

Revista UNILUS Ensino e Pesquisa v. 18, n. 51, abr./jun. 2021 ISSN 2318-2083 (eletrônico)

THATIANE DUARTE ROSA

Centro Universitário Lusíada, UNILUS, Santos, SP, Brasil.

GABRIEL RODRIGUES SILVA

Centro Universitário Lusíada, UNILUS, Santos, SP, Brasil.

CLEIDE BARBIERI DE SOUZA

Centro Universitário Lusíada, UNILUS, Santos, SP, Brasil.

> Recebido em maio de 2021. Aprovado em agosto de 2021.

BIORREMEDIAÇÃO: MECANISMOS DE RESISTÊNCIA BACTERIANA FRENTE AO ÍON METÁLICO MERCÚRIO

RESUMO

A água consiste em um recurso natural finito essencial à vida de todos os seres vivos. A sua contaminação é uma preocupação constante, principalmente relacionada aos metais pesados, caso do mercúrio de origem antrópica, advindo de setores como mineração, indústrias químicas e metalúrgicas, podendo ser subproduto de determinados procedimentos. Considerando sua toxicidade, o mercúrio lançado nas águas gera malefícios tanto aos organismos aquáticos quanto aqueles que se utilizam do meio hídrico, mesmo que indiretamente. Conforme os microrganismos evoluíram, foram se adaptando para sua sobrevivência na presença destes íons, explicando assim seu potencial para utilização no processo da biorremediação. Foi desenvolvida uma revisão da literatura cujo objetivo é baseado nos mecanismos de resistência bacteriana frente ao mercúrio, citando breve correlação entre estes e a resistência a antibióticos, os resultados indicam que a biorremediação é aplicável ao meio ambiente, comparada a outras metodologias com relação a custo-benefício e manutenção do ambiente.

Palavras-Chave: bactérias; biotecnologia ambiental; biorremediação; mercúrio.

BIOREMEDIATION: MECHANISMS OF BACTERIAL RESISTANCE AGAINST THE METAL ION MERCURY

ABSTRACT

Water is a finite natural resource essential to the life of all living beings. Its contamination is a constant concern, mainly related to heavy metals, such as mercury of anthropic origin, arising from sectors such as mining, chemical and metallurgical industries, which can be a by-product of certain procedures. Considering its toxicity, the mercury released into the waters causes harm to both aquatic organisms and those that indirectly use the water environment. As the microorganisms evolved, they adapted to their survival in the presence of these ions, thus explaining their potential for use in the bioremediation process. A literature review was developed whose objective is based on the mechanisms of bacterial resistance against mercury, citing a brief correlation between these and resistance to antibiotics, the results indicate that bioremediation is applicable to the environment, compared to other methodologies considering cost. -benefit and maintenance of the environment.

Keywords: bacteria; environmental biotechnology; bioremediation; mercury.

Revista UNILUS Ensino e Pesquisa

Rua Dr. Armando de Salles Oliveira, 150 Boqueirão - Santos - São Paulo 11050-071

http://revista.lusiada.br/index.php/rueprevista.unilus@lusiada.br

Fone: +55 (13) 3202-4100



Alterações ambientais como a deterioração da qualidade da água e poluição do solo são ameaças atuais alarmantes à saúde humana, animal e do ecossistema e estão intimamente ligados à presença de altas concentrações de xenobióticos no meio ambiente, estes são compostos químicos ou substâncias estranhas ao organismo, como os metais pesados, e para casos semelhantes se faz necessário empregar tecnologias apropriadas para remediar água e solo contaminados. Por conta da problemática de escassez e de agravantes ambientais diversos, a necessidade do uso racional da água e do desenvolvimento de técnicas de tratamento de águas contaminadas é constante para que estas possam ser recuperadas e utilizadas pela sociedade (HUSSAIN et al., 2018).

A contaminação da terra e da água causada pelo mercúrio representa uma séria ameaça para a biota em todo o mundo. Diferentes abordagens de remediação foram implementadas para reabilitar locais contaminados com o elemento químico mercúrio (Hg) que dentre os contaminantes ambientais é um dos mais nocivos aos organismos. Sendo assim, a biorremediação é considerada uma tecnologia mais barata e mais ecológica do que os meios físico-químicos convencionais, uma vez que traz benefícios como a degradação de componentes tóxicos, gerando produtos de menor toxicidade (MAHBUB et al., 2017).

Com intenção de tentar diminuir este problema de contaminação ambiental por metais pesados, através da perquisição dos mecanismos de resistência de bactérias com potencial biorremediador, o objetivo deste trabalho é estudar esses mecanismos para agregar conhecimento à área da biotecnologia. A pesquisa foi realizada a partir da consulta de bancos de dados como Science Direct, PubMed (Ncbi) e SciELO e o indexador Bireme com os descritores: Mercúrio; Biodegradação ambiental e Resistência microbiana à metais e fármacos, podendo garantir a excelência das informações adquiridas e assegurar veracidade e argumentos de comprovação científica no trabalho.

BIOTECNOLOGIA NO MEIO AMBIENTE

A biotecnologia ambiental consiste em um setor que visa utilizar microrganismos e diversos mecanismos para diminuição de resíduos liberados no meio ambiente. Como declarado por Schenberg (2010), a biotecnologia pode desempenhar um papel importante na sustentabilidade. A bioeconomia atual tem se direcionado à sustentabilidade apoiando mudanças no modelo industrial atual, o que abre portas para este setor (SCHÜTTE, 2018).

