



**UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DE PERNAMBUCO  
DEPARTAMENTO DE AGRONOMIA**

**JENNIFER NICOLI DE SOUZA OLIVEIRA**

**RELATÓRIO FINAL DE ATIVIDADES DO ESTÁGIO SUPERVISIONADO  
OBRIGATÓRIO: Seleção de Bactérias com Potencial de Utilização em  
Processo de Biorremediação de Solos Contaminados por Mercúrio.  
BACHARELADO**

Recife  
2025



**JENNIFER NICOLI DE SOUZA OLIVEIRA**

**RELATÓRIO FINAL DE ATIVIDADES DO ESTÁGIO  
SUPERVISIONADO OBRIGATÓRIO: SELEÇÃO DE BACTÉRIAS  
COM POTENCIAL DE UTILIZAÇÃO EM PROCESSO DE  
BIORREMEDIAÇÃO DE SOLOS CONTAMINADOS POR  
MERCÚRIO.  
BACHARELADO EM AGRONOMIA**

Relatório de Estágio  
Supervisionado Obrigatório  
apresentado à Universidade  
Federal Rural de  
Pernambuco como parte das  
exigências para obtenção do  
título de Bacharel em  
Agronomia.

Orientador: Prof<sup>ª</sup>. Dra.  
Caroline Miranda Biondi

Recife  
2025

## **RELAÇÃO DE ESTÁGIO REALIZADO**

NOME: JENNIFER NICOLI DE SOUZA OLIVEIRA

MATRÍCULA: 088.786.194-69

CURSO: Bacharelado

ORIENTADOR (a): CAROLINE MIRANDA  
BIONDI

ESTABELECIMENTO DE ENSINO: Universidade Federal Rural de  
Pernambuco

### **ESTÁGIO CURRICULAR SUPERVISIONADO**

LOCAL DE REALIZAÇÃO: UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DE PERNAMBUCO  
– UFRPE Sede

ENDEREÇO: RUA DOM MANOEL DE MEDEIROS, S/N – DOIS IRMÃOS,  
RECIFE-PE, 52171-900

PERÍODO: 01/09/2022 – 31/08/2023

CARGA HORÁRIA: 1040h

SUPERVISOR (A): CAROLINE MIRANDA BIONDI

---

ORIENTADOR (A)

---

CONCEDENTE

---

ESTAGIÁRIO (A)

## RESUMO

Os manguezais desempenham um papel crucial na ecologia, manutenção da qualidade da água, biodiversidade e estabilidade dos solos. No entanto, a contaminação por metais pesados, como o mercúrio (Hg), tem se mostrado um problema decorrente das atividades industriais. Atualmente tem se buscado formas de recuperar essas áreas contaminadas por Hg, sendo a biorremediação microbiana uma alternativa promissora para recuperação dessas áreas, pois utiliza de bactérias indígenas, resistentes ao Hg capazes de volatiliza-lo. Por isso, objetivou-se neste trabalho avaliar a eficiência de bactérias indígenas de solo contaminado por Hg no estuário do Rio Botafogo, para uso em processos de biorremediação. Foram coletadas amostras de solo do estuário do Rio Botafogo, em Pernambuco, divididas em P1 e P2, e isoladas bactérias dessas amostras. Foram realizados testes como o de Concentração inibitória mínima (CIM) para avaliar a capacidade das bactérias em resistir ao mercúrio. Os resultados indicaram que os solos do estuário estão contaminados por Hg em concentrações de 4,28 a 10,42 mg kg<sup>-1</sup> e que há a presença de isolados dos gêneros *Enterococcus*, *Bacillus* e *Pseudomonas*, que possuem resistência de 50 a 100 mg L<sup>-1</sup> de Hg, de acordo com o teste CIM. Essas bactérias apresentam potencial para serem utilizadas em processos de biorremediação. Além disso, o solo do manguezal do estuário do Rio Botafogo apresentou pH próximo à neutralidade e potencial redox indicando ambiente anóxico.

## SUMÁRIO (OBRIGATÓRIO)

<b>1 INTRODUÇÃO</b> .....	<b>09</b>
<b>2 OBJETIVOS</b> .....	<b>12</b>
<b>2.1 Objetivo Geral</b> .....	<b>12</b>
<b>2.2 Objetivos Específicos</b> .....	<b>12</b>
<b>3 MATERIAL E MÉTODOS</b> .....	<b>12</b>
<b>3.1 Coleta de amostras</b> .....	<b>12</b>
<b>3.2 Determinação dos teores ambientalmente disponíveis de hg em solo</b> .....	<b>12</b>
<b>3.3 O isolamento de bactéria sem meio seletivo enriquecido com Hg</b> .....	<b>13</b>
<b>3.4 Identificação dos isolados</b> .....	<b>13</b>
<b>3.5 Concentração inibitória mínima (CIM)</b> .....	<b>14</b>
<b>4 ANÁLISES</b> .....	<b>15</b>
<b>4.1 Detecção dos genes <i>merA</i> e <i>merB</i></b> .....	<b>15</b>
<b>4.1.1 Detecção dos genes <i>merA</i></b> .....	<b>15</b>
<b>4.1.2 Detecção dos genes <i>merB</i></b> .....	<b>15</b>
<b>4.2 Capacidade de remover Hg do meio de crescimento</b> .....	<b>16</b>
<b>4.2.1 Preparação das células para ensaios de remoção de Hg</b> .....	<b>16</b>
<b>4.2.2 Ensaios de remoção de Hg pelos isolados em meio LB</b> .....	<b>16</b>
<b>4.2.3 Determinação de Hg remanescente</b> .....	<b>16</b>
<b>5 CONSIDERAÇÕES FINAIS</b> .....	<b>17</b>
<b>REFERÊNCIAS</b> .....	<b>24</b>

