação foi adotado o seguinte protocolo: tampão $5 \text{ }\mu\text{L}$, dNTPS $1 \text{ }\mu\text{L}$,

MgCl₂ 1,5 µL, 2 µL de cada primer, Taq 0,6 µL, H₂O 35,9 µL e 2 µL de DNA. Foi adotado um controle negativo, que continha os mesmos reagente, exceto a adição de DNA. As reações foram levadas ao termociclador programado para 35 ciclos: desnaturação inicial a 95 °C por 5 min, desnaturação subsequente a 95 °C por 30 s, anelamento a 50 °C por 1 min, extensão a 72 °C por 90 s e extensão final por 5 min a 72 °C. após saírem do termociclador, os produtos de PCR foram distribuídos em gel de agarose e observados sob luz uv. Os produtos das reações de PCR foram enviados para sequenciamento. as sequências obtidas foram submetidas ao banco de dados EZBioCloud (GIOVANELLA et al., 2016).

3.5.4 Concentração inibitória mínima (CIM)

Para avaliara a MIC, os isolados foram incubados por 48 h a 30 °C em meio LB contendo diferentes concentrações de Hg na forma de HgCl₂ (50 a 450 mg L⁻¹), agitados a 100 rpm. Para isso, foram utilizados microtubos de 2 mL. Cada microtubo recebeu 200 µL de caldo LB e 5 µL de culturas cultivadas durante a noite (*overnight*). Após o período de incubação, a concentração do meio que não apresentou turvação foi considerada a CIM do isolado para o Hg. Foram adotados controles com meio LB, um positivo e um negativo. O controle negativo possuía apenas caldo LB e o controle positivo era composto por caldo LB inoculado sem adição de mercúrio (GIOVANELLA et al., 2016).

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 Atributos químicos e físicos das amostras de solos

A toxicidade do Hg depende da sua especiação química. A especiação química de um elemento é controlada pelos parâmetros físicos e químicos do solo (PARIS; SWADDLE; CRISTOL, 2018). Os parâmetros pH do solo, Eh, MO controlam diretamente a toxicidade e mobilidade do Hg no solo (NATASHA et al., 2020).

De modo geral, os resultados do pH dos solos estão próximos da neutralidade. A amostra de solo P1 apresentou valor de pH levemente alcalino, 7,21; já o pH de P2 apresentou caráter levemente ácido, 6,83. São valores esperados para solos desse ecossistema que, geralmente, se encontram próximos a neutralidade.

Em relação ao Eh, tanto o solo de P1 quanto P2, apresentaram valores anóxicos (Eh < 100 mV), -149 mV e -104 mV, respectivamente.

Quanto a teor de MOS, o resultado para o solo P1 deu inconsistência e não foi considerado. Já a amostra P2 apresentou valor de MOS de 228 g kg⁻¹. A MOS desempenha um

papel importante na biodisponibilidade do Hg, visto que a MOS tem alta afinidade pelo Hg e apresenta uma forte ligação. Sendo assim, a complexação do Hg com a MOS diminui a sua biodisponibilidade, dificultando a sua absorção pelas plantas (YIN et al., 2018) e que parte dele entre na solução do solo (RENNEBERG; DUDAS, 2001). Os altos valores de MOS obtidos estão ligadas as condições de saturação encontrados no manguezal, que diminui a taxa de oxigênio presente no solo e limita a atividade de oxidação da MO desempenhada pelos microrganismos aeróbios. Nessas condições, a atividade de decomposição passa a ser executada pelos microrganismos anaeróbios, que são menos eficientes em decompor a matéria orgânica, pois necessitam de recetores de elétron alternativos ao oxigênio (SCHULZ, 2000). Ou seja, é um ambiente que favorece o acúmulo e não a decomposição da MO.

Em relação a fração granulométrica, a argila foi predominante, para ambos os pontos amostrados, acima de 60%. Com isso, configuraram solos muito argilosos no triângulo de classificação textural, como pode ser observado na figura 2. A textura do solo também é um parâmetro muito importante quando se trata de solos contaminados por Hg, visto que o Hg irá interagir com os minerais do solo através de reações de adsorção-dessorção. O Hg tende a se concentrar na fração argila do solo (KOHUT et al., 1995). Todos os parâmetros químicos e físicos são apresentados na tabela 1.

Tabela 1 – Atributos químicos e físicos dos solos do Estuário do Rio Botafogo, PE.

Ponto de coleta	Prof. (cm)	Vegetação predominante	pH ¹	Eh ¹ mV	MOS ¹	g kg ⁻¹		
						Areia ¹	Silte ¹	Argila ¹
P1	0-10	Avicennia/ Laguncularia	7,21	-149	-	70,5	316,5	613
P2	0-10	Laguncularia	6,83	-104	228	153,45	210,76	635,79

¹valores médios. Dados de Araújo, et al. não publicados.

4.1.3 Caracterização geoquímica do solo (Hg total)

Os solos encontrados no manguezal do estuário do Rio Botafogo apresentam os maiores teores de Hg já encontrados em solos da costa brasileira (MARINS et al., 2014). O teor de Hg total para a amostra P1 foi de 4,28 mg kg⁻¹. Já a amostra P2 apresentou um valor mais elevado de Hg total, 10,42 mg kg⁻¹ (Tabela 2). Como o ponto de amostragem P2 está situado mais

próximo da fonte poluidora, apresentou maior concentração de Hg total em relação ao ponto de amostragem P1. Como aponta Araújo et al, (2021), as concentrações de Hg total aumentam à medida que se aproxima da fonte poluidora, fábrica de cloro-álcali, já extinta. Em relação aos valores obtidos, estão dentro do esperado, já que estudos realizados por Araújo et al., (2019) encontraram concentração de Hg total de até 10,44 mg kg⁻¹. Esses valores são comparáveis a outros solos que se encontram em locais próximos de indústrias de cloro-soda (ARAÚJO, 2018).

O teor de Hg total é um parâmetro crucial para o entendimento da contaminação dos solos do manguezal do Rio Botafogo, mas insuficiente para o entendimento da biodisponibilidade de Hg (ARAÚJO, 2018). A biodisponibilidade compreende a fração de Hg capaz de ser absorvida pelas plantas ou a capacidade das plantas de extrair Hg do solo (WANG et al., 2014).

Tabela 2 – Teores totais de Hg para as amostras de solo (P1 e P2) coletadas no estuário do Rio Botafogo, PE.

Ponto de Coleta	Hg Total ¹ (mg kg ⁻¹)
P1	4,58
P2	10,42

¹valores médios

4.2 Análise biológica

A primeira triagem de bactérias, através do processo de isolamento em meio LB enriquecido com iHg, das amostras de solos coletadas em dois pontos distintos do estuário do Rio Botafogo (amostra P1 e amostra P2), rendeu um total de 115 isolados, que foram cultivadas na presença de 4 doses distintas de iHg (0; 2,5; 5 e 10 mg L⁻¹). A distribuição do total de isolados por dose e ponto de coleta pode ser observado na figura 2. Todos os isolados foram caracterizados morfológicamente e submetidos ao teste de gram (KOH 3%), como mostra a tabela 3 e 4. A partir das características morfológicas e caracterização de gram dos isolados de cada amostra de solo, foram construídos dendrogramas pelo método UPGMA, utilizando o índice de similaridade de Jaccard. O dendrograma da amostra P1 formou 26 grupos monofiléticos e 100 % similares; e o dendrograma da amostra P2 formou 19 grupos monofiléticos e 100 % similares fenotipicamente. Os dendrogramas podem ser observados nas figuras 3 e 4. A partir dos grupos formados, um representante (ou mais) será selecionado para análises futuras para identificação de genes responsáveis pela redução do sulfato e metilação

do Hg. Visto que o ambiente de manguezal apresenta condições geoquímicas ideais para a transformação do iHg disponível em metilmercúrio, condições anóxicas, pH baixo e temperaturas elevadas, disponibilidade de carbono orgânico (LEI et al., 2019) e presença de agentes metiladores, como bactérias redutoras de sulfatos (BRS), que tem demonstrado ser o principal responsável pela metilação do Hg em sedimentos de mangue (CORREIA; GUIMARÃES, 2017).

Devido as condições geoquímicas únicas encontradas no Estuário do Rio Botafogo (elevadas concentrações de Hg), os isolados que cresceram em meio agarizado suplementado com 10 mg L⁻¹ de Hg (30 isolados) foram selecionados para testar a capacidade de resistência a elevadas concentrações de Hg na forma de HgCl₂, 50 e 100 mg L⁻¹. Destes, 14 (39, 42, 44, 46, 48, 72, 73, 76, 79, 106, 108, 107, 114 e 115) cresceram nas placas suplementadas com 50 mg L⁻¹. Os 14 isolados foram então expostos a 100 mg L⁻¹, e apenas 11 isolados (39, 42, 44, 46, 48, 72, 73, 76, 107, 114 e 115) conseguiram se desenvolver nessas condições de estresse encontrada meio agarizado. A identificação dos isolados passou de número para as seguintes letras: A (39), B (42), C (44), D (46), E (48), F (72), G (73), H (76), I (107), J (114) e K (115).

Esses isolados foram submetidos ao teste de concentração inibitória mínima (MIC) em meio líquido. Pois o verdadeiro valor de toxicidade não pode ser definido através de meio sólido, devido a menor biodisponibilidade do Hg (KUMAR; ACHARYA; JOSHI, 2011; YILMAZ, 2003), ou seja, o meio agarizado suplementado com Hg pode gerar uma subestimação do parâmetro de resistência (BALL et al., 2007). Então, essas cepas foram novamente expostas a concentrações variando entre 50 e 450 mg L⁻¹ de iHg. O resultado mostrou que 6 isolados apresentaram MIC de 50 mg L⁻¹ (A, B, C, D, E e G), e 5 isolados apresentaram CIM de 100 mg L⁻¹ (F, H, I, J e K), como mostra a tabela abaixo (tabela 3).