BIORREMEDIAÇÃO

Na biorremediação, Andreazza et al., (2013) informam que uma combinação de processos biotecnológicos e de engenharia ambiental são utilizados, onde organismos vivos, normalmente plantas, microrganismos, fungos ou algas são utilizados para reduzir ou remover poluentes do ambiente, sendo as bactérias geralmente preferidas para uso, as técnicas utilizadas são simples, o processo é natural e uma grande vantagem é o baixo custo (CATARINO, 2016).

Esta é uma tecnologia com potencial avançado de limpeza e conforme Gaylarde, Bellinaso e Manfio (2005) o tratamento de águas superficiais, subterrâneas, efluentes industriais e solos é viável. O biofilme formado por vários microrganismos tem capacidade de gerar um microambiente apropriado para eficiência do processo (MANGWANI; KUMARI; DAS. 2016).

Abu-Dieyeh, Alduroobi e Al-Ghouti (2019) citam que processos utilizados para extração como a lixiviação química, estabilização e solidificação possuem muitas desvantagens que vão além do preço de aplicação, como é o caso da alteração físico-química local, abrindo espaço para tecnologias menos agressivas e ecológicas. Consequentemente, adjunto a existência de organismos resistentes com potencial de

biorremediação, se faz necessário estudo das características ambientais, exigências nutricionais e de acessibilidade do poluente ao organismo para implantação prática (CARNEIRO; GARIGLIO, 2010).

MICRORGANISMOS COMO BIORREMEDIADORES

As vantagens de usar agentes microbianos para biorremediação, como relatado por Afzal et al. (2017), incluem produção barata, fácil disponibilidade para tratar grandes volumes de águas residuais devido a cinética rápida e alta seletividade em termos de remoção e recuperação de metais específicos. Na biorremediação, a limpeza pode ocorrer in situ, ou seja, no próprio local, o que elimina o transporte de resíduos perigosos e custos de responsabilidade; conta com os processos de biodegradação endógenos que podem ser mais rápidos e mais baratos (no mínimo dez vezes mais acessível). Usar organismos naturalmente resistentes, embora seja vantajoso, necessita isolá-los, o que é um processo trabalhoso que exige cuidados. A baixa exigência nutricional do microrganismo usado também barateia o processo; gera mínimo distúrbio ambiental e do solo e pode ser usado em conjunto com outras tecnologias de tratamento (CORIOLANO; MORAIS FILHO, 2016).

O mercúrio é tóxico, tanto para células eucarióticas quanto para procarióticas, porém, alguns microrganismos possuem mecanismos, como a capacidade de reduzir enzimaticamente o Hg para a forma HgO, que é volátil e menos tóxica (GRAZZIOTIN, 2015).

Quando expostas a uma alta concentração de substâncias exógenas, como o Hg, certas bactérias utilizam sistemas de resistência específicos para promover a sua sobrevivência (WANG et al., 2016). Entre os mecanismos de resistência observados em microrganismos do reino monera, a redução enzimática tem se demonstrado muito eficaz e os melhores resultados para remoção de Hg foram obtidos utilizando os isolados Serratia marcescens, Klebsiella pneumoniae, Klebsiella oxytoca e Arthrobacter sp (GRAZZIOTIN, 2015).

Utilizar bactérias que podem realizar a biotransformação do Hg pode ser considerada uma alternativa possível para diminuir as emissões de Hg para o ambiente (FALCO, 2013).

Oljira, Muleta e Jida (2018) garantiram com isolados de Aeromonas sp., Pseudomonas sp. e Bacillus sp a boa aplicabilidade que estas bactérias podem ter em descontaminação de efluentes de cervejarias, tratando estas águas residuais, um processo ecológico e economicamente viável. A técnica de biorremediação vem sendo notada como ótima alternativa para solucionar impactos ambientais aquáticos (ARAÚJO et al, 2014).

Resultados do estudo de Ma et al. (2016) indicam que duas estirpes de rizobactérias serpentinas resistentes à seca, nomeadas Pseudomonas libanensis TR1 e Pseudomonas reactans Ph3R3 podem ser utilizadas como bioinoculantes para a melhoria da fitorremediação de solos poluídos por metais sob condições semi-áridas, afirmando assim que é uma técnica de aplicabilidade em ecossistemas diferentes.

MERCÚRIO DE ATIVIDADES ANTRÓPICAS

O Hg e seus derivados possuem vários usos, como em lâmpadas fluorescentes, amálgamas para fins odontológicos, lâmpadas, pilhas e baterias e sendo assim, as atividades industriais constituem a maior parte da contaminação ambiental por Hg (DAMAS; BERTOLDO; COSTA, 2014). Na galvanoplastia, os isolados bacterianos em efluentes indicaram bons resultados para processamento de metais (MUSTAPHA; HALIMOON, 2015).

A mineração de ouro artesanal e de pequena escala dependente de Hg é uma significativa fonte de poluição por Hg na Terra, sendo que nesta prática, o Hg elementar é usado para extrair o ouro do minério como uma amálgama, a qual é isolada à mão e depois aquecida para destilar o Hg e isolar o ouro, sendo que a liberação de Hg de



rejeitos e Hg vaporizado nesta técnica excede 1000 toneladas por ano (ESDAILE; CHALKER, 2018; OLIVEIRA et al., 2016).

O Hg atmosférico é transportado globalmente, mas depositado localmente, e representa uma ameaça para os organismos no topo da cadeia alimentar, devido à bioacumulação de metilmercúrio (CH3Hg+), formado quando em atividades microbianas, o Hg recebe o grupamento CH3, sendo este composto altamente tóxico. Entretanto, a contaminação grave por Hg em ambientes naturais pode ser atribuída a atividades humanas inadequadas (OREGAARD; SØRENSEN, 2007).