## 1 INTRODUÇÃO

O mercúrio (Hg) é um metal pesado, não essencial, com potencial de bioacumulação, biomagnificação ao longo da cadeia trófica, potencial de metilação, altamente tóxico e persistente (Borrel et al., 2016; Lei et al., 2019; Oliveira, 2005; Selin, 2014). Sua concentração nos ambientes tem sido notada, devido as suas características de biodisponibilidade, toxicidade e mobilidade que dependem de suas formas químicas e concentração (Liu et al., 2017). A presença de Hg nos ambientes pode ser proveniente de processos naturais ou por ação antrópica, como mineração de ouro, agricultura e principalmente por atividades industriais de soda-cloro (Nakamura et al., 1999). O caso da Baía de Minamata, no Japão, ganhou notoriedade devido as altas concentrações de Hg encontradas nos sedimentos, o que causou a doença de Minamata, onde a população se contaminou com o consumo de peixes e mariscos contaminados com metilmercúrio, uma das formas químicas do Hg (Governo da província de Kunamoto, 1973). Ou seja, além da contaminação do ambiente por Hg causar prejuízos aos ecossistemas, pode também afetar a saúde humana e de outros organismos vivos (Sun et al., 2010). Atualmente, os solos de manguezais, tem sido amplamente estudado, pois tem sofrido com a contaminação por Hg, devido a deposição de resíduos contaminados de indústrias de soda-cloro (Niu et al., 2019; Walker, 2016). De modo geral, os manguezais desempenham importante papel na ecologia, manutenção da qualidade da água e do microclima local, da biodiversidade e na estabilidade dos solos (Luz e Teixeira, 2019), além de serem indicadores biológicos na modificação da linha de costa e ser sensível às alterações causadas pelas ações humanas (Santos, Santos e Holanda, 2011). E ainda assim, os solos de manguezais e sedimentos podem atuar como filtros geoquímicos de Hg, que pode acumular na fase sólida, favorecendo a entrada do Hg para outros compartimentos ambientais (Araújo et al., 2021). O ambiente alagado dos solos de manguezais apresenta características que favorecem a retenção, acúmulo e metilação do Hg (Bisinoti e Jardim, 2004). Como, condições redutoras, altos teores de matéria orgânica e maior acúmulo da fração argila. O processo de metilação do Hg, é muito importante para os ambientes contaminados com esse metal, pois é nesse processo que o Hg passa da sua forma inorgânica ( $Hg^{+2}$ ) para sua forma orgânica ( $CH_3Hg$ ;  $C_2H_5Hg$ ), de maior toxicidade (Bisinoti e Jardim, 2004) devido a sua maior lipossolubilidade (Miranda et al., 2007) esse

processo determina a ciclagem do Hg no ambiente e sua entrada na biosfera (Gao et al., 2022). Os organismos responsáveis por esse processo de metilação são os procariotos, em

específico as bactérias redutoras de sulfato, ferro e metanogênicas (Segade et al., 2010; Wu et al., 2011; Zhao, 2020;). Com isso, surge a necessidade de medidas que possam controlar, monitorar e remediar a contaminação por Hg, para redução dos impactos que podem ser causados. De acordo com o PNUMA, 2013, artigos propuseram a utilização de nanotecnologia, métodos de estabilização/solidificação, imobilização, vitrificação, dessorção térmica, eletrorremediação, fitoestabilização, fitoextração e fitovolatilização, para remediar o Hg, mas esses métodos físico-químicos para remoção do Hg, apresenta ineficácia, o que aumenta a demanda por outros métodos ambientalmente seguros (De et al., 2008; Sinha et al., 2012; Wang et al., 2012, 2020). A biorremediação microbiana é uma alternativa promissora, pois em comparação com outras técnicas físico-químicas tem o custo baixo (Costa, 2022). Para a biorremediação microbiana uma gama de bactérias gram-positivas e gram-negativas tem sido descobertas com uma maneira única de resistir e posteriormente, transformar as formas de Hg tóxicas em formas não tóxicas (Dash e Das, 2012), através do operon *mer* que é composto por diversos genes que codificam proteínas que são responsáveis pela autorregulação do *operon*, transporte e redução do Hg tóxico a Hg elementar (Hg<sub>0</sub>) (Bento et al., 2011), que é sua forma menos tóxica e menos persistente (Costa, 2022), através da volatilização (Bento et al., 2011). Um dos mecanismos de resistência mais comum é a redução enzimática de Hg<sup>2+</sup> para Hg<sub>0</sub> pela redutase mercúrio (*MerA*) codificada pelo gene *merA* (Møller et al., 2014), e em alguns casos são necessários genes *merB* adicionais para conferir resistência a alguns organomercuriais.