Os 11 isolados que apresentaram os melhores resultados, capacidade de resistir a 100 mg L⁻¹, foram selecionados para análise de sequenciamento genético. Foi extraído DNA dos 11 isolados e posteriormente submetidos a amplificação do gene 16S rRNA. Os primers e as condições de ciclagem são descritos na tabela 5. Os produtos das reações de PCRs foram conferidos através da eletroforese em gel e as bandas foram visualizadas em luz UV. As bandas visíveis foram interpretadas como resultado positivo presença do gene de interesse. O material amplificado foi enviado para caracterização pelo sequenciamento do gene 16S rRNA, no laboratório Macrogen, na Coreia do Sul.

Figura 2 – Distribuição total dos isolados obtidos por dose de Hg utilizada no isolamento em meio enriquecido (115). A) Total de isolados da amostra P1; B) Total de isolados da amostra P2.

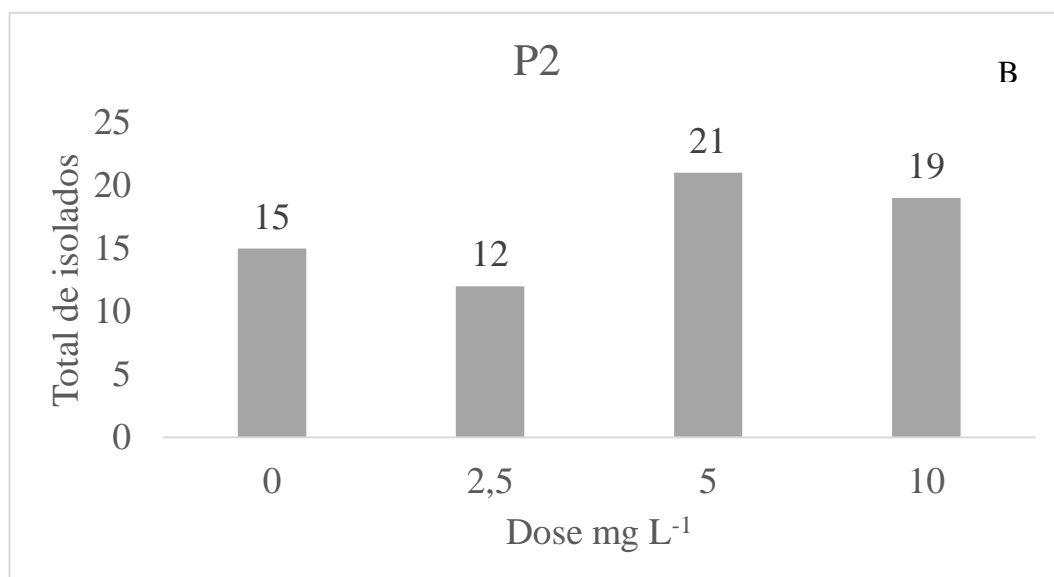
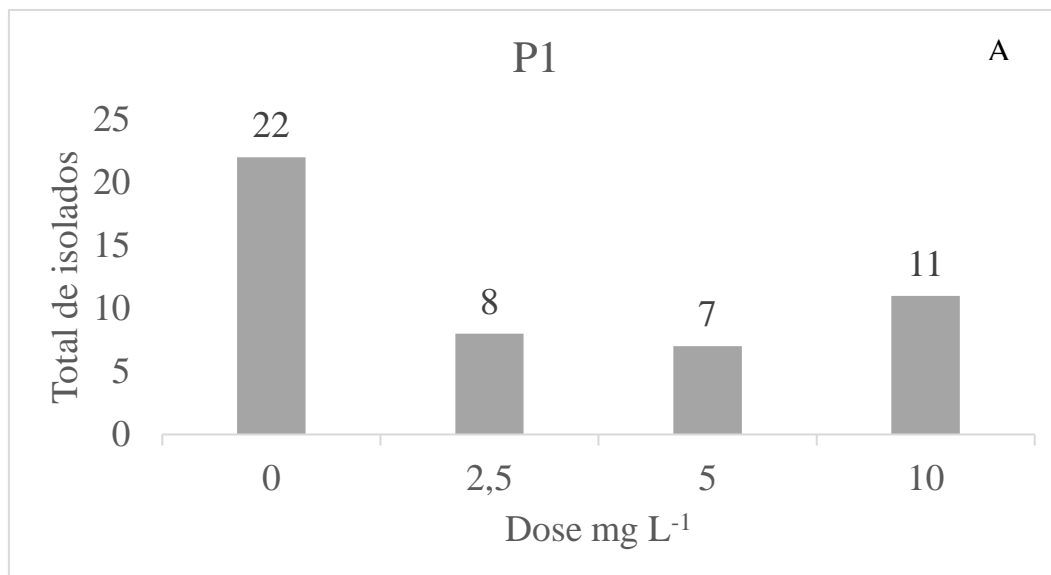


Tabela 3 – Características morfológicas e tipo de gram das bactérias isoladas da amostra P1, coletada no Estuário do Rio Botafogo, Itamaracá-PE.

CARACTERIZAÇÃO MORFOLÓGICA DE BACTÉRIAS DA CONCENTRAÇÃO 0										
Isol. ¹	temp cresc ²	tam col. ³	forma col. ⁴	transp. col. ⁵	cor da col. ⁶	prod. Muco ⁷	qtd de muco	transp. de muco	Elev. da col. ¹⁰	gram
1	24	*	circular	transparente	creme	sim	médio	translúcido	leve	*
2	24	2	circular	opaca	creme	sim	médio	translúcido	leve	+
3	24	0,5	circular	transparente	branca	sim	médio	translúcido	leve	+
4	24	0,5	irregular	opaca	creme	não			leve	*
5	24	4	circular	opaca	creme	sim	médio	translúcido	leve	+
6	96	*	irregular	transparente	creme	não			leve	+
7	24	0,3	circular	transparente	creme	sim	médio	translúcido	leve	-
8	24	0,1	circular	opaca	creme	sim	médio	translúcido	leve	+
9	96	*	irregular	transparente	creme	não			leve	+
10	24	*	circular	opaca	creme	sim	médio	translúcido	leve	*
11	96	*	circular	opaca	creme	sim	médio	translúcido	leve	+
12	24	0,1	circular	opaca	creme	sim	médio	translúcido	leve	+
13	24	1,5	circular	opaca	creme	sim	médio	translúcido	leve	-
14	24	1,2	circular	opaca	creme	sim	médio	translúcido	leve	-
15	24	0,2	irregular	transparente	creme	sim	médio	translúcido	leve	-
17	24	*	circular	opaca	creme	sim	médio	translúcido	leve	+
18	96	*	circular	opaca	creme	sim	médio	translúcido	leve	+
19	24	3	irregular	transparente	creme	sim	médio	translúcido	leve	+
20	24	0,1	irregular	opaca	branca	não			leve	-
21	24	0,5	irregular	opaca	branca	não			leve	-
22	24	0,5	irregular	opaca	branca	não			leve	-

CARACTERIZAÇÃO MORFOLÓGICA DE BACTÉRIAS DA CONCENTRAÇÃO 1										
Isol. ¹	temp cresc ²	tam col. ³	forma col. ⁴	transp. col. ⁵	cor da col. ⁶	prod. Muco ⁷	qtd de muco ⁸	transp. de muco ⁹	Elev. da col. ¹⁰	gram
23	24	0,79	circular	transparente	branca	sim	médio	translúcido	leve	-
24	24	0,54	circular	opaca	creme	sim	médio	translúcido	leve	+
25	24	1,29	irregular	opaca	creme	sim	médio	translúcido	leve	+
26	96	0,44	circular	opaca	branca	sim	médio	translúcido	leve	+
27	24	2,46	circular	opaca	branca	sim	médio	translúcido	Leve	*
28	24	1,64	circular	opaca	branca	sim	médio	translúcido	leve	+
29	96	1,41	circular	opaca	creme	sim	médio	translúcido	leve	+
30	24	1,09	irregular	opaca	branca	sim	médio	translúcido	leve	*

CARACTERIZAÇÃO MORFOLÓGICA DE BACTÉRIAS DA CONCENTRAÇÃO 2										
Isol. ¹	temp cresc ²	tam col. ³	forma col. ⁴	transp. col. ⁵	cor da col. ⁶	prod. Muco ⁷	qtd de muco ⁸	transp. de muco ⁹	Elev. da col. ¹⁰	gram
31	24	88	irregular	opaca	creme	sim	médio	translúcido	leve	-
32	24	36	circular	opaca	branca	sim	médio	translúcido	leve	+
33	24	20	circular	opaca	creme	sim	médio	translúcido	leve	+
34	24	23	circular	opaca	branca	sim	médio	translúcido	leve	+
35	24	39	circular	opaca	branca	sim	médio	translúcido	leve	+
36	24	30	circular	opaca	branca	sim	médio	translúcido	leve	+

37	24	0,13	circular	opaca	branca	sim	médio	translúcido	leve	+
CARACTERIZAÇÃO MORFOLÓGICA DE BACTÉRIAS DA CONCENTRAÇÃO 3										
Isol. ¹	temp cresc ²	tam col. ³	forma col. ⁴	transp. col. ⁵	cor da col. ⁶	prod. Muco ⁷	qtd de muco ⁸	transp. de muco ⁹	Elev. da col. ¹⁰	gram
38	24	1,79	irregular	opaca	creme	sim	médio	translúcido	leve	+
39 a	24	0,75	circular	opaca	branca	sim	médio	translúcido	leve	+
40	24	0,4	irregular	opaca	creme	sim	médio	translúcido	leve	+
41	24	0,2	circular	opaca	creme	sim	médio	translúcido	leve	*
42 b	24	0,65	circular	transparente	creme	sim	médio	translúcido	leve	-
43	24	0,6	circular	opaca	branca	sim	médio	translúcido	leve	+
44 c	24	0,23	circular	opaca	branca	sim	médio	translúcido	leve	+
45	24	0,54	irregular	opaca	branca	sim	médio	translúcido	leve	+
46 d	24	1,45	circular	opaca	branca	sim	médio	translúcido	leve	+
47	24	0,45	irregular	transparente	branca	sim	médio	translúcido	leve	+
48 e	24	0,48	circular	opaca	branca	sim	médio	translúcido	leve	+

¹Isol (isolado). ²temp. cres (tempo de crescimento). ³tam col. (tamanho da colônia). ⁴forma col. (forma da colônia). ⁵trans. col. (transparência da colônia). ⁶cor da col. (cor da colônia). ⁷prod. Muco (produção de muco). ⁸qtd de muco (quantidade de muco). ⁹transp. de muco (transparência de muco). ¹⁰Elev. da col. (elevação da colônia).