EXPOSIÇÃO E EFEITOS DO MERCÚRIO

Ao contaminarem a água, os metais contaminam os seres que a habitam gerando efeitos de acumulação em toda a cadeia alimentar do local, causando a morte dos mesmos, o que resulta em um desequilíbrio ecológico. Para ilustrar este dado, temos como exemplo o estudo de Harding, Dalziel e Vass (2018), em que Hg e CH3Hg+ foram medidos em água do mar e biota coletados da Baía de Fundy, no Golfo do Maine, para documentar melhor a bioacumulação de mercúrio em uma cadeia alimentar marinha, onde relataram este acúmulo de metais desde em fitoplânctons até em um nível mais acima da cadeia alimentar, pela transferência trófica, via alimentação, de CH3Hg+, em atum, golfinhos e tubarões da região. Já Lozano-bilbao et al. (2018), confirmaram a presença de metais pesados em sete espécies de tubarões capturados nos arquipélagos da Macaronésia, sugerindo que este é um fator de grande importância no declínio de sua população.

De acordo com Fernandes (2012), o incidente mais notório de intoxicação por Hg por seu uso na indústria foi o que ocorreu na Baia de Minamata, no Japão, entre os anos de 1953 e 1968, desencadeada pela excreção dos esgotos de fábricas com compostos de Hg para a baía, em que foram afetadas milhares de habitantes da região, dos quais mais de sete centenas foram à óbito por intoxicação por Hg devido ao consumo de peixe contaminado. Após isso, foram adotados meios para proteção à saúde humana e do meio ambiente tais como a Convenção de Minimata, que vigorou em 2017, Selin et al., (2018) citam abordagens sobre produção, uso, emissões, manuseio e descarte de Hg nesta convenção, onde propuseram também a redução de amálgamas (AUSTIN et al., 2016).

Além da exposição ambiental aos metais pesados através da água, alimentos vegetais ou animais e do ar contaminado, o homem pode ainda estar exposto em seu ambiente ocupacional nas indústrias de baterias, galvanoplastia, refino de minérios, produção de fertilizantes e praguicidas, produção de munições, tintas, corantes, assim como medicamentos, produtos cosméticos de maneira geral, aumentando a disponibilidade de metais tóxicos no organismo em quantidades com absorção e retenção variada de acordo com características químicas e físicas da substância, da composição dos alimentos que estão contaminados, e de fatores nutricionais e genéticos de cada organismo exposto (SANTOS. 2009).

O Hg afeta a saúde do homem, já que uma vez ingerido pode trazer diversas consequências negativas, afetando os sistemas nervoso, renal, cardiovascular, imunológico, reprodutor e motor (ALVES, 2016).

Pesquisas apontam correlação entre Hg e autismo, considerando o metal um fator de risco para este transtorno, por meio da ativação auto-imune e inflamação neuronal, prejudicando sua conectividade (KERN, et al.,2016)

Os íons de metais pesados são conhecidos por produzir alterações prejudiciais na saúde, GIOVANELLA et al., (2011) afirma que a propriedade que explica grande parte dos danos do Hg é a alta afinidade do metal pelo grupo sulfidrila de proteínas, o que causa desestruturação de proteínas e inativação enzimática. Especificamente, a acumulação de Hg em sua forma Hg2+ no tecido renal pode induzir insuficiência renal (BUELNA-CHONTAL et al., 2017).

A natureza não biodegradável dos metais pesados garante sua presença prolongada no meio ambiente, sendo que sua alta solubilidade aquática desencadeia bioacumulação que, eventualmente, conduz a riscos de saúde irreversíveis, incluindo potencialmente carcinogênicos, mesmo em uma faixa de concentração mínima de cerca de 1 mg/L que resultam em impactos ambientais, os quais refletem diretamente na saúde humana (GUPTA: DIWAN, 2017).

O CH3Hg+ é um poluente que exibe neurotoxicidade quando ingerido, principalmente sob a forma de lesões neuropatológicas que se localizam ao longo de sulcos e fissuras profundas, além de alterações edematosas e inflamatórias cerebrais (YOSHIDA et al., 2017).

MECANISMOS DE RESISTÊNCIA BACTERIANO

A resistência bacteriana é um fenômeno reconhecido, conforme Araújo et al., (2016) a resistência à antibióticos representa um problema de saúde pública a ser tratado com cautela, necessitando estudos de como este mecanismo pode refletir na humanidade. Atualmente, várias centenas de milhares de mortes por ano podem ser atribuídas a infecções com bactérias resistentes aos antibióticos, entretanto, a resistência não é restrita somente a estes compostos (PAL et al., 2017).

Os compostos não-antibióticos, como biocidas antibacterianos e metais, também podem contribuir para a promoção da resistência aos antibióticos. Isto pode ocorrer quando os genes de resistência tanto aos antibióticos como aos metais ou biocidas são localizados juntos na mesma célula, ou um único mecanismo de resistência (por exemplo, uma bomba de efluxo) confere resistência a antibióticos e biocidas / metais (resistência cruzada) (PAL et al., 2017). A proteína MerA de operador de Hg em bactérias resistentes ao Hg influencia a transformação de Hg2+ para Hg0 e a eficiência de remoção de Hg das bactérias é específica do gênero, que está relacionada com a eficiência de ligação entre o complexo MerA-NADPH e Hg 2+ em bactérias resistentes ao Hg mediadas por operon mer (DASH et al., 2017).

De acordo com o artigo de NAGUIB et al (2019), foram pesquisados 10 isolados bacterianos vindos de água de rejeito no Egito, a maior parte deles mostrou resistência ao mercúrio. Além da resistência não se restringir somente à esse metal, seis desses microrganismos possuiam uma co-resistência aos antibióticos, assim como muitas pesquisas também indicam que não só antibióticos, mas outros xenobióticos também são comumente encontrados em fenótipos de resistência à metais, relacionando sistemas de defesa entre diferentes compostos.