Investigações realizadas na década de 80 pela Agência Estadual de Meio Ambiente (CPRH), indicaram que os solos do manguezal do estuário do Rio Botafogo, no litoral norte de Pernambuco estão contaminados por Hg, devido a uma indústria de soda-clora, localizada a 17 km da foz do Rio Botafogo (Meyer, 1996), que despejava seus efluentes contaminados por Hg, próximo à margem do rio. Estudos realizados na área mostraram que os solos do estuário têm pH próximo a neutralidade e potencial redox indicando ambiente anóxico (<100mV) (Araújo et al., 2019), o que implica na presença de bactérias redutoras de sulfato que podem interagir com o Hg pela afinidade com enxofre. De acordo com o exposto, objetivou-se nesse trabalho

avaliar a eficiência de bactéria indígenas de solo contaminado no estuário do Rio Botafogo para emprego em processos de biorremediação.

## **2 OBJETIVOS**

### **2.1 Objetivo geral**

Avaliar a eficiência de bactéria indígenas de solo contaminado no estuário do Rio Botafogo para emprego em processos de biorremediação.

### **2.2. Objetivos específicos**

- Identificar bactérias resistentes a contaminação por mercúrio no Rio Botafogo;
- Identificar a presença de genes mer nas bactérias que apresentaram a maior tolerância ao Hg;
- Ajustar protocolos para a produção de inóculo com capacidade de volatilização do Hg.
- Selecionar bactérias com elevado potencial de volatilização;

## **3 MATERIAIS E MÉTODOS**

### **3.1 Coleta de amostras**

As amostras de solo foram coletadas no estuário do Rio Botafogo, localizado no litoral norte de Pernambuco, na profundidade de 0-10 cm, em dois pontos de coleta (P1 e P2). As amostras foram acondicionadas em sacos plásticos, transportadas em caixa térmica, homogeneizadas e armazenadas em potes de plástico, mantidas no freezer a 4° C. Após a conservação essas amostras serviram de base para a seleção de 11 isolamentos de produção em meio rico em Hg.

### **3.2. Determinação dos teores ambientalmente disponíveis de hg em solo**

A determinação das concentrações ambientalmente disponível de Hg no solo foi realizada pelo método 3051A (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 (HNO<sub>3</sub>) 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 de 25 mL, cujos volumes foram completados com água ultrapura e posteriormente filtrados (Araújo, 2018).

### **3.3. O isolamento de bactéria sem meio seletivo enriquecido com Hg**

O isolamento das bactérias resistentes ao Hg foi realizado pelo método de enriquecimento primário em meio de cultura. Para isso, foi utilizado 0,1g de solo adicionado a 20 ml de caldo Luria Bertani – LB, composto de: cloreto de sódio (5 g L<sup>-1</sup>), triptona (10 g L<sup>-1</sup>) e extrato de levedura (5 g L<sup>-1</sup>), suplementado com diferentes doses Hg, na forma de HgCl<sub>2</sub> (2,5; 5 e 10 mg L<sup>-1</sup>) e incubadas por um período de 24 h a 30 °C. As 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 °C. Ao fim dessa etapa, foi transferido uma alíquota de 30 µL do meio enriquecido para o meio ágar LB suplementado com 2,5 mg L<sup>-1</sup>, 5 mg L<sup>-1</sup> e 10 mg L<sup>-1</sup> de Hg e incubado por 24 h a 30 °C (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<sup>-1</sup> foram transferidos para placas com meio suplementado com 50 e 100 mg L<sup>-1</sup> de Hg na forma de HgCl<sub>2</sub>. Todos os isolados obtidos foram estocados em glicerol a 20%, as culturas que toleraram a concentração de 100 mg L<sup>-1</sup> passaram pelo teste de concentração inibitória mínima (CIM) e 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,).

### **3.4. Identificação dos isolados**

Primeiramente foi realizado a extração do DNA genômico dos isolados utilizando um kit de extração. Após a extração do DNA genômico, as sequências dos genes 16S ribossomal foram submetidas a técnica de PCR (Reação em Cadeia da Polimerase). A amplificação das sequências dos genes 16s rRNA foi realizada utilizando primers universais para bactérias foram o 27F (5'-AGATTTGATCMTGGCTCAG-3') e primer reverso 1492R (5'- TACGGYTACCTTGTTACGACTT-3') em termociclador T3, para a amplificação em PCR. As reações de amplificação seguiram o seguinte protocolo:

tampão de reação (50 mM Tris- HCl, pH 9,0, 50 mM KCl, 2,5% Triton X 100), dNTPS (200  $\mu$ M cada), 0,2  $\mu$ M MgCl<sub>2</sub>, 0,25  $\mu$ M de cada primer, 0,8 ng/ $\mu$ L de DNA das amostras e 0,02 U de Taq DNA polimerase. O programa de PCR de desnaturação inicial foi de 35 ciclos (95 °C por 5 min), seguido por 30 ciclos de desnaturação subsequente (95 °C por 1 min; anelamento, 50 °C por 1 min; extensão, 72 °C por 1 min e extensão final por 10 min). A purificação dos produtos do PCR foi realizada com o uso de um Kit de reagentes para purificação de DNA. Após a purificação, os produtos amplificados de rRNA 16S foram levadas para sequenciamento (Chen et al., 2018; Giovanella et al., 2011). As reações foram lidas em sequenciador automático de DNA e todas as sequências do gene rRNA 16S obtidas serão submetidas ao banco de dados GenBank/NCBI para serem comparadas com sequencias já publicadas.