Tabela 4 – Características morfológicas e tipo de gram das bactérias isoladas da amostra P2, coletada no Estuário do Rio Botafogo, Itamaracá-PE.

CARACTERIZAÇÃO MORFOLÓGICA DE BACTÉRIAS DA CONCENTRAÇÃO 0										
Isol. ¹	temp cresc ²	tam col. ³	forma col. ⁴	transp. col. ⁵	cor da col. ⁶	prod. Muco ⁷	qtd de muco ⁸	transp. de muco ⁹	Elev. da col. ¹⁰	gram
49	96	1,67	irregular	opaca	creme	sim	médio	translúcido	leve	+
50	24	0,86	irregular	opaca	creme	sim	médio	translúcido	leve	+
51	24	0,34	irregular	transparente	branca	sim	médio	translúcido	leve	+
52	24	0,62	circular	opaca	creme	sim	médio	translúcido	leve	+
53	24	0,77	irregular	opaca	creme	sim	médio	translúcido	leve	*
54	24	0,95	circular	opaca	creme	sim	muito	translúcido	leve	+
55	24	0,73	circular	opaca	creme	sim	pouco	translúcido	leve	+
81	24	0,92	circular	opaca	creme	sim	médio	translúcido	leve	+
82	24	0,84	circular	opaca	branca	sim	médio	translúcido	leve	+
83	24	0,1	circular	opaca	branca	sim	médio	translúcido	leve	+
84	24	0,25	circular	opaca	branca	sim	médio	translúcido	leve	+
85	24	0,23	circular	opaca	branca	sim	médio	translúcido	leve	+
86	24	0,39	circular	opaca	creme	sim	médio	translúcido	leve	+
87	24	1,13	circular	opaca	creme	sim	médio	translúcido	leve	+
88	24	1,2	circular	opaca	creme	sim	médio	translúcido	leve	+

CARACTERIZAÇÃO MORFOLÓGICA DE BACTÉRIAS DA CONCENTRAÇÃO 1										
Isol. ¹	temp cresc ²	tam col. ³	forma col. ⁴	transp. col. ⁵	cor da col. ⁶	prod. Muco ⁷	qtd de muco ⁸	transp. de muco ⁹	Elev. da col. ¹⁰	gram
56	24	0,6	circular	opaca	creme	sim	médio	translúcido	leve	+
57	24	0,54	irregular	opaca	creme	sim	médio	translúcido	leve	+
58	24	0,52	circular	opaca	creme	sim	médio	translúcido	leve	+

59	24	0,76	irregular	opaca	creme	sim	muito	translúcido	leve	*
60	24	0,69	circular	opaca	creme	sim	médio	translúcido	leve	+
89	24	0,43	circular	opaca	branca	sim	muito	transparente	leve	+
90	24	0,95	circular	opaca	creme	sim	muito	transparente	leve	+
91	24	0,11	circular	opaca	branca	sim	muito	transparente	leve	
92	24	0,92	circular	opaca	creme	sim	muito	translúcido	leve	+
93	24	0,35	circular	opaca	creme	sim	médio	translúcido	leve	+
94	24	0,97	circular	opaca	creme	sim	muito	translúcido	leve	+
95	24	0,87	circular	opaca	creme	sim	muito	translúcido	leve	+

CARACTERIZAÇÃO MORFOLÓGICA DE BACTÉRIAS DA CONCENTRAÇÃO 2

Isol. ¹	temp cresc ²	tam col. ³	forma col. ⁴	transp. col. ⁵	cor da col. ⁶	prod. Muco ⁷	qtd de muco ⁸	transp. de muco ⁹	Elev. da col. ¹⁰	gram
61	24	1,03	circular	transparente	creme	sim	médio	translúcido	leve	+
62	24	0,84	irregular	opaca	creme	sim	médio	translúcido	leve	*
63	24	0,32	circular	opaca	creme	sim	médio	translúcido	leve	+
64	24	0,9	circular	opaca	creme	sim	médio	translúcido	leve	+
65	24	0,6	circular	opaca	creme	sim	médio	translúcido	leve	+
66	24	0,71	circular	opaca	branca	sim	médio	translúcido	leve	+
67	24	0,47	irregular	opaca	creme	sim	médio	translúcido	leve	+
68	24	0,61	circular	opaca	creme	sim	médio	translúcido	leve	+
69	24	0,66	circular	opaca	creme	sim	médio	translúcido	leve	+
70	24	0,35	irregular	opaca	creme	sim	médio	translúcido	leve	+
71	24	1,05	irregular	opaca	creme	sim	médio	translúcido	leve	+
96	24	0,85	circular	opaca	branca	sim	médio	translúcido	leve	+
97	24	0,72	circular	opaca	branca	sim	médio	translúcido	leve	+
98	24	0,63	circular	opaca	creme	sim	médio	translúcido	leve	+
99	24	0,69	circular	opaca	creme	sim	médio	translúcido	leve	*
100	24	0,57	circular	opaca	creme	sim	médio	transparente	leve	+
101	24	0,46	circular	opaca	creme	sim	muito	transparente	leve	+
102	24	0,97	circular	opaca	creme	sim	muito	transparente	leve	+
103	24	0,86	circular	opaca	creme	sim	médio	translúcido	leve	+
104	24	0,24	circular	opaca	creme	sim	médio	transparente	leve	+
105	24	0,4	circular	opaca	creme	sim	médio	transparente	leve	+

CARACTERIZAÇÃO MORFOLÓGICA DE BACTÉRIAS DA CONCENTRAÇÃO 3

Isol. ¹	temp cresc ²	tam col. ³	forma col. ⁴	transp. col. ⁵	cor da col. ⁶	prod. Muco ⁷	qtd de muco ⁸	transp. de muco ⁹	Elev. da col. ¹⁰	gram
72 f	24	0,48	circular	opaca	creme	sim	médio	translúcido	leve	-
73 g	24	0,45	circular	opaca	creme	sim	muito	translúcido	leve	-
74	96	1,25	irregular	opaca	creme	sim	muito	translúcido	leve	*
75	24	0,76	circular	opaca	creme	sim	médio	translúcido	leve	-
76 g	24	0,65	circular	opaca	creme	sim	médio	translúcido	leve	-
77	24	0,92	irregular	opaca	creme	sim	médio	translúcido	leve	+
78	24	0,69	circular	opaca	branca	sim	médio	translúcido	leve	+
79	24	0,53	circular	opaca	branca	sim	médio	translúcido	leve	+
80	24	0,66	irregular	opaca	creme	sim	médio	translúcido	leve	+

106	24	0,34	circular	opaca	branca	sim	médio	transparente	leve	+
107 i	24	0,45	circular	opaca	branca	sim	muito	transparente	leve	+
108	96	0,17	circular	opaca	branca	sim	pouco	transparente	leve	+
109	24	0,22	circular	opaca	creme	sim	muito	transparente	leve	+
110	24	0,14	circular	opaca	creme	sim	médio	transparente	leve	+
111	24	0,68	circular	opaca	creme	sim	muito	transparente	leve	+
112	24	0,55	circular	opaca	creme	sim	médio	transparente	leve	+
113	24	0,84	circular	opaca	creme	sim	médio	transparente	leve	+
114 j	24	1,18	circular	opaca	creme	sim	muito	transparente	leve	-
115 k	24	0,5	circular	opaca	creme	sim	médio	transparente	leve	+

¹Isol (isolado). ²temp. cres (tempo de crescimento). ³tam col. (tamanho da colônia). ⁴forma col. (forma da colônia). ⁵trans. col. (transparência da colônia). ⁶cor da col. (cor da colônia). ⁷prod. Muco (produção de muco). ⁸qtd de muco (quantidade de muco). ⁹transp. de muco (transparência de muco). ¹⁰Elev. da col. (elevação da colônia). * (característica não observada).

Figura 3 – Dendrograma de similaridade pelo UPGMA, usando índice de Jaccard, com formação de grupos similares fenotipicamente (26 grupos monofiléticos e 100% similares) da amostra de solo P1.