GENÉTICA E MÉTODOS DE RESISTÊNCIA AO METAL MERCÚRIO

Com o tempo, as bactérias passaram a exibir intenso potencial de sobrevivência em ambientes não favoráveis, como os meios altamente contaminados com Hg, bactérias começaram a apresentar um conjunto de genes de resistência ao Hg denominado operon mer (mer A, merB, merP, merT, entre outros) e quando as proteínas codificadas por esses genes estão presentes nas bactérias, elas tendem a atuar no metabolismo de Hg, reduzindo o Hg2+, forma mais tóxica, para a forma Hg0 e esses genes são regulados pela proteína merR, que na presença de Hg permite a expressão gênica do operon (PINTO, 2016).

O mecanismo de resistência das bactérias capazes de converter CH3Hg+ tóxico em Hg elementar não tóxico, é devido à presença do operon mer (FALCO, 2013). Além de um sistema de captação de Hg e ação da enzima mercúrio redutase, a maioria dos locus de resistência ao Hg encontrados no genoma bacteriano também possuem meios para controlar a expressão de proteínas sendo esta função realizada pelo MerR que é um ativador-repressor específico do metal do que codifica os genes estruturais MerT, MerP e MerA e esses componentes são as funções centrais da resistência ao Hg encontradas em bactérias gram-negativas e também gram-positivas (BARKAY; MILLER; SUMMERS, 2003).



Como exemplo, em bactérias Gram-negativas, os genes estruturais merTP (C) AD codificam transportadores de Hg merT, merP e merC, a enzima mercúrio redutase merA e um provável repressor merD, que conferem resistência ao Hg (WANG et al., 2016). A resistência ao Hg é frequentemente observada entre microrganismos gram-negativos (GIOVANELLA et al., 2011).

No estudo de Giovanella et al (2017) um isolado de Pseudomonas sp apresentou redução enzimática, biossorção, produção de biofilmes e produção de sideróforos como mecanismos de resistência a metais.

A capacidade da bactéria gram-negativa típica de água doce Cupriavidus metallidurans de prosperar em ambientes tóxicos com um elevado número de genes resistentes faz dela um excelente organismo modelo para estudar os meios aos quais microrganismos lidam com metais pesados, sendo o plasmídeo pMOL28 o responsável por conter os genes envolvidos na resistência a Hg e outros metais em uma região de 34 Kb e o plasmídeo pMOL30 em uma região de 132 Kb (LAL et al., 2013). As análises experimentais de Hall et al. (2017) mostram que os plasmídeos conjugativos são os principais agentes desta transferência nas comunidades naturais, mas ainda não se tem conhecimento de como a ecologia das comunidades bacterianas afetam a transferência de genes através de plasmídeos.

Através de um estudo de exposição à efluentes de lâmpadas fluorescentes, ABU-DIEYEH et al (2019) demonstram o isolamento de estirpes de bactérias com boa resistência ao mercúrio, além da exposição de uma idéia de "recaptura e reciclagem" por meio de uma associação de outros métodos ex-situ.

Apesar da resistência bacteriana própria, alguns estudos comprovam que também existem interações entre organismos com plantas, por exemplo, onde há a formação de um complexo de rizobactérias, na região da raiz vegetal, facilitando assim a sobrevivência dos dois organismos que tem capacidade para se estabilizar em meios de adversidade como o de saturação de metais. Juntamente à presença do Gene Operon Mer, estas associações de espécies podem ser de interesse para estudos futuros em biorremediação (MARIANO, et al. 2020)

BOMBAS DE EFLUXO

Acinetobacter spp., um cocobacilo Gram-negativo considerado patógeno oportunista, é um dos microrganismos que possui diversos mecanismos de resistência a antimicrobianos, podendo entre estes citar a presença de bombas de efluxo, que expulsam compostos do meio intracelular para o extracelular utilizando a energia próton motiva (MARCHETTI, 2010).

O estudo de Costa et al. (2017) demonstrou que Staphylococcus epidermidis tem potencial para desenvolver um fenótipo de resistência múltipla mediado pelo efluxo quando exposto a substratos não antibióticos. Em Teixeira et al. (2016), a partir de um isolado de Pseudomonas aeruginosa E67 de um estuário que estava contaminado com metais, ligações físicas entre os genes de resistência não foram identificadas no estudo, sugerindo predominância da resistência por bomba de efluxo.

Zhu e Dai (2018) verificaram que em meios com alta concentração de sal que é uma importante condição de estresse, reduz a suscetibilidade de Escherichia coli a tetraciclina e cloranfenicol, levando a um efeito de proteção cruzada, que se dá no aumento da expressão da bomba de efluxo denominada AcrAB-TolC., permitindo estabelecer uma breve correlação entre a resistência por metais e antibióticos pela bomba de efluxo que garante parte da deste mecanismo bacteriano.

REDUÇÃO ENZIMÁTICA

A redução enzimática de Hg é o mecanismo de resistência mais bem estudado, e ocorre em bactérias gram-negativas e gram-positivas, este mecanismo de resistência

envolve o operon mer que codifica uma série de proteínas, especialmente a enzima mercúrio redutase, responsável pela redução catalítica do Hg (BEZERRA, 2012).

VOLATILIZAÇÃO

Muitos resíduos sólidos possuem o Hg presente e alguns deles podem ser descartados em aterros convencionais, sendo assim, estudos documentaram as emissões de Hg como gás nestes aterros a partir do processo de volatilização, naturalmente ou por microrganismos, principalmente como Hg elementar gasoso (HgO) e quantidades menores como espécies metiladas de Hg (LEE; LOWRY; HSU-KIM, 2016).