### **3.5. Concentração inibitória mínima (CIM)**

Para a avaliação do MIC, os isolados foram incubados por 48 h a 30° C em meio de cultura Luria Bertani (LB) contendo diferentes concentrações de Hg na forma de HgCl<sub>2</sub> (50 a 450 mg L<sup>-1</sup>), agitados a 100 rpm, utilizando microtubos de 2 ml. Cada microtubo recebeu 200  $\mu$ L de caldo LB e 5  $\mu$ L de culturas cultivadas durante a noite (*overnight*). Após o período de incubação, o meio de cultura que não apresentou turvação foi considerado o MIC do isolado pra o Hg. Foram adotados com meio LB positivo e negativo. Para o negativo possuía apenas caldo LB e para o positivo era composto por caldo LB inoculado sem adição de Hg (Giovanella et al., 2016).

## **4 ANÁLISES**

### **4.1. Detecção dos genes *merA* e *merB***

#### **4.1.1. Detecção dos genes *merA***

A investigação da presença dos genes *merA* (mercúrio redutase), responsável pela transformação do Hg inorgânico em Hg elementar, será feita através da técnica PCR. Os primers utilizados na reação de PCR serão 3F e 3R. A reação tampão será composta da mistura de 5 µL de 10X de tampão, 1,5 µL de 25 mM MgCl<sub>2</sub>, 1 µL de 10 mM dNTPs, 0,02 U de Taq DNA polimerase, 0,5 µL de 20 pmol µL<sup>-1</sup> de oligonucleotídeos iniciadores (forward e reverse) e 16,75 µL de água ultrapura. Para a ampliação do gene será adotada as seguintes condições: a desnaturação inicial será realizada a uma temperatura de 95 °C e duração de 5 minutos, em sequência 35 ciclos a uma temperatura de 95 °C com duração de 1 minuto, 64 °C por 1 minutos e 90 °C por 72 segundos e uma extensão final de 72 °C por 10 minutos. Todas as reações de PCR irão possuir um controle negativo que será preparado nas mesmas condições descritas acima, com exceção da reação que for adicionado DNA. As reações serão corridas em GeneAmp PCR System 9700 (Applied Biosystems, CA). Os produtos das reações de PCR serão separados em gel de agarose a 1% (Fisher Scientific, MA) e observadas através do sistema Geldoc 2000 (BIO-RAD, CA) (Giovannella et al., 2016).

#### **4.1.2. Detecção dos genes *merB***

A investigação da presença dos genes *merB* (organomercurio liase), responsável pela quebra da ligação do metilHg, será feita através da técnica PCR. Os primers utilizados na reação de PCR serão IA34F e 3A35R. A reação tampão será a mesma adotada para a detecção dos genes *merA*. Para a ampliação do gene será adotada as seguintes condições: a desnaturação inicial será realizada a uma temperatura de 95 °C e duração de 5 minutos, em sequência 40 ciclos a uma temperatura de 95 °C com duração de 1 minuto, 65 °C por 1 minutos e 72 °C por 1 minuto e ciclo final de 70 °C por 10 minutos. As reações serão corridas em GeneAmp PCR System 9700 (Applied Biosystems, CA). Os produtos das reações de PCR serão separados em gel de agarose a 1% (Fisher Scientific, MA) e observadas através do sistema Geldoc 2000 (BIO-RAD, CA) (Cabral et al., 2012).

## **4.2. Capacidade de remover Hg do meio de crescimento**

### **4.2.1. Preparação das células para ensaios de remoção de Hg**

Os isolados que se mostraram resistentes ao Hg serão cultivados em meio LB enriquecido com 10  $\mu\text{M}$  de  $\text{HgCl}_2$  a 30 °C por 24 h sob agitação de 130 rpm. Cada inóculo será padronizado em 107 UFC mL<sup>-1</sup> iniciais pela turbidimetria, analisando a densidade óptica a 600 nm e a correspondente quantidade de UFC mL<sup>-1</sup> em placas. O controle negativo será feito com meio frascos contendo meio LB não inoculado e incubados a 30 °C por 24 h. A remoção do Hg do meio LB inoculado será medido e relacionado ao crescimento celular (DO), as leituras de densidade óptica serão tomadas em 600 nm (Giovanella et al., 2016).

### **4.2.2. Ensaios de remoção de Hg pelos isolados em meio LB**

Cerca de 2 x 10<sup>7</sup> UFC mL<sup>-1</sup> de cada isolado será inoculado em meio LB contendo 10  $\mu\text{M}$  de  $\text{HgCl}_2$  e a remoção avaliada após 24 h de incubação a 30 °C. Após o período de incubação, amostras do meio LB serão retiradas para determinar o crescimento celular pela leitura DO<sub>600</sub> e a capacidade de remoção será determinada a partir do percentual de Hg restante no meio (Giovanella et al., 2016).