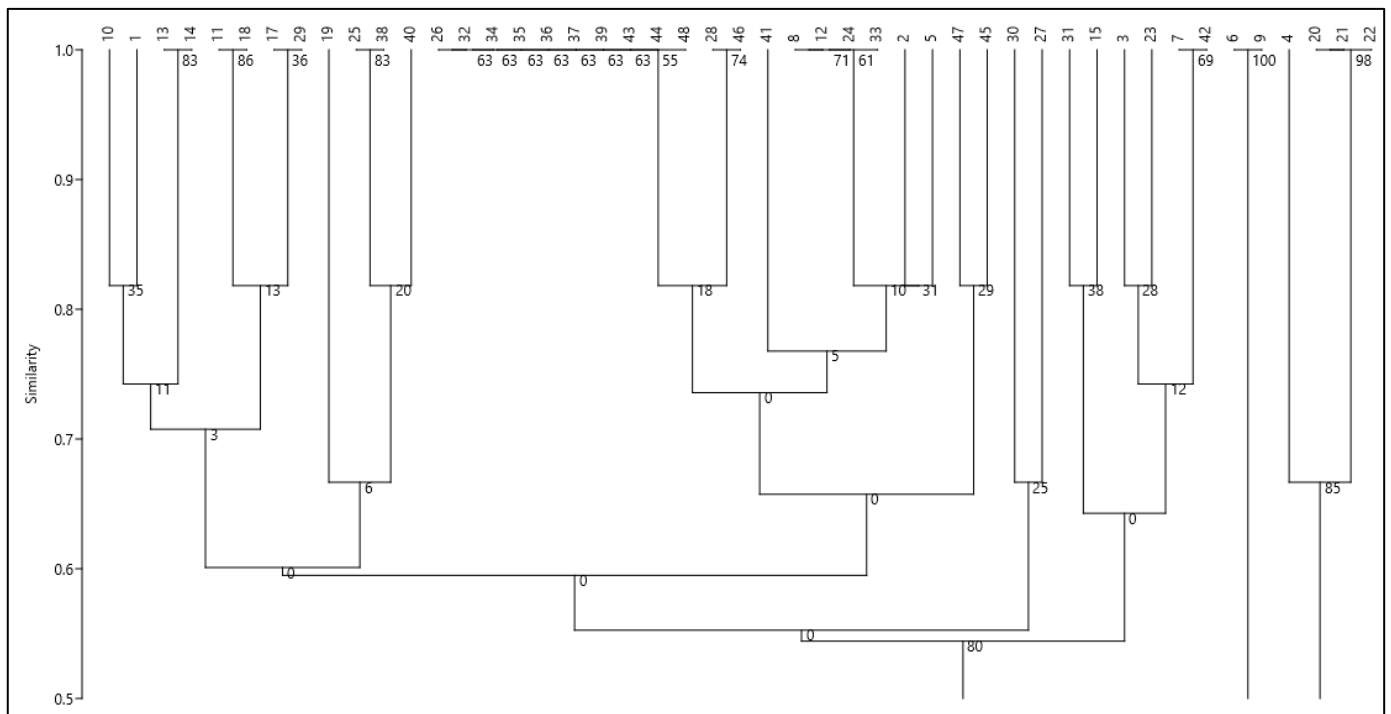


Figura 4 – Dendrograma de similaridade pelo UPGMA, usando índice de Jaccard, com formação de grupos similares fenotipicamente (19 grupos monofiléticos e 100% similares) da amostra de solo P2

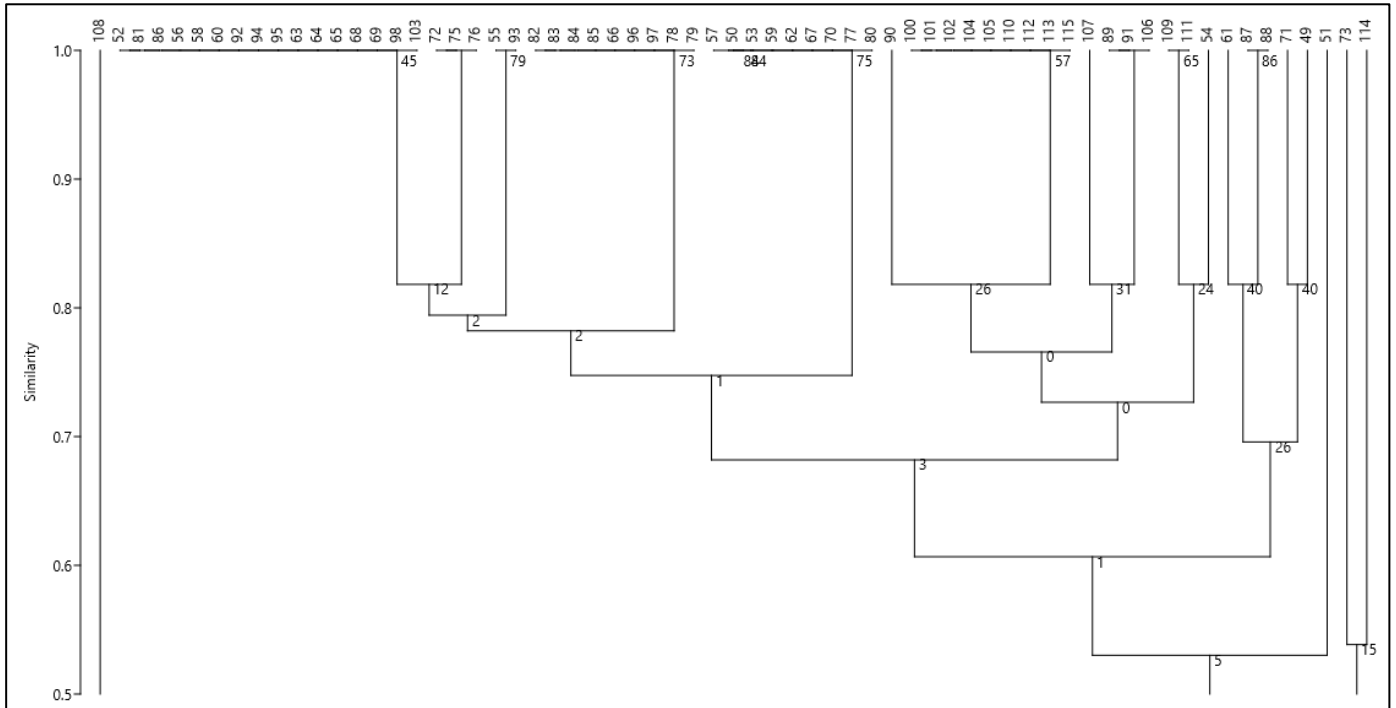


Tabela 5 – Primers e condições de ciclagem utilizados para amplificar o gene 16SrRNA.

Gene Alvo	Primer	Sequência	Condições para ciclagem
16S rRNA de (Bactéria total)	27f	5' AGAGTTTGATCMTGGCTCAG 3'	95°C 5 min, 95°C 30 s, 50°C 1 min, 72°C 90, 72°C 5 min, 35 ciclos.
	1492r	5' TACCTTGTTACGACTT 3'	

Como pode ser observado na tabela 4, as cepas isoladas apresentaram, de modo geral, muitas semelhanças morfológicas, e a maioria foram classificadas como gram positivas. Os dados moleculares do sequenciamento da região 16S rDNA foram comparados com dados obtidos na base de dados do *EZBioCloud* indicaram que os isolados pertencem aos gêneros *Bacillus*, *Enterococcus* e *Pseudomonas*, como pode ser observada na figura 5. Os dados obtidos na base de dados do *EZBioCloud* podem ser observados na tabela 6.

Figura 5– Árvore filogenética para a região do gene 16S rRNA para os 11 isolados (A, B, C, D, E, F, G, H, I, J e K) que foram identificados nos gêneros *Enterococcus*, *Bacillus* e *Pseudomonas*. A árvore filogenética de vizinhos mais próximos (*Neighbor-Joining*) foi construída usando o parâmetro Kimura 2 como método para comparar as sequências com as cepas tipo do *EZBioCloud*, pelo programa MEGA 11 aplicando um *bootstrap* de 1000 replicações mínimas.

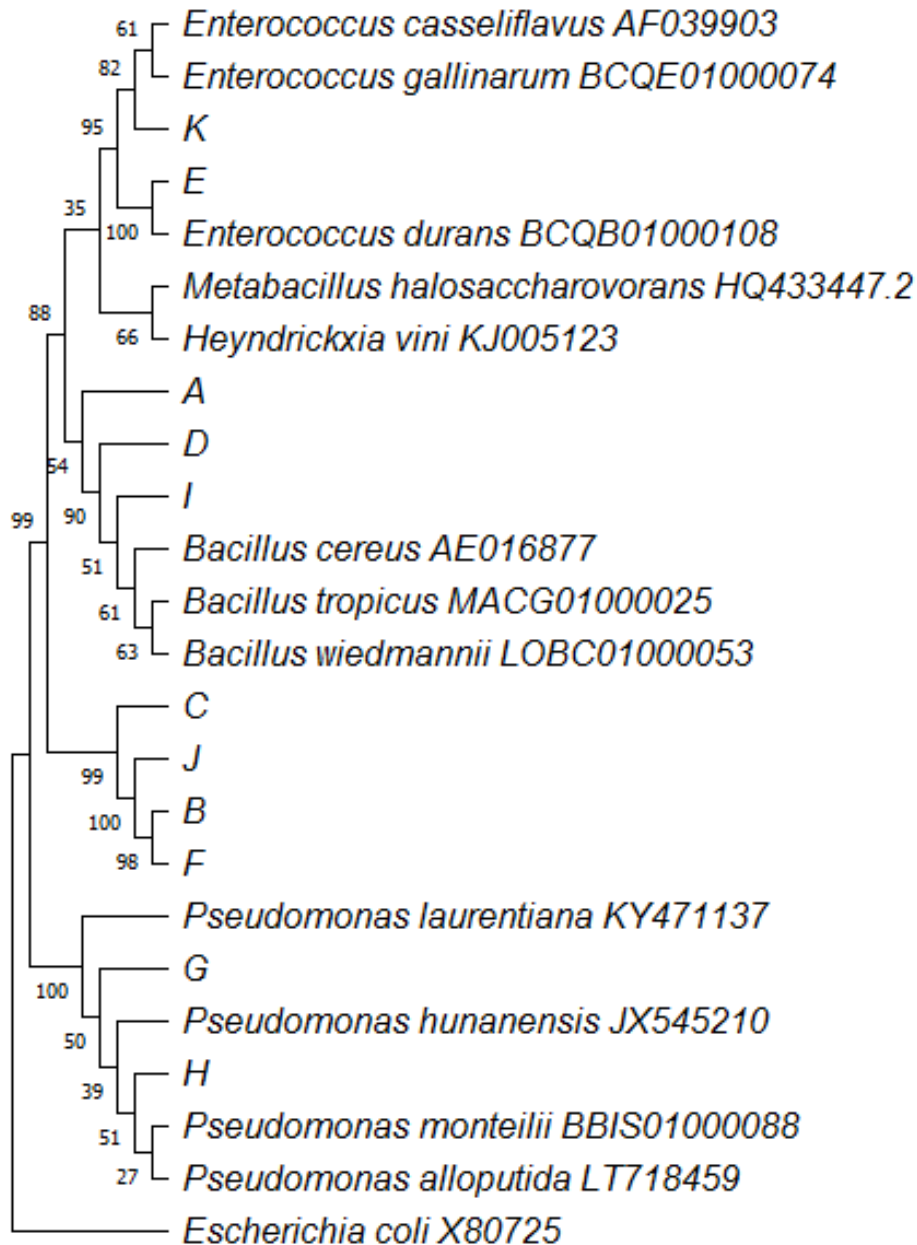


Tabela 6– Tabela com os dados obtidos na base de dados do EZBioCloud, que foram usados para construção da árvore filogenética.