Uma estirpe bacteriana de Sphingopyxis sp resistente ao Hg foi isolada de solo contaminado e a detecção qualitativa de Hg volatilizado e a presença de enzima mercúrio redutase demonstraram que a cepa SE2 pode potencialmente reter para si o Hg (MAHBUB et al., 2017).

Entre os oito microrganismos selecionados resistentes a Hg verificados no trabalho de Giovanella et al. (2011), o gênero Pseudomonas é o mais frequente, seguido do gênero Enterobacter e todos os isolados apresentaram alta resistência aos compostos de Hg e capacidade de volatilizar Hg2+ e com isso verificou-se que a capacidade dos microrganismos volatilizarem o Hg não está relacionada a altas concentrações inibitórias mínimas, mas é afetada por concentrações subletais de Hg2+.

BIOFILMES

Para Velmourougane, Prasanna e Saxena (2017), os biofilmes microbianos são surpreendentes, devido aos seus papéis significativos no meio ambiente, indústria e saúde. Um isolado da bactéria marinha resistente ao Hg formadora de biofilme Bacillus cereus foi explorado por Dash, Basu e Das (2016) para evidenciar que o biofilme bacteriano retém o Hg inorgânico e este foi capaz de tolerar 50 ppm de Hg e liberar o Hg ligado ao biofilme para induzir a volatilização deste mediada por operon mer (YIK et al., 2018).

Zheng et al. (2018) descobriram que o MerF, um transportador de Hg2+ previamente relatado, determina o desenvolvimento flagelar, a motilidade e a formação de biofilme por análises genéticas e fisiológicas na bactéria marinha Pseudomonas stutzeri 273, que é resistente a 50 μ M de Hg2+ e remove até 94 % de Hg2+.

Yik et al. (2018) analisaram o genoma de Bacillus thuringiensis Bt MCMY1, uma bactéria gram-positiva em forma de bastonete e esta análise revelou genes associados à resistência a metais diversos, dentre eles o Hg.

BIOSSORÇÃO

Com a utilização de biomassa seca de Chlorella vulgaris, uma microalga de água doce que pode ser facilmente cultivada em qualquer lugar, a experiência de Solisio, Arni e Converti (2017) gerou resultados que sugerem seu possível uso como um biossorvente efetivo e de baixo custo para tratar efluentes industriais contaminados por Hg inorgânico.

Estudos de remoção de Hg e biossorção foram realizados em meio líquido contendo 1,0 ppm de Hg por Balan et al. (2018) e mais de 90 % de Hg foi removido do meio de cultura pelas cepas de bactérias tolerantes ao Hg selecionadas, Pseudarthrobacter oxydans estirpe MM20 e Pseudomonas frederiksbergensis estirpe SS18.

A biossorção de Hg de solução aquosa por Bacillus licheniformis foi estudada em relação à concentração do metal, concentração de adsorvente, pH, diferentes tempos de contato e presença de outros íons metálicos e sob condições ótimas, mais de 70% de Hg foi removido por 25mg de biomassa seca de Bacillus licheniformisem em pH 7,0 após uma hora de tempo de contato (UPADHYAY et al., 2017).



Muitas vezes os contaminantes, no caso metais, ou o conteúdo do local contaminado podem ser tóxicos para o organismo envolvido no processo de biorremediação em determinadas concentrações, impondo um limite que não é interessante para o processo. Para aproveitar a vantagem genética de resistência sem que se tenha dificuldade em manter uma elevada taxa de remoção de metais do meio, verificamos em literatura o uso de organismos geneticamente modificados (OGMs) que podem ser resistentes às condições do local contaminado, permitindo assim sua aplicação biorremediativa (CATARINO, 2016).

ORGANISMOS GENETICAMENTE MODIFICADOS (OGMs) E A BIORREMEDIAÇÃO

Como a resistência microbiana pode se dar por meio de plasmídeos codificados, por meio de mutação ou ampliação de genes endógenos associada a elementos de DNA como plasmídeos, transposons ou cromossomos bacterianos, no estudo de Farias (2016), foi realizada a seleção de Enterococcus sp. (72 isolados de água, sedimento e solo) resistente a Cobre a e Hg para gerar informações que pudessem contribuir no uso de bactérias para a descontaminar determinadas áreas que possuem metais pesados, a presença de genes que conferem resistência a cobre (gene tcrB) e Hg (gene merA) foi verificada pela técnica PCR e os resultados revelaram o gene merA não foi detectado neste caso, mas 100% dos isolados foram resistentes a todas as concentrações de cobre analisadas, sendo o gene tcrB presente em 44% dos isolados.

Em Sotero-martins et al. (2008) utilizaram um fragmento de 431 pb de uma região conservadora do gene da mercúrio redutase (merA) sendo aplicado como um marcador molecular deste mecanismo com o objetivo de determinar uma região conservadora do gene merA que poderia ser usado como um marcador molecular do operon mer, permitindo a identificação de cepas bacterianas resistentes ao Hg e obtiveram eficácia.

O gene merA pode ser melhor exemplificado por FROSSARD et al (2018), na qual o aumento deste gene sugere uma resposta rápida de aumento de cópias, em apenas 30 dias no solo, as bactérias conseguiram apresentar a resistência ao meio seletivo, dando destaque a presença do Hg como efetivo deste resultado. Este gene central merA, que codifica para uma flavoproteína, é uma enzima redutase do mercúrio, convertendo Hg2+ em Hg0, sendo sua forma volátil.