### **4.2.3. Determinação de Hg remanescente**

Para determinar o Hg remanescente nas amostras será adotada a metodologia EPA 7471B, através de espectrofotometria de absorção atômica/geração de vapor a frio. Antes e depois do uso, as vidrarias serão higienizadas em  $\text{HNO}_3$  a 30% e o enxague será feito de forma repetida com água ultrapura. Para análise, uma alíquota de 0,1 mL do sobrenadante será coletada e transferida para os tubos de ensaio contendo 5 mL de  $\text{H}_2\text{SO}_4$  (98%), 2 mL de  $\text{HNO}_3$  (65%), 10 mL de uma solução de  $\text{KMnO}_4$  (70 g L<sup>-1</sup>). Essa mistura será então submetida a 121 °C por 15 min em autoclave. Após esse procedimento, será adicionado 6 mL de cloridrato de hidroxilamina (12%) ( $\text{HONH}_2\cdot\text{HCl}$ ). O Hg será quantificado através de um espectrômetro de absorção atômica de vapor a frio (Giovanella et al., 2016).

## 5 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Os teores totais de Hg em P1 foram de 4,28 mg kg<sup>-1</sup> e em P2 10,42 mg kg<sup>-1</sup>, valores esses que ultrapassam o background regional (0,07 mg kg<sup>-1</sup>) em área de referência sem influência da atividade antrópica (Araújo, 2018). A caracterização química e física de P1 e P2 estão apresentados na Tabela 1.

**Tabela 1.** Valores médios de pH, Eh, MOS, areia, silte e argila para os pontos 1 e 2 em solos de manguezal situados em posições fisiográficas diferentes.

Ponto de coleta	Prof. (cm)	Vegetação	pH	Eh (mV)	MOS	Areia	Silte	Argila
<b>g kg<sup>-1</sup></b>								
P1	0-10	Avicennia/Laguncularia	7,21	-149	-	70,5	316,5	613
P2	0-10	Laguncularia	6,83	-104	228	153,4	210,7	635,79

O real valor de toxicidade não pode ser definido apenas pelo meio sólido o qual os isolados foram submetidos, devido a biodisponibilidade do Hg, podendo levar a subestimação do parâmetro de resistência (Kumar et al., 2011; Ball et al., 2007). Por isso os 11 isolados submetidos a análise biológica (tabela 2) que foram capazes de resistir a concentração de 100 mg L<sup>-1</sup> de Hg em meio sólido, foram submetidos ao teste de concentração inibitória (MIC) (Tabela 3), onde os isolados “a, b, c, d, e, g” obtiveram o MIC de 50 mg L<sup>-1</sup> e os demais “f, h, i, j, k” apresentaram MIC de 100 mg L<sup>-1</sup>. Isolados de “a à e” pertencem ao P1 e os de “f à k” ao P2, e apresentam as demais características morfológicas semelhantes. De acordo com o sequenciamento da região 16S rDNA com o uso do *primer 27f* 5’AGAGTTTGATCMTGGCTCAG 3’ indicou isolados dos gêneros *Bacillus*, *Enterococcus* e *Pseudomonas* (Figura 1) e os dados moleculares do sequenciamento da região 16s comparados na base de dados GenBank/NCBI se encontram na tabela 4. Dos três gêneros, os estudos mostram que a *Pseudomonas* possui maior resistência a diferentes formas e altas concentrações de Hg (Chadhain et al., 2006). Além disso há uma relação sobre a resistência a Hg e bactérias gram-negativas serem mais frequentes (Bento et al.,

2011). Em um estudo realizado com o isolamento de 55 bactérias, 4 eram gram-positivas e 13 do gênero *Enterobacter* entre as de gram-negativo (Nakamura et al., 2001).

**Tabela 2.** Caracterização morfológica de bactérias na concentração de 100 mg L<sup>-1</sup>.

Isol. <sup>1</sup>	Temp cresc. <sup>2</sup>	Tam col. <sup>3</sup>	Form col. <sup>4</sup>	Transp col. <sup>5</sup>	Cor da col. <sup>6</sup>	Prod. Muco <sup>7</sup>	Qtd de muco <sup>8</sup>	Transp. de muco <sup>9</sup>	Elev. da col. <sup>10</sup>	Gram
<b>1 (a)</b>	24	0,75	circular	opaca	branca	sim	médio	translúcido	leve	+
<b>2 (b)</b>	24	0,65	circular	transparente	creme	sim	médio	translúcido	leve	-
<b>3 (c)</b>	24	0,23	circular	opaca	branca	sim	médio	translúcido	leve	+
<b>4 (d)</b>	24	1,45	circular	opaca	branca	sim	médio	translúcido	leve	+
<b>5 (e)</b>	24	0,48	circular	opaca	branca	sim	médio	translúcido	leve	+
<b>6 (f)</b>	24	0,48	circular	opaca	creme	sim	médio	translúcido	leve	-
<b>7 (g)</b>	24	0,45	circular	opaca	creme	sim	Muito	translúcido	leve	-
<b>8 (h)</b>	24	0,65	circular	opaca	creme	sim	médio	translúcido	leve	-
<b>9 (i)</b>	24	0,45	circular	opaca	branca	sim	muito	transparente	leve	+
<b>10 (j)</b>	24	1,18	circular	opaca	creme	sim	muito	transparente	leve	-
<b>11 (k)</b>	24	0,5	circular	opaca	creme	sim	médio	transparente	leve	+