ID	Filo	Classe	Espécie	QC ¹	E Value	PI ² (%)	Local de isolamento	Acesso
A								
	Firmicutes	Bacilli	<i>Bacillus cereus</i>	16	1E-86	85.17	Solo do campus de uma indústria da pesticidas, Karnal	AE016877
	Firmicutes	Bacilli	<i>Bacillus tropicus</i>	16	5E-85	84.86	Sedimentos do mar da China Merdidental	MACG01000025
	Firmicutes	Bacilli	<i>Bacillus wiedmannii</i>	16	5E-85	84.86	Leite armazenado em uma planta de processamento de leite em pó	LOBC01000053
B								
	-	-	-	-	-	-	-	-
C								
	-	-	-	-	-	-	-	-
D								
	Firmicutes	Bacilli	<i>Bacillus cereus</i>	96	0.0	94.38	Solo do campus de uma indústria da pesticidas, Karnal	AE016877
	Firmicutes	Bacilli	<i>Bacillus tropicus</i>	96	0.0	94.45	Sedimentos do mar da China Merdidental Leite armazenado em uma planta de processamento de leite em pó	MACG01000025
	Firmicutes	Bacilli	<i>Bacillus wiedmannii</i>	96	0.0	94.28	armazenado em uma planta de processamento de leite em pó	LOBC01000053
E								
	Firmicutes	Bacilli	<i>Enterococcus durans</i>	98	0.0	99.71	Leite em pó	BCQB01000108
	Firmicutes	Bacilli	<i>Metabacillus halosaccharovorans</i>	93	0.0	91.09	Lago hipersalino Aran-Bidgol	HQ433447.2
	Firmicutes	Bacilli	<i>Heyndrickxia vini</i>	92	0.0	91.05	lama de poço de fermentação de álcool	KJ005123
F								
	-	-	-	-	-	-	-	-
G								
	Proteobacteria	Gamaproteobacteria	<i>Pseudomonas laurentiana</i>	51	0.0	97.21	Estuário de São Lourenço, Canadá	KY471137
	Proteobacteria	Gamaproteobacteria	<i>Pseudomonas hunanensis</i>	55	0.0	95.78	-	JX545210
	Proteobacteria	Gamaproteobacteria	<i>Pseudomonas monteilii</i>	56	0.0	95.69	Aspirado brônquico humano	BBIS01000088
	Proteobacteria	Gamaproteobacteria	<i>Pseudomonas alloputida</i>	56	0.0	95.84	Raiz	LT718459

H	Proteobacteria	Gamaproteobacteria	<i>Pseudomonas laurentiana</i>	86	0.0	95.84	Estuário de São Lourenço, Canadá	KY471137
	Proteobacteria	Gamaproteobacteria	<i>Pseudomonas hunanensis</i>	86	0.0	96.71	-	JX545210
	Proteobacteria	Gamaproteobacteria	<i>Pseudomonas monteillii</i>	86	0.0	96.73	Aspirado brônquico humano	BBIS01000088
	Proteobacteria	Gamaproteobacteria	<i>Pseudomonas alloputida</i>	86	0.0	96.83	Raiz	LT718459
I	Firmicutes	Bacilli	<i>Bacillus cereus</i>	93	0.0	97.43	Solo do campus de uma indústria da pesticidas, Karnal	AE016877
	Firmicutes	Bacilli	<i>Bacillus tropicus</i>	93	0.0	97.23	Sedimentos do mar da China	MACG01000025
	Firmicutes	Bacilli	<i>Bacillus wiedmannii</i>	93	0.0	97.33	Leite armazenado em uma planta de processamento de leite em pó	LOBC01000053
J	-	-	-	-	-	-	-	-
K	Firmicutes	Bacilli	<i>Enterococcus casseliflavus</i>	97	0.0	91.52	material vegetal	AF039903
	Firmicutes	Bacilli	<i>Enterococcus gallinarum</i>	97	0.0	91.32	Intestino de animal	BCQE01000074
	Firmicutes	Bacilli	<i>Enterococcus durans</i>	97	0.0	88.88	leite em pó	BCQB010000108
	Firmicutes	Bacilli	<i>Metabacillus halosaccharovorans</i>	91	0.0	84.13	Lago hipersalino Aran-Bidgol	HQ433447.2
	Firmicutes	Bacilli	<i>Heyndrickxia vini</i>	91	0.0	84.97	lama de poço de fermentação de álcool	KJ005123

¹QC (Query Cover). ²PI (percent identit). (-) dados não encontrados na base de dados do EZBioCloud.

A alta resistência ao Hg apresentada pelos isolados triados podem ser relacionadas ao alto teor de Hg total encontrado nas amostras de solos coletadas no estuário do Rio Botafogo. Os isolados correspondentes a amostra de solo P2, que possui a maior concentração de Hg total, 10,42 mg kg⁻¹, apresentaram o maior valor de CIM, 100 mg L⁻¹. O que indica que quanto maior a exposição a prolongadas concentrações de Hg, maior será a resistência dos microrganismos a

esse metal. As condições biogeoquímicas do estuário do Rio Botafogo forneceram essas condições aos microrganismos.

Ball et al. (2007) isolaram bactérias de um tanque de rejeitos de mineração de ouro, na Venezuela. Nesse estudo, 53 isolados foram capazes de crescer em meio sólido suplementado com 100 mg L^{-1} de Hg^{2+} , das quais apresentaram valores de CIM, $6,8 \text{ mg L}^{-1}$ para 73% dessas cepas testadas, e $81,6 \text{ mg L}^{-1}$ apenas para 1 das 53 cepas testadas. Já os estudos de Cardona et al. (2022) isolaram 72 cepas, dos gêneros *Bacillus* e *Pseudomonas*, que consideraram altamente resistentes ao Hg, com CIM variando de 40 a 71 mg L^{-1} . Constataram também que as cepas que apresentaram as concentrações de CIM mais elevadas, 64 e 71 mg L^{-1} de Hg^{+2} , tinham a presença de gene *merA*, o que sugere um mecanismo de resistência ativo para esse contaminante. Os gêneros *Bacillus* e *Pseudomonas* são frequentemente relatados em estudos de alta resistência a diferentes formas de Hg. E relatadas como apresentando maior abundância em resíduos contendo altos teores de Hg, quando comparadas a outros gêneros.

Os valores elevados da CIM podem estar relacionados a capacidade dos microrganismos de remover Hg do meio, como mostra os resultados obtidos nos estudos de Sandhukhan et al. (1997), Ghosh et al. (1996) e Cabral et al. (2013).

A alta resistência desses 11 isolados ao iHg, nos leva a acreditar que essa resistência seja conferida por algum mecanismo de resistência, como biossorção ou genes de resistência, como o *operon mer*. Pois a exposição prolongada a iHg aumenta a probabilidade de tolerância a altos níveis contaminação por Hg, através do desenvolvimento de mecanismos genéticos de resistência. Para essa confirmação, será necessário expor esses isolados à amplificação e sequenciamento dos genes de resistência *mer*. Através de primers específicos para isso. Outros testes ainda são necessários, como a avaliação experimental da capacidade de volatilização do Hg em meio de cultura e solo e avaliação da capacidade destes organismos participarem de processos biogeoquímicos necessários à manutenção das funções ecossistêmicas do solo, mesmo quando submetidos à altos teores de Hg. Porém, a resistência ao Hg é um grande indicativo do potencial dessas cepas em estudos de biorremediação.

Tabela 3 – Teste de concentração inibitória mínima (CIM) para Hg dos isolados coletados no Estuário do Rio Botafogo.