Navarro (2013) visou a construção de uma linhagem recombinante de levedura que apresentasse a proteína merR ancorada à sua superfície celular externa, realizando a fusão gênica do gene codificador de merR de C. metallidurans, que apresenta elevada afinidade e seletividade para íons de Hg. com a seguência codificadora da região Cterminal da proteína chamada Flo1p, utilizado como âncora e a fusão gênica foi inserida entre as sequência codificadoras do promotor e terminador de transcrição do gene da fosfoglicerato quinase do vetor de expressão de levedura pMA91, obtendo o plasmídeo recombinante pMA91MF, este plasmídeo obtido foi empregado na transformação genética da linhagem de S. cerevisiae YPH252 e esta linhagem recombinante YPH252/pMA91MF apresentou a proteína MerR ancorada na superfície de sua célula, mostrou ter capacidade aumentada de ligar Hg2+ em relação à linhagem de levedura controle denominada YPH252/pMA91, confirmaram a funcionalidade do sistema de ancoragem da proteína MerR à superfície celular de levedura aumentando a biossorção de Hg, sendo a importância de localizar genes de resistência a partir de técnicas moleculares muito notável, ao passo que tais genes podem ser removidos do micróbio resistente, manipulados e utilizados para propagar resistência ao Hg em bactérias a partir da engenharia genética para que sejam utilizadas em biorremediação.

Apesar de suas boas aplicações, utilizar mecanismos naturalmente resistentes é uma proposta mais interessante, visto que a manipulação de genes pode alterar a genética do local, referente a possibilidade de que o material genético poder ser transmitido a uma variedade sem modificações genéticas, de acordo com Avelar (2017), OGMs, se liberados no meio ambiente, podem vir a crescer e multiplicar, sofrer

modificações e interagir com toda a biodiversidade podendo gerar certa ameaça à diversidade biológica por suas propriedades intrínsecas ou de sua potencial transferência a outras espécies.

DISCUSSÃO

A busca na literatura permitiu uma atualização sobre alguns mecanismos existentes de resistência à metais e as características de desenvolvimento das bactérias após exposição ao meio contaminado. O mercúrio é classificado como um dos mais proeminentes na contaminação ambiental e letal, porém, certas cepas conseguem sobreviver através de características intrínsecas ou adquiridas, como é o caso dos mecanismos ou genes que favorecem sua sobrevivência e permitem a propagação da espécie. A partir destes conhecimentos descritos, já foram realizados testes com cepas potencialmente resistentes em sítios contaminados, utilizando o processo da biorremediação de íons metálicos. Resultados significativos encontrados em pesquisas de acordo com Dhanwal et al. (2018), explorando o potencial de biossorção, Afzal et al. (2017) atribui que as bactérias podem alcançar diferentes mecanismos, como: bombas de efluxo, produção de biofilmes, redução enzimática, volatilização. Outras linhas de pesquisa como Barkay; Miller: Summers (2003); Sotero-martins et al. (2008); Falco (2013); Pinto (2016), Dash et al., (2017) e Yik et al., (2018), apontam a importância da presença do operon mer na adaptação genética bacteriana, que codifica os genes de resistência, expondo parte do objetivo a ser atingido neste trabalho.

Para comprovar a eficácia destas bactérias e se realmente possuem tal potencial, Dash, Basu e Das (2016) testaram Bacillus cereus que foi capaz de tolerar 50 ppm de mercúrio; Upadhyay et al. (2017) ao utilizar biomassa seca de Bacillus licheniformis observou que mais de 70% de Hg foi removido a cada 25 mg desta biomassa; enquanto que em um trabalho mais atual desenvolvido por Balan et al. (2018), cepas de bactérias tolerantes ao metal foram colocadas em meio de cultura, e foi verificado que mais de 90% de mercúrio foi removido do meio, conferindo assim veracidade nos fatos expostos em literatura.

Afzal et al. (2017), aponta que entre as vantagens de usar bactérias isoladas e caracterizadas para biorremediação, além do baixo custo e disponibilidade relativamente fácil, não necessita da opção de melhoramento genético, demonstrando que é uma tecnologia promissora.

CONCLUSÃO

De acordo com os dados encontrados, verifica-se que a utilização de microrganismos que apresentem naturalmente resistência a metais pesados, como o Hg, são extremamente promissores para a biorremediação, foram apresentados nesse trabalho, benefícios e alguns riscos de suas aplicações, incluindo os efeitos tóxicos do mercúrio, em virtude de que as informações disponíveis permitem o conhecimento a nível molecular bacteriano, algumas bactérias são capazes de apresentar espontaneamente genes codificadores de enzimas de resistência à metais ou podem ser manipulados geneticamente para tornarem-se resistentes (OGM's), ainda que a utilização de bactérias selvagens seja a preferência. Devido a precaução em utilizar organismos não patogênicos na biorremediação, é importante o estudo de suas características favoráveis a reações de bioacumulação e transformação do metal em derivados menos tóxicos ou inócuos. Ao aferir como tecnologia promissora, também são indicados estudos de aplicação de outros meios adjuntos à biorremediação, os quais atuariam como facilitadores da remediação, resultando em uma melhor qualidade de vida para todos os indivíduos em contato com o meio a ser descontaminado.





ABU-DIEYEH, Mohammed H.; ALDUROOBI, Haya M.; AL-GHOUTI, Mohammad A.. Potential of mercury-tolerant bacteria for bio-uptake of mercury leached from discarded fluorescent lamps. Journal Of Environmental Management, [S.L.], v. 237, p. 217-227, maio 2019. Elsevier BV. http://dx.doi.org/10.1016/j.jenvman.2019.02.066.