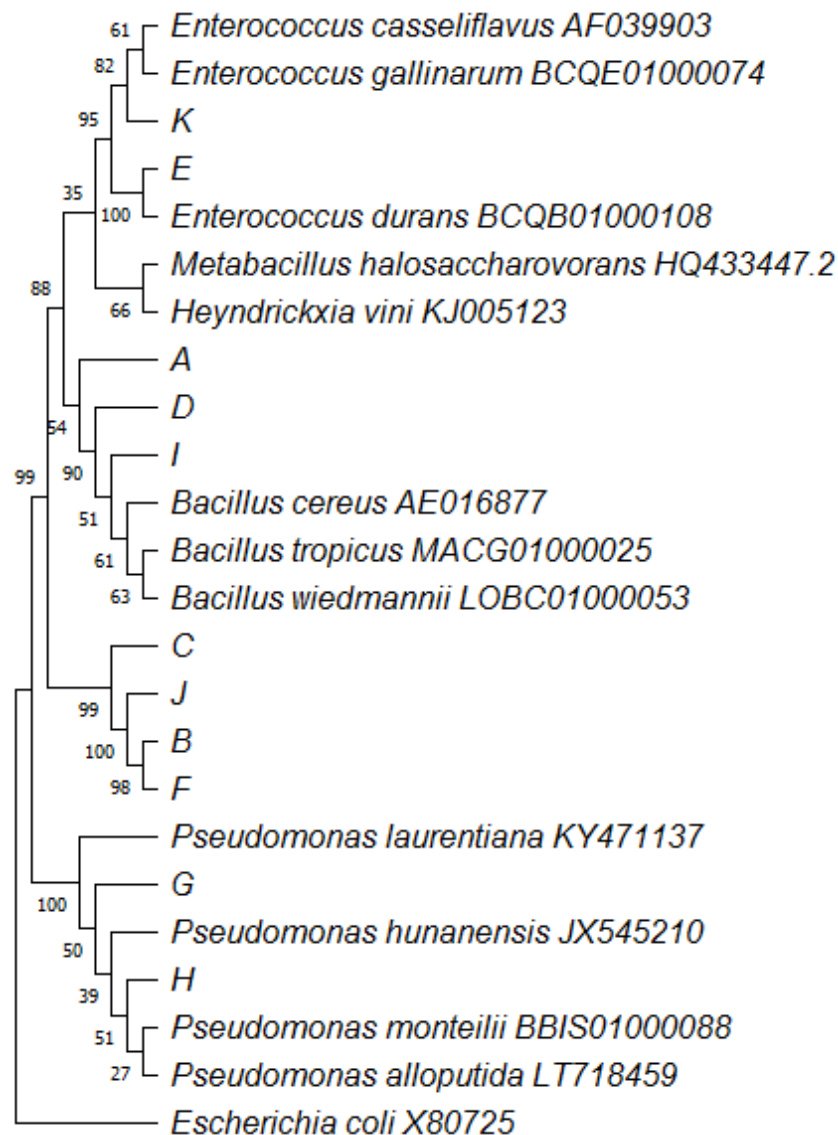
<sup>1</sup>Isol (isolado). <sup>2</sup>temp. cres (tempo de crescimento). <sup>3</sup>tam col. (tamanho da colônia). <sup>4</sup>forma col. (forma da colônia). <sup>5</sup>trans. col. (transparência da colônia). <sup>6</sup>cor da col. (cor da colônia). <sup>7</sup>prod. Muco (produção de muco). <sup>8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

**Tabela 3.** Teste de concentração inibitória mínima (CIM) para as concentrações de Hg dos isolados coletados no Estuário do rio Botafogo.

Isolado	Ponto de Coleta	CIM <sup>1</sup> (mg L <sup>-1</sup> )
<b>A</b>	P1	50
<b>B</b>	P1	50
<b>C</b>	P1	50
<b>D</b>	P1	50
<b>E</b>	P1	50
<b>F</b>	P2	100
<b>G</b>	P2	50
<b>H</b>	P2	100
<b>I</b>	P2	100
<b>J</b>	P2	100
<b>K</b>	P2	100

Estudos realizados por Sandhukhan et al. (1997) e Cabral et al. (2013) mostram que os valores elevados do MIC podem estar condicionados a capacidade do microorganismo de remover Hg do meio em que está inserido, logo, a alta resistência desses 11 isolados deve estar ligada a algum mecanismo de resistência, como genes de resistência pelo *operon mer*.

**Figura 1.** 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*.



**Tabela 4.** Dados obtidos na base de dados GenBank/NCBI, que foram utilizados para a construção da árvore filogenética.