Isolado	Ponto de Coleta	CIM¹ (mg L⁻¹)
A	P1	50
B	P1	50
C	P1	50
D	P1	50
E	P1	50
F	P2	100
G	P2	50
H	P2	100
I	P2	100
J	P2	100
K	P2	100

5 CONCLUSÕES

As 115 bactérias isoladas dos solos coletados no manguezal do Estuário do Rio Botafogo apresentam grande similaridade morfológica e, a grande maioria, possuem parede celular gram positiva. Além disso, 11 dos isolados apresentam resistência a altas concentrações de iHg, o que pode estar ligado a exposição prolongada a elevadas concentrações de Hg encontradas no ambiente estuarino do Rio Botafogo. As 11 cepas mais resistentes isoladas de amostras de solo do estuário do Rio Botafogo apresentaram alta capacidade de resistir a concentrações de Hg^{+2} em meios sólido (100 mg L^{-1}) e líquido (CIM entre 50 e 100 mg L^{-1}). Esses resultados estão dentro do esperado (ou superiores) para os valores de CIM obtidos em outros estudos que consideraram cepas altamente resistentes ao iHg. Os isolados mais resistentes ao iHg foram identificados com base na região 16S rRNA e apresentaram maior similaridade com os gêneros *Enterococcus*, *Bacillus* e *Pseudomonas*. Bactérias indígenas resistentes a altas concentrações de iHg apresentam alto potencial de emprego em processos de recuperação de áreas degradadas por Hg, através de técnicas de biorremediação. Por isso, pesquisas futuras devem se concentrar em caracterizar os mecanismos genéticos de resistência ao iHg e a capacidade dessas cepas para redução do Hg no meio e manutenção de processos relacionados as funções ecossistêmicas do solo.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ABERNETHY, D. R.; DeSTEFANO, A. J.; CECIL, T. L.; ZAIDI, K.; WILLIAMS, R. L. Metal Impurities in Food and Drugs. **Pharmaceutical Research**, v. 27, n. 5, p. 750–755, 2010. <https://doi.org/10.1007/s11095-010-0080-3>
- ALKORTA, I.; EPELDE, L.; GARBISU, C. Environmental parameters altered by climate change affect the activity of soil microorganisms involved in bioremediation. **FEMS Microbiology Letters**, v. 364, n. 19, 2017. <https://doi.org/doi:10.1093/femsle/fnx200>
- ALONGI, D. M. Present state and future of the world's mangrove forests. **Environmental Conservation**, v. 29, n. 3, p. 331–349, 2002. <https://doi.org/10.1017/S0376892902000231>
- ARAÚJO, P. R. M.; BIONDI, C. M.; NASCIMENTO, C. W. A.; SILVA, F. B. V.; ALVAREZ, A. M. Bioavailability and sequential extraction of mercury in soils and organisms of a mangrove contaminated by a chlor-alkali plant. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 183, p. 109469, 2019. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2019.109469>
- ARAÚJO, P. R. M.; BIONDI, C. M.; NASCIMENTO, C. W. A.; SILVA, F. B. V.; SILVA, R. W.; SILVA, F. L.; FERREIRA, D. K. M. Assessing the spatial distribution and ecologic and human health risks in mangrove soils polluted by Hg in northeastern Brazil. **Chemosphere**, v. 266, p. 129019, 2021. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2020.129019>
- ARAÚJO, P. R. M. **Biogeoquímica de metais pesados em solos de manguezal do rio botafogo – PE, Brasil**. 2018. 147 f. Tese (Doutorado em Ciências do Solo) – Universidade Federal Rural de Pernambuco, Recife, 2018.
- ARSHAD, M.; EID, E. M.; HASAN, M. Mangrove health along the hyper-arid southern Red Sea coast of Saudi Arabia. **Environmental Monitoring and Assessment**, v. 192, n. 3, p. 189, 2020. <https://doi.org/10.1007/s10661-020-8140-6>
- AZUBUIKE, C. C.; CHIKERE, C. B.; OKPOKWASILI, G. C. Bioremediation techniques—classification based on site of application: principles, advantages, limitations and prospects. **World Journal of Microbiology and Biotechnology**, v. 32, n. 11, p. 180, 2016. <https://doi.org/10.1007/s11274-016-2137-x>
- BAI, S.; LI, J.; HE., VAN NOSTRAND, J.; TIAN, Y.; ZHOU, J.; ZHENG, T. GeoChip-based analysis of the functional gene diversity and metabolic potential of soil microbial communities of mangroves. **Applied Microbiology and Biotechnology**, v. 97, n. 15, p. 7035–7048, 2013. <https://doi.org/10.1007/s00253-012-4496-z>
- BALL, M. M. CARRERO, P.; CASTRO, D.; YARZÁBAL, L. A. Mercury Resistance in Bacterial Strains Isolated from Tailing Ponds in a Gold Mining Area Near El Callao (Bolívar State, Venezuela). **Current Microbiology**, v. 54, n. 2, p. 149–154, 2007.
- BAYEN, S. Occurrence, bioavailability and toxic effects of trace metals and organic contaminants in mangrove ecosystems: A review. **Environment International**, v. 48, p. 84–101, 2012. <https://doi.org/10.1016/j.envint.2012.07.008>

- BJØRKLUND, G.; DADAR, M.; MUTTER, J.; AASETH, J. The toxicology of mercury: Current research and emerging trends. **Environmental Research**, v. 159, p. 545–554, 2017. <https://doi.org/10.1016/j.envres.2017.08.051>
- BOYD, E.; BARKAY, T. The Mercury Resistance Operon: From an Origin in a Geothermal Environment to an Efficient Detoxification Machine. **Frontiers in Microbiology**, v. 3, 2012.
- CORREIA, R. R. S.; GUIMARÃES, J. R. D. Mercury methylation and sulfate reduction rates in mangrove sediments, Rio de Janeiro, Brazil: The role of different microorganism consortia. **Chemosphere**, v. 167, p. 438–443, 2017. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2016.09.153>
- CRESPO-LÓPEZ, M. E. MACEDO, G. L.; PEREIRA, S. I.; ARRIFANO, G. P.; PICANÇO-DINIZ, D. L. V.; NASCIMENTO, J. L. M.; HERCULANO, A. M. Mercury and human genotoxicity: Critical considerations and possible molecular mechanisms. **Pharmacological Research**, v. 60, n. 4, p. 212–220, 2009. <https://doi.org/10.1016/j.phrs.2009.02.011>
- CRESPO-LOPEZ, M. E; AUGUSTO-OLIVEIRA, M.; LOPES-ARAÚJO, A.; SANTOS-SACRAMENTO, L.; YUKI TAKEDA, P.; MACCHI, B.; do NASCIMENTO, J. L. M.; MAIA, C. S.; LIMA, R. R.; ARRIFANO, G. Mercury: What can we learn from the Amazon? **Environment International**, v. 146, p. 106223, 2021. <https://doi.org/10.1016/j.envint.2020.106223>
- CROWE, W.; ALLSOPP, P. J.; WATSON, G. E.; MAGEE, G. E.; STRAIN, J. J. Mercury as an environmental stimulus in the development of autoimmunity – A systematic review. **Autoimmunity Reviews**, v. 16, n. 1, p. 72–80. <https://doi.org/10.1016/j.autrev.2016.09.020>
- DASH, H. R.; DAS, S. Bioremediation of mercury and the importance of bacterial mer genes. **International Biodeterioration & Biodegradation**, v. 75, p. 207–213, 2012. <https://doi.org/10.1016/j.ibiod.2012.07.023>
- DAVIES, B. E. Loss-on-Ignition as an Estimate of Soil Organic Matter. **Soil Science Society of America Journal**, v. 38, n. 1, p. 150–151, 1974. <https://doi.org/10.2136/sssaj1974.03615995003800010046x>
- DE, J.; RAMAIAH, N.; MESQUITA, A.; VERLEKAR, X. N. Tolerance to Various Toxicants by Marine Bacteria Highly Resistant to Mercury. **Marine Biotechnology**, v. 5, n. 2, p. 185–193, 2003. <https://doi.org/10.1007/s10126-002-0061-6>
- DONATO, D. C.; KAUFFMAN, J. B.; MURDIYARSO, D.; KURNIANTO, S.; STIDHAM, M.; KURNIANTO, S.; KANNINEN, M. Mangroves among the most carbon-rich forests in the tropics. **Nature Geoscience**, v. 4, n. 5, p. 293–297, 2011. <https://doi.org/10.1038/ngeo1123>
- DUKE, N. C.; MEYNECKE, J. O.; DITTMANN, S.; ELLISON, A. M.; ANGER, K. BERGER, U.; CANNICCI, S.; DIELE, K.; EWEL, K. C.; FIELD, C. D.; KOEDAM, N.; LEE, S. Y.; MARCHAND, C.; NORDHAUS, I.; DAHDOUH-GUEBAS, F. A World Without Mangroves? **Science**, v. 317, n. 5834, p. 41–42, 2007. <https://doi.org/10.1126/science.317.5834.41b>

FELLER, I. C.; LOVELOCK, C. E.; BERGER, U.; MCKEE, K. L.; JOYE, S. B.; BALL, M. C. Biocomplexity in mangrove ecosystems. **Annu. Rev. Mar. Sci.**, p. 395–417, 2010. <https://doi.org/10.1146/annurev.marine.010908.163809>

FLEMMING, H.-C.; WUERTZ, S. Bacteria and archaea on Earth and their abundance in biofilms. **Nature Reviews Microbiology**, v. 17, n. 4, p. 247–260, 2019. <https://doi.org/10.1038/s41579-019-0158-9>

FRIESS, D.; ROGER, K.; LOVELOCK, C.; KRAUS, K.; HAMILTON, S.; PRIMAVERA, J.; RAJKARAN, A.; SHI, S. The State of the World's Mangrove Forests: Past, Present, and Future. **Annual Review of Environment and Resources**, v. 44, p. 1–27, 2019. <https://doi.org/10.1146/annurev-environ-101718-033302>

FRIESS, D. A.; KRAUSS, K. W.; HORSTMAN, E.; BALKE, T.; BOUMA, T.; BOUMA, T.; GALLI, D.; WEBB, E. L. Are all intertidal wetlands naturally created equal? Bottlenecks, thresholds and knowledge gaps to mangrove and saltmarsh ecosystems. **Biological Reviews**, v. 87, n. 2, p. 346–366, 2012. <https://doi.org/10.1111/j.1469-185X.2011.00198.x>

GEETS, J.; BORREMANS, B.; SPRINGAEL, D.; VANGRONSELD, J.; VAN DER LELIE, D.; VANBROEKHOVEN, K. DsrB gene-based DGGE for community and diversity surveys of sulfate-reducing bacteria. **Journal of Microbiological Methods**, v. 66, n. 2, p. 194–205, 2006. <https://doi.org/10.1016/j.mimet.2005.11.002>