AFZAL, Abuzar Muhammad et al. Assessment of heavy metal tolerance and biosorptive potential of Klebsiella variicola isolated from industrial effluents. Amb Express, [s.l.], v. 7, n. 1, 29 set. 2017. Springer Nature.

ALVES, Jeanne Clécia. Estimativa do risco à saúde humana segundo o teor de mercúrio presente em sushi e sashimi. 2016. 73f. Dissertação (Mestrado em Saúde e Nutrição) - Escola de Nutrição. Universidade Federal de Ouro Preto. Ouro Preto. 2016.

ANDREAZZA, Robson et al. Biorremediação de áreas contaminadas com cobre. Revista de Ciências Agrárias, Lisboa, v. 36, n. 2, p.127-136, abr. 2013.

ARAÚJO, Ana Mara et al. PROTOCOLO PARA BIORREMEDIAÇÃO DE ÁGUAS CONTAMINADAS POR PETRÓLEO E DERIVADOS: BIOREMEDIATION OF WATER CONTAMINATED FOR OIL AND DERIVATIVE. E-xacta, Belo Horizonte, v. 7, n. 1, p.55-63, 2014.

AUSTIN, Rupert et al. British society of prosthodontics debate on the implications of the minamata convention on mercury to dental amalgam - should our patients be worried? Dental Update, [s.l.], v. 43, n. 1, p.8-18, 2 jan. 2016. Mark Allen Group.

AVELAR, Camila Ribeiro de. Impacto ambiental dos alimentos transgênicos. Revista Brasileira de Nutrição Funcional, São Paulo, v. 17, p.7-12, 2017.

BALAN, Binish Mechirackal et al. Mercury tolerance and biosorption in bacteria isolated from Ny-Ålesund, Svalbard, Arctic. Journal Of Basic Microbiology, [s.l.], v. 58, n. 4, p.286-295, 31 jan. 2018. Wiley.

BARKAY, Tamar; MILLER, Susan M.; SUMMERS, Anne O.. Bacterial mercury resistance from atoms to ecosystems. Fems Microbiology Reviews, [s.l.], v. 27, n. 2-3, p.355-384, jun. 2003. Oxford University Press (OUP).

BEZERRA, Adriana de Lima Almeida. Tolerância bacteriana ao mercúrio relacionada com a atividade da enzima mercúrio redutase. 2012. 49 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Saúde Pública, Fundação Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro, 2012.

CARNEIRO, Danielle de Arruda; GARIGLIO, Lucas Paulo. A biorremediação como ferramenta para a descontaminação de ambientes terrestres e aquáticos. Revista Tecer, Belo Horizonte, v. 3, n. 4, p.82-95, maio 2010.

CATARINO, Sofia Raquel Madalena. Biorremediação. 2016. 28 f. Monografia (Especialização) - Curso de Ciências Farmacêuticas, Universidade de Coimbra, Coimbra, 2016.

CORIOLANO, Ana Catarina Fernandes; MORAIS FILHO, Manuel Capristanio de. BIORREMEDIAÇÃO, UMA ALTERNATIVA NA UTILIZAÇÃO EM ÁREAS DEGRADADAS PELA INDÚSTRIA PETROLÍFERA. Holos, [s.l.], v. 7, p.133, 12 nov. 2016. Instituto Federal de Educacao, Ciencia e Tecnologia do Rio Grande do Norte (IFRN).

COSTA, Sofia Santos et al. Active antimicrobial efflux in Staphylococcus epidermidis: building up of resistance to fluoroquinolones and biocides in a major opportunistic pathogen. Journal Of Antimicrobial Chemotherapy, [s.l.], 8 nov. 2017. Oxford University Press (OUP).

DAMAS, G. B.; BERTOLDO, B.; COSTA, L. T. Mercury: from Antiquity to Nowadays. Revista Virtual de Química, [s.l.], v. 6, n. 4, p.1010-1020, 01 mar. 2014. Sociedade Brasileira de Química (SBQ).

DASH, Hirak R. et al. Functional efficiency of MerA protein among diverse mercury resistant bacteria for efficient use in bioremediation of inorganic mercury. Biochimie, [s.l.], v. 142, p.207-215, nov. 2017. Elsevier BV.

DHANWAL, Pradeep et al. Biosorption of Heavy Metals from Aqueous Solution by Bacteria Isolated from Contaminated Soil. Water Environment Research, [s.l.], v. 90, n. 5, p.424-430, 1 maio 2018. Water Environment Federation.

ESDAILE, Louisa J.; CHALKER, Justin M. The Mercury Problem in Artisanal and Small-Scale Gold Mining. Chemistry - A European Journal, [s.l.], 5 fev. 2018. Wiley-Blackwell.

FALCO, Anna de. Estudo do gene merA em bactérias gram-negativas dos ambientes aquáticos brasileiros: primeiro passo para a seleção de microorganismos biorremediadores da poluição por mercúrio. 2013. 114 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Ciências na área de Saúde Pública e Meio Ambiente, Fundação Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro, 2013.

FARIAS, Tuanny Fernanda Gonçalves. SELEÇÃO DE ENTEROCOCCUS SP. RESISTENTE A COBRE E A MERCÚRIO COM POTENCIAL APLICAÇÃO NA BIORREMEDIAÇÃO. 2016. 46 f. TCC (Graduação) - Curso de Engenharia Ambiental, Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Londrina, 2016.

FERNANDES, Ângela Paula Duarte Baptista. Da Química à Toxicologia: Uma abordagem no Ensino Secundário. 2012. 182 f. Dissertação (Mestrado) - Ensino de Física e Química no 3º Ciclo do Ensino Básico e no Ensino Secundário, Universidade da Beira Interior, Covilhã, 2012.