ID	Filo	Classe	Espécie	QC <sup>1</sup>	E Value	PI <sup>2</sup> (%)	Local de Isolamento	Acesso
<b>A</b>								
	Firmicutes	Bacili	<i>Bacillus cereus</i>	16	1E-86	85.17	Solo do campus de uma indústria de pesticidas, Karnal	AE016877
	Firmicutes	Bacili	<i>Bacillus tropicus</i>	16	SE-85	84.86	Em sedimentos do Mar da China Meridional	MACG0100025
	Firmicutes	Bacili	<i>Bacillus wiedmannii</i>	16	5E-85	84.86	Em leite cru no estado de Nova York	LOBC01000053
<b>B</b>								
<b>C</b>								
<b>D</b>								
	Firmicutes	Bacili	<i>Bacillus cereus</i>	16	1E-86	85.17	Solo do campus de uma indústria de pesticidas, Karnal	AE016877
	Firmicutes	Bacili	<i>Bacillus</i>	16	SE-85	84.86	Em	MACG

	utes		<i>S. tropicus</i>				sedimentos do Mar da China Meridional	01000025
	Firmicutes	Bacilli	<i>Bacillus wiedmannii</i>	16	5E-85	84.86	Em leite cru no estado de Nova York	LOBC01000053
<b>E</b>								
	Firmicutes	Bacilli	<i>Enterococcus durans</i>	98	0.0	99.71	Leite em pó	BCQB01000108
	Firmicutes	Bacilli	<i>Metabacillus halosacccharovorans</i>	93	0.0	91.09	Lago hipersalino Aran-Bigdol	HQ433447.2
	Firmicutes	Bacilli	<i>Heyndrickxia vini</i>	92	0.0	91.05	Lama de poço de fermentação de álcool	KJ005123
<b>F</b>								
<b>G</b>								
	Proteobacteria	Gamaproteobacteria	<i>Pseudomonas laurentiana</i>	51	0.0	97.21	Estuário de São Lourenço Canadá	KY471137
	Proteobacteria	Gamaproteobacteria	<i>Pseudomonas humanesis</i>	55	0.0	95.78	Solo	JX545210
	Proteobacteria	Gamaproteobacteria	<i>Pseudomonas</i>	56	0.0	95.69	Aspirado	BBIS010000

a	bacteria	<i>Pseudomonas monteilii</i>				brônquico humano	088
Proteobacteria	Gammaproteobacteria	<i>Pseudomonas alloputida</i>	56	0.0	95.84	Raiz	LT718459
<b>H</b>							
Proteobacteria	Gammaproteobacteria	<i>Pseudomonas laurentiana</i>	51	0.0	97.21	Estuário de São Lourenço Canadá	KY471137
Proteobacteria	Gammaproteobacteria	<i>Pseudomonas humanesis</i>	55	0.0	95.78	Solo	JX545210
Proteobacteria	Gammaproteobacteria	<i>Pseudomonas monteilii</i>	56	0.0	95.69	Aspirado brônquico humano	BBIS01000088
<b>I</b>							
Firmicutes	Bacilli	<i>Bacillus cereus</i>	16	1E-86	85.17	Solo do campus de uma indústria de pesticidas, Karnal	AE016877
Firmicutes	Bacilli	<i>Bacillus tropicus</i>	16	5E-85	84.86	Em sedimentos do Mar da China Meridional	MACG01000025
Firmicutes	Bacilli	<i>Bacillus</i>	16	5E-85	84.86	Em leite	LOBC01000

			<i>wiedm annii</i>				cru no estado de Nova York	053
<b>J</b>								
<b>K</b>								
Firmic utes	Bacilli	<i>Entero coccu s casseli flavus</i>	97	0.0	91.52	Materi al vegeta l	AF039 903	
Firmic utes	Bacilli	<i>Entero coccu s gallina rum</i>	97	0.0	91.32	Intesti no de animal	BCQE 01000 074	
Firmic utes	Bacilli	<i>Entero coccu s durans</i>	97	0.0	88.88	Leite em pó	BCQB 01000 108	
Firmic utes	Bacilli	<i>Metab acillus halosa cchar ovorans</i>	91	0.0	84.13	Lago hipers alino Aran- Bidgol	HQ43 3447.2	
Firmic utes	Bacilli	<i>Heynd rickxia vini</i>	91	0.0	84.97	Lama de poço de ferme ntação de álcool	KJ005 123	

Nos solos do estuário do Rio Botafogo, contaminados por Hg, foi possível detectar a presença de bactérias resistentes a concentrações de 50 a 100 mg L<sup>-1</sup> de Hg, e que foram identificadas como pertencentes aos gêneros *Enterococcus*, *Bacillus* e *Pseudomonas*. A última etapa do projeto, que constará com a avaliação da capacidade de volatilização de mercúrio por esses organismos, será realizada posteriormente e os dados apresentados durante a apresentação oral e/ou evento que substituirá o JEPEX.

## REFERÊNCIAS

AGÊNCIA ESTADUAL DE MEIO AMBIENTE (CPRH). **Diagnóstico Socioambiental do Litoral Norte de Pernambuco**. Recife, 2003. 214p.

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.

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.

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.

BARROS, A. B.; AZEVEDO, J. A. M. A.; BASTOS, A. L.; NASCIMENTO, V. X. Caracterização e biodisponibilidade de metais no mangue da Foz do Rio Meirim, Macéio-AL. **Brazilian Journal of Development**. Curitiba, v. 7, n. 2, p. 20133-20147, 2021.

BISINOTI, M. C.; JARDIM, W. F. O comportamento do metilmercúrio (metilHg) no ambiente. **Química Nova**, Campinas, v. 27, n. 4, p. 593-600, 27 maio 2004.