GIRI, C.; OCHIENG, E.; TIESZEN, L. L.; ZHU, Z.; SINGH, A.; LOVELAND, T.; MASEK, J.; DUKE, N. Status and distribution of mangrove forests of the world using earth observation satellite data. **Global Ecology and Biogeography**, v. 20, n. 1, p. 154–159, 2011. <https://doi.org/10.1111/j.1466-8238.2010.00584.x>

GIRI, S.; DASH, H. R.; DAS, S. Mercury Resistant Bacterial Population and Characterization of Bacillus sp., Isolated From Sediment of Solid Waste Discharged Point of Steel Industry. **National Academy Science Letters**, v. 37, n. 3, p. 237–243, 2014. <https://doi.org/10.1007/s40009-014-0229-4>

HONG, Y.-S.; KIM, Y.-M.; LEE, K.-E. Methylmercury Exposure and Health Effects. **Journal of Preventive Medicine and Public Health**, v. 45, n. 6, p. 353–363, 2012. <https://doi.org/10.3961/jpmph.2012.45.6.353>

HOWARD, J.; SUTTON- GRIER, A.; HERR, D.; KLEYPAS, J.; LANDIS, E.; MCLEOD, E.; PIEDGEON, E.; SIMPSON, S. Clarifying the role of coastal and marine systems in climate mitigation. **Frontiers in Ecology and the Environment**, v. 15, n. 1, p. 42–50, 2017. <https://doi.org/10.1002/fee.1451>

KOMIYAMA, A.; ONG, J. E.; POUNGPARN, S. Allometry, biomass, and productivity of mangrove forests: A review. **Aquatic Botany**, Mangrove Ecology – Applications in Forestry and Coastal Zone Management. v. 89, n. 2, p. 128–137, 2008. <https://doi.org/10.1016/j.aquabot.2007.12.006>

KRISTENSEN, E.; BOUILLON, S.; DITTMAR, T.; MARCHAND, C. Organic carbon dynamics in mangrove ecosystems: A review. **Aquatic Botany**, Mangrove Ecology – Applications in Forestry and Coastal Zone Management. v. 89, n. 2, p. 201–219, 2008. <https://doi.org/10.1016/j.aquabot.2007.12.005>

KUMAR, R.; ACHARYA, C.; JOSHI, S. R. Isolation and analyses of uranium tolerant *Serratia marcescens* strains and their utilization for aerobic uranium U(VI) bioadsorption. **The Journal of Microbiology**, v. 49, n. 4, p. 568, 2011. <https://doi.org/10.1007/s12275-011-0366-0>

KUMARI, S.; AMIT. JAMWAL, R.; MISHA, N.; SINGH, D. K. Recent developments in environmental mercury bioremediation and its toxicity: A review. **Environmental Nanotechnology, Monitoring & Management**, v. 13, p. 100283, 2020. <https://doi.org/10.1016/j.enmm.2020.100283>

LEE, S. Y.; DUNN, R. J. K.; YOUNG, R. A. CONNOLLY, R. M.; DALE, P. E. R. Impact of urbanization on coastal wetland structure and function. **Austral Ecology**, v. 31, n. 2, p. 149–163, 2006. <https://doi.org/10.1111/j.1442-9993.2006.01581.x>

LEI, P.; ZHONG, H.; DUAN, D.; PAN.; K. A review on mercury biogeochemistry in mangrove sediments: Hotspots of methylmercury production? **Science of The Total Environment**, v. 680, p. 140–150, 2019. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2019.04.451>

LIEBERT, C. A.; HALL, R. M.; SUMMERS, A. O. Transposon Tn21, Flagship of the Floating Genome. **Microbiology and Molecular Biology Reviews**, v. 63, n. 3, p. 507–522, 1999. <https://doi.org/10.1128/MMBR.63.3.507-522.1999>

BRANDER, L. M.; W, A. J.; HUSSAIN, S. S.; McVITTIE, A.; VERBURG, P. H.; GROOT, R. S.; PLOEG, S. V. Ecosystem service values for mangroves in Southeast Asia: A meta-analysis and value transfer application. **Ecosystem Services**, v. 1, n. 1, p. 62–69, 2012. <https://doi.org/10.1016/j.ecoser.2012.06.003>

MAHBUB, K. R.; KRISHNAN, K.; NAIDU, R.; MEGHARAJ, M. Mercury remediation potential of a mercury resistant strain *Sphingopyxis* sp. SE2 isolated from contaminated soil. **Journal of Environmental Sciences**, v. 51, p. 128–137, 2017. <https://doi.org/10.1016/j.jes.2016.06.032>

MAHBUB, K. R.; MAHAR, M. M.; LABBATE, M.; ANDREWS, S.; NAIDU, R.; MEGHARAJ, M. Bioremediation of mercury: not properly exploited in contaminated soils! **Applied Microbiology and Biotechnology**, v. 101, n. 3, p. 963–976, 2017. <https://doi.org/>

MATHEMA, V. B.; THAKURI, B. C.; SILLANPÄÄ, M. Bacterial mer operon-mediated detoxification of mercurial compounds: a short review. **Archives of Microbiology**, v. 193, n. 12, p. 837–844, 2011. <https://doi.org/10.1007/s00253-016-8079-2>

MØLLER, A. K.; BARKAY, T.; AL-SOUD, W.; SØRENSEN, S. J.; SKOV, H.; KROER, N. ADiversity and characterization of mercury-resistant bacteria in snow, freshwater and sea-ice brine from the High Arctic. **FEMS Microbiology Ecology**, v. 75, n. 3, p. 390–401, 2011. <https://doi.org/10.1111/j.1574-6941.2010.01016.x>

MØLLER, A. K.; BARKAY, T.; HANSEN, M.; NORMAN, A.; HANSEN, L. H.; SØRENSEN, S. J.; BOYED, E. S.; KROER, N. Mercuric reductase genes (merA) and mercury resistance plasmids in High Arctic snow, freshwater and sea-ice brine. **FEMS Microbiology Ecology**, v. 87, n. 1, p. 52–63, 2014. <https://doi.org/10.1111/1574-6941.12189>

MOSA, K. A; SAADOUN, I.; KUMAR, K.; HELMY, M.; DHANKHER, O. Potential Biotechnological Strategies for the Cleanup of Heavy Metals and Metalloids. **Frontiers in Plant Science**, v. 7, 2016. <https://doi.org/10.3389/fpls.2016.00303>

NATASHA. SHAHID, M.; KHALID, S.; BIBI, I.; BUNDSCHUH, J.; KHAN NI, N.; DUMAT, C. A critical review of mercury speciation, bioavailability, toxicity and detoxification in soil-plant environment: Ecotoxicology and health risk assessment. **Science of The Total Environment**, v. 711, p. 134749, 2020. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2019.134749>

OSTERWALDER, S.; BISHOP, K.; ALEWELL, C.; FRITSCH, J.; LAUDON, H.; AKERBLUM, S.; NILSSON, M. B. Mercury evasion from a boreal peatland shortens the timeline for recovery from legacy pollution. **Scientific Reports**, v. 7, n. 1, p. 16022, 2017. <https://doi.org/10.1038/s41598-017-16141-7>

PARIS, O. J.; SWADDLE, J. P.; CRISTOL, D. A. Exposure to Dietary Methyl-Mercury Solely during Embryonic and Juvenile Development Halves Subsequent Reproductive Success in Adult Zebra Finches. **Environmental Science & Technology**, v. 52, n. 5, p. 3117–3124, 2018. <https://doi.org/10.1021/acs.est.7b04752>

PARISA, K.; MEHRAN, H.; AREZOO, T. Multi-metal resistance study of bacteria highly resistant to mercury isolated from dental clinic effluent. **African Journal of Microbiology Research**, v. 5, n. 7, p. 831–837, 2011. <https://doi.org/10.5897/AJMR10.860>

PARK, J.-D.; ZHENG, W. Human Exposure and Health Effects of Inorganic and Elemental Mercury. **Journal of Preventive Medicine and Public Health**, v. 45, n. 6, p. 344–352, 2012. <https://doi.org/10.3961/jpmph.2012.45.6.344>

PEPI, M.; GAGGI, C.; BERNARDINI, E.; FOCARD, S.; LOBIANCO, A.; RUTA, M.; NICOLARDI, V.; VOLTERRANI, M.; GASPERINI, S.; TRINCHERA, G.; RENZI, P.; GABELLINI, M.; FOCARDI, S. Mercury-resistant bacterial strains *Pseudomonas* and *Psychrobacter* spp. isolated from sediments of Orbetello Lagoon (Italy) and their possible use in bioremediation processes. **International Biodeterioration & Biodegradation**, v. 65, n. 1, p. 85–91, 2011. <https://doi.org/10.1016/j.ibiod.2010.09.006>

PRIYADARSHANEE, M.; CHATTERJEE, S.; RATH, S.; DASH, H. R.; DAS, S. Cellular and genetic mechanism of bacterial mercury resistance and their role in biogeochemistry and bioremediation. **Journal of Hazardous Materials**, v. 423, p. 126985, 2022. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2021.126985>

RADWAN, S. S.; AL-MAILEM, D. M.; KANSOUR, M. K. Calcium (II) - and dipicolinic acid mediated-biostimulation of oil-bioremediation under multiple stresses by heat, oil and heavy metals. **Scientific Reports**, v. 7, n. 1, p. 9534, 2017. <https://doi.org/10.1038/s41598-017-10121-7>

RANI, L.; SRIVASTAV, A. L.; KAUSHAL, J. Bioremediation: An effective approach of mercury removal from the aqueous solutions. **Chemosphere**, v. 280, p. 130654, 2021. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2021.130654>