FROSSARD, Aline; DONHAUSER, Johanna; MESTROT, Adrien; GYGAX, Sebastien; BÅÅTH, Erland; FREY, Beat. Long- and short-term effects of mercury pollution on the soil microbiome. Soil Biology And Biochemistry, [S.L.], v. 120, p. 191-199, maio 2018. Elsevier BV. http://dx.doi.org/10.1016/j.soilbio.2018.01.028.

GAYLARDE, Christine Claire; BELLINASO, Maria de Lourdes; MANFIO, Gilson Paulo. Biorremediação: aspectos biológicos e técnicos da biorremediação de xenobióticos. Biotecnologia Ciência & Desenvolvimento, Goiás, v. 34, p.36-43, jan. 2005.

GIOVANELLA, Patricia et al. Isolamento e seleção de micro-organismos resistentes e capazes de volatilizar mercúrio. Química Nova, [s.l.], v. 34, n. 2, p.232-236, 2011. FapUNIFESP (SciELO).

GRAZZIOTIN, Patricia Giovanella. CARACTERIZAÇÃO DE BACTÉRIAS RESISTENTES AO MERCÚRIO E ESTRATÉGIAS PARA BIORREMEDIAÇÃO DE AMBIENTES CONTAMINADOS. 2015. 161 f. Tese (Doutorado) - Curso de Programa de Pós-graduação em Microbiologia Agrícola e do Ambiente, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2015.

GUPTA, Pratima; DIWAN, Batul. Bacterial Exopolysaccharide mediated heavy metal removal: A Review on biosynthesis, mechanism and remediation strategies. Biotechnology Reports, [s.l.], v. 13, p.58-71, mar. 2017. Elsevier BV.

HARDING, Gareth; DALZIEL, John; VASS, Peter. Bioaccumulation of methylmercury within the marine food web of the outer Bay of Fundy, Gulf of Maine. Plos One, [s.l.], v. 13, n. 7, p.197-220, 16 jul. 2018. Public Library of Science (PLoS).



BIORREMEDIAÇÃO: MECANISMOS DE RESISTÊNCIA BACTERIANA FRENTE AO ÍON METÁLICO MERCÚRIO BIOREMEDIATION: MECHANISMS OF BACTERIAL RESISTANCE AGAINST THE METAL ION MERCURY

HUSSAIN, Imran et al. Microbe and plant assisted-remediation of organic xenobiotics and its enhancement by genetically modified organisms and recombinant technology: A review. Science Of The Total Environment, [s.l.], v. 628-629, p.1582-1599, jul. 2018. Elsevier BV.

KERN, Janet K. et al. The relationship between mercury and autism: A comprehensive review and discussion. Journal Of Trace Elements In Medicine And Biology, [s.l.], v. 37, p.8-24, set. 2016. Elsevier BV.

LEE, Sung-woo; LOWRY, Gregory V.; HSU-KIM, Heileen. Biogeochemical transformations of mercury in solid waste landfills and pathways for release. Environmental Science: Processes & Impacts, [s.l.], v. 18, n. 2, p.176-189, 2016. Royal Society of Chemistry (RSC).

LOZANO-BILBAO, Enrique et al. Mercury, cadmium, and lead content in demersal sharks from the Macaronesian islands. Environmental Science And Pollution Research, [s.l.], v. 25, n. 21, p.21251-21256, 26 jun. 2018. Springer Nature.

MA, Ying et al. Inoculation of Brassica oxyrrhina with plant growth promoting bacteria for the improvement of heavy metal phytoremediation under drought conditions. Journal Of Hazardous Materials, [s.l.], v. 320, p.36-44, dez. 2016. Elsevier BV.

MAHBUB, Khandaker Rayhan et al. Bioremediation of mercury: not properly exploited in contaminated soils! Applied Microbiology And Biotechnology, [s.l.], v. 101, n. 3, p.963-976, 10 jan. 2017. Springer Nature.

MAHBUB, Khandaker Rayhan et al. Mercury remediation potential of a mercury resistant strain Sphingopyxis sp. SE2 isolated from contaminated soil. Journal Of Environmental Sciences, [s.l.], v. 51, p.128-137, jan. 2017. Elsevier BV.

MANGWANI, Neelam; KUMARI, Supriya; DAS, Surajit. Bacterial biofilms and quorum sensing: fidelity in bioremediation technology. Biotechnology And Genetic Engineering Reviews, [s.l.], v. 32, n. 1-2, p.43-73, 20 jan. 2016. Informa UK Limited.

MARCHETTI, Desirèe Padilha. Presença de bombas de efluxo em isolados clínicos e ambientais de acinetobacter spp. 2010. 36 f. TCC (Graduação) - Curso de Farmácia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2010.

MARIANO, Caylla; MELLO, Ivani Souza; BARROS, Breno Martins; SILVA, Gilvan Ferreira da; TEREZO, Ailton Jose; SOARES, Marcos Antônio. Mercury alters the rhizobacterial community in Brazilian wetlands and it can be bioremediated by the plant-bacteria association. Environmental Science And Pollution Research, [S.L.], v. 27, n. 12, p. 13550-13564, 6 fev. 2020. Springer Science and Business Media LLC. http://dx.doi.org/10.1007/s11356-020-07913-2.

MUSTAPHA, Mohammed Umar; HALIMOON, Normala. Screening and Isolation of Heavy Metal Tolerant Bacteria in Industrial Effluent. Procedia Environmental Sciences, [s.l.], v. 30, p.33-37, 2015. Elsevier BV.

NAGUIB, Martha M.; KHAIRALLA, Ahmed S.; EL-GENDY, Ahmed O.; ELKHATIB, Walid F.. Isolation and characterization of mercury-resistant bacteria from wastewater sources in Egypt