BORREL, A.; TORNERO, V.; BHATTACHARJEE, D.; AGUILAR, A. Trace element accumulation and trophic relationships in aquatic organisms of the sundarbans mangrove ecosystem (Bangladesh). **Science of the total environmet**, v. 545-546, p. 414-423, 1 março 2016.

COSTA, A. L. S. **Características de bactérias naturalmente estabelecidas em**

**solos de manguezal contaminados por mercúrio**. 2022, f. 48. Dissertação (Mestrado) - Curso de Ciência do solo, Universidade Federal Rural de Pernambuco, Recife, 2022.

CHADHAIN, S. M. N.; SCHAEFER, J. K.; CRANE, S.; GERBEN, J.; ZYLSTRA, G. J. Z.; BARKAY, T. *Environ. Microbiology*, v. 8, p. 1746, 2006.

DASH, H. R.; DAS, S. Bioremediation of mercury and the importance of bacterial mer genes. *International biodeterioration & biodegradation*, v. 75, p. 207–213, 2012.

DING, X., WANG, R., LI, Y., GAN, Y., LIU, S., DAI, J.. Insights into the mercury (II) adsorption and binding mechanism onto several typical soils in China. *Environ. Sci. Pollut. Res.* 24, 23607, 2017.

GAO, Z.; ZHENG, W.; LI, Y.; LIU, Y.; WU, M.; LI, S.; LI, P.; LIU, G.; FU, X.; WANG, S.; WANG, F.; CAI, Y.; FENG, X.; GU, B.; ZHONG, H.; YIN, Y. Mercury transformation processes in nature: critical knowledge gaps and perspectives for Moving forward. *Journal of environmental sciences*, v. 119, p. 152-165, 2022.

GIOVANELLA, P.; BENTO, F.; CABRAL, L.; GIANELLO, C.; CAMARGO, F. A. O. Isolamento e seleção de micro-organismos resistentes e capazes de volatilizar mercúrio. *Química nova*, v. 34, n. 2, p. 232-236, 30 novembro 2010.

GIOVANELLA, P.; CABRAL, L.; COSTA, A. P.; CAMARGO, F. A. O.; GIANELLO, C.; BENTO, F. M. Metal resistance mechanisms in gram-negative bacteria and their potential to remove Hg in the presence of Other metals. *Ecotoxicology and environmental safety*, v. 140, p. 162-169, 2017.

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.

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, 25 agosto 2019.

LUZ, G. C. B.; TEIXEIRA, S. F. Importância do manguezal e das barreiras físicas na contenção de resíduos sólidos nas margens de um estuário urbano. **Ciência geográfica**, vol. 23, p. 790-803, 2019.

MEYER, U. On the fate of mercury in the northeastern Brazilian mangrove system, Canal de Santa Cruz, Pernambuco. Tese (Doutorado em Ecologia Marinha Tropical) – **Bremen University**, Alemanha, 1996.

MIRANDA, M. R.; SOUZA, S. A. C.; GUIMARÃES, J. R. D.; S., R. R.; OLIVEIRA, C. D. Mercúrio em Sistemas Aquáticos: Fatores ambientais que afetam a metilação. **Oecol Bras**, Rio de Janeiro, v. 1, n. 1, p. 241-251, 2007.

MØLLER, A. K.; BARKAY, T.; HANSEN, M. A.; NORMAN, A.; HANSEN, L. H.; SØRENSEN, S. J.; BOYD, E. S.; KROER, N. Mercuric reductase genes (*merIA*) and mercury resistance plasmids in High Arctic snow, freshwater and sea-ice brine. **Microbiology ecology**, v. 87, p. 52-63, 2014.

NAKAMURA, K.; IWAHARA, M.; FURUKAWA, K. Clean prod. processes. v. 3, p. 104, 2001.

OLIVEIRA, M. L. J. **Comportamento Geoquímico do mercúrio (Hg) em solos de manguezais do Estado de São Paulo**. 2005. f. 72. Dissertação (Mestrado) - Curso de Agronomia, Solos e Nutrição de Plantas, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2005.

SANTOS, H. V. S.; SANTOS, T. O.; HOLANDA, F. S. R. Indicadores para diagnóstico das alterações antrópicas no manguezal do estuário do rio São Francisco. **Tropical Oceanography**, v. 39, n 2, p. 166-178, 2011. Disponível em: <

<https://periodicos.ufpe.br/revistas/TROPICALOCEANOGRAPHY/article/view/5186/4446> . Acesso em: 27 de mar. de 2023.

SEGADE, S. R.; DIAS, T.; RAMALHOSA, E. Mercury methylation versus demethylation: main processes involved. p. 33, 2010.

WU, H.; DING, Z.; LIU, Y.; LIU, J.; YAN, H.; PAN, J.; LI, L.; LIN, H.; LIN, G.; LU, H. Methylmercury and sulfate-reducing bacteria in mangrove sediments from Jiulong River estuary, China. **Journal of environmental sciences**, v. 23, n. 1, p. 14-21, 2011.

ZHAO, L.; MENG, B.; FENG, X.; Mercury methylation in rice paddy and accumulation in rice plant: A review. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 195, p. 110462, 2020.