RAVEL, J.; DiRUGGIERO, J.; ROBB, F. T.; HILL, R. T. Cloning and Sequence Analysis of the Mercury Resistance Operon of *Streptomyces* sp. Strain CHR28 Reveals a Novel Putative Second Regulatory Gene. **Journal of Bacteriology**, v. 182, n. 8, p. 2345–2349, 2000. <https://doi.org/10.1128/JB.182.8.2345-2349.2000>

RENNEBERG, A. J.; DUDAS, M. J. Transformations of elemental mercury to inorganic and organic forms in mercury and hydrocarbon co-contaminated soils. **Chemosphere**, v. 45, n. 6, p. 1103–1109, 2001. [https://doi.org/10.1016/S0045-6535\(01\)00122-9](https://doi.org/10.1016/S0045-6535(01)00122-9)

RISHER, J. F.; NICKLE, R. A.; AMLER, S. N. Elemental mercury poisoning in occupational and residential settings. **International Journal of Hygiene and Environmental Health**, v. 206, n. 4, p. 371–379, 2003. <https://doi.org/10.1078/1438-4639-00233>

ROBINSON, J. B.; TUOVINEN, O. H. Mechanisms of microbial resistance and detoxification of mercury and organomercury compounds: physiological, biochemical, and genetic analyses. **MICROBIOL. REV.**, v. 48, p. 30, 1984. <https://doi.org/10.1128/mr.48.2.95-124.1984>

ROMAÑACH, S. S.; DEANGELIS, D.; KOH, H. L.; LI, Y.; TEH, S. Y.; RAJA BARI, R.; ZHAI, L. Conservation and restoration of mangroves: Global status, perspectives, and prognosis. **Ocean & Coastal Management**, v. 154, p. 72–82, 2018. <https://doi.org/10.1016/j.ocecoaman.2018.01.009>

RUIZ, O. N.; ALVAREZ, D.; GONZALEZ-RUIZ, G.; TORRES, C. Characterization of mercury bioremediation by transgenic bacteria expressing metallothionein and polyphosphate kinase. **BMC Biotechnology**, v. 11, n. 1, p. 82, 2011. <https://doi.org/10.1186/1472-6750-11-82>

SANDILYAN, S.; KATHIRESAN, K. Mangrove conservation: a global perspective. **Biodiversity and Conservation**, v. 21, n. 14, p. 3523–3542, 2012. <https://doi.org/10.1007/s10531-012-0388-x>

SANTOS, H. F.; CARMO, F. L.; PAES, J. E. S.; ROSADO, A.; PEIXOTO, R. S. Bioremediation of Mangroves Impacted by Petroleum. **Water, Air, & Soil Pollution**, v. 216, n. 1, p. 329–350, 2011. <https://doi.org/10.1007/s11270-010-0536-4>

SASMITO, S. D.; TAILLARDT, P.; CLENDENNING, J. N.; CAMERON, C.; FRIESS, D. A.; MURDIYARSO, D.; HUTLEY, L. B. Effect of land-use and land-cover change on mangrove blue carbon: A systematic review. **Global Change Biology**, v. 25, n. 12, p. 4291–4302, 2019. <https://doi.org/10.1111/gcb.14774>

SAYLER, G. S.; RIPP, S. Field applications of genetically engineered microorganisms for bioremediation processes. **Current Opinion in Biotechnology**, v. 11, n. 3, p. 286–289, 2000. [https://doi.org/10.1016/S0958-1669\(00\)00097-5](https://doi.org/10.1016/S0958-1669(00)00097-5)

SCHAEFER, J. K. et al. Role of the Bacterial Organomercury Lyase (MerB) in Controlling Methylmercury Accumulation in Mercury-Contaminated Natural Waters. **Environmental Science & Technology**, v. 38, n. 16, p. 4304–4311, 2004. [https://doi.org/ 10.1021/es049895w](https://doi.org/10.1021/es049895w)

SCHAEFER, J. K.; KRONBERG, R. M.; MOREL, F. M. M.; SKYLLBERG, U. Detection of a key Hg methylation gene, *hgcA*, in wetland soils. **Environmental Microbiology Reports**, v. 6, n. 5, p. 441–447, 2014. <https://doi.org/10.1111/1758-2229.12136>

SCHULZ, H. Redox Measurements in Marine Sediments. 2000. [https://doi.org/ 10.1007/978-3-662-04080-5_19](https://doi.org/10.1007/978-3-662-04080-5_19)

SEYBOLD, C. A; MERSIE, W.; HUANG, J.; McNAMEE, C. Soil redox, pH, temperature, and water-table patterns of a freshwater tidal wetland. **Wetlands**, v. 22, n. 1, p. 149–158, 1 2002. [https://doi.org/10.1672/0277-5212\(2002\)022\[0149:SRPTAW\]2.0.CO;2](https://doi.org/10.1672/0277-5212(2002)022[0149:SRPTAW]2.0.CO;2)

SHERMAN, R. E.; FAHEY, T. J.; HOWARTH, R. W. Soil-plant interactions in a neotropical mangrove forest: iron, phosphorus and sulfur dynamics. **Oecologia**, v. 115, n. 4, p. 553–563, 1998. <https://doi.org/10.1007/s004420050553>

SINGH, Y. D.; SINGH, M. C.; PANDA, M. K. Chapter 18 - Biotechnological aspects of mangrove microorganisms. Em: PATRA, J. K.; MISHRA, R. R.; THATOI, H. (Eds.). **Biotechnological Utilization of Mangrove Resources**. [s.l.] Academic Press, 2020. p. 381–398.

SIUDEK, P.; FALKOWSKA, L.; URBA, A. Temporal variability of particulate mercury in the air over the urbanized zone of the southern Baltic. **Atmospheric Pollution Research**, v. 2, n. 4, p. 484–491, 1 out. 2011. [https://doi.org /10.5094/APR.2011.055](https://doi.org/10.5094/APR.2011.055)

TORRES, G. G.; FIGUEIROA-GALVIS, I.; MUÑOZ-GARCÍA, A.; POLANÍA, A.; VANEGAS, J. Potential bacterial bioindicators of urban pollution in mangroves. **Environmental Pollution**, v. 255, p. 113293, 2019. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2019.113293>

VON BURG, R. Inorganic mercury. **Journal of Applied Toxicology**, v. 15, n. 6, p. 483–493, 1995. <https://doi.org/10.1002/jat.2550150610>

VON CANSTEIN, H.; LI, Y.; TIMMIS, KN.; DECKWER, W. D.; WAGNER-DÖBLER, I. Removal of Mercury from Chloralkali Electrolysis Wastewater by a Mercury-Resistant *Pseudomonas putida* Strain. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 65, n. 12, p. 5279–5284, 1999. <https://doi.org/10.1128/AEM.65.12.5279-5284.1999>

WAGNER-DÖBLER, I. Pilot plant for bioremediation of mercury-containing industrial wastewater. **Applied Microbiology and Biotechnology**, v. 62, n. 2, p. 124–133, 2003. <https://doi.org/10.1007/s00253-003-1322-7>

WANG, J.; DU, H.; XU, Y.; CHEN, K.; LIANG, J. Environmental and Ecological Risk Assessment of Trace Metal Contamination in Mangrove Ecosystems: A Case from Zhangjiangkou Mangrove National Nature Reserve, China. **BioMed Research International**, v. 2016, p. 2167053, 2016. <https://doi.org/10.1155/2016/2167053>

WANG, X.; TAM, N. F.; FU, S.; AMETKAN, A.; OUYANG, Y.; YE, Z. Selenium addition alters mercury uptake, bioavailability in the rhizosphere and root anatomy of rice (*Oryza sativa*). **Annals of Botany**, v. 114, n. 2, p. 271–278, 2014. <https://doi.org/10.1093/aob/mcu117>

WIREMAN, J.; LIEBERT, C.; SMITH, T.; SUMMER, A. Association of mercury resistance with antibiotic resistance in the gram-negative fecal bacteria of primates. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 63, n. 11, p. 4494–4503, 1997. <https://doi.org/10.1128/aem.63.11.4494-4503.1997>

YILMAZ, E. I. Metal tolerance and biosorption capacity of *Bacillus circulans* strain EB1. **Research in Microbiology**, v. 154, n. 6, p. 409–415, 2003. [https://doi.org/10.1016/S0923-2508\(03\)00116-5](https://doi.org/10.1016/S0923-2508(03)00116-5)

YIN, D; HE, T.; YIN, R.; ZENG, L. Effects of soil properties on production and bioaccumulation of methylmercury in rice paddies at a mercury mining area, China. **Journal of Environmental Sciences, Mercury Fate and Biogeochemistry**. v. 68, p. 194–205, 2018. <https://doi.org/10.1016/j.jes.2018.04.028>

YU, Z.; LI, J.; LI, Y.; WANG, Q.; ZHAI, X. A mer operon confers mercury reduction in a *Staphylococcus epidermidis* strain isolated from Lanzhou reach of the Yellow River. **International Biodeterioration & Biodegradation**, v. 90, p. 57–63, 2014. <https://doi.org/10.1016/j.ibiod.2014.02.002>

ZENG, X. et al. Isolation, characterization and extraction of mer gene of Hg²⁺ resisting strain D2. **Transactions of Nonferrous Metals Society of China**, v. 20, n. 3, p. 507–512, 2010. [https://doi.org/10.1016/S1003-6326\(09\)60170-9](https://doi.org/10.1016/S1003-6326(09)60170-9)

ZHANG, W.; CHEN, L.; LIU, D. Characterization of a marine-isolated mercury-resistant *Pseudomonas putida* strain SP1 and its potential application in marine mercury reduction. **Applied Microbiology and Biotechnology**, v. 93, n. 3, p. 1305–1314, 2012. <https://doi.org/10.1007/s00253-011-3454-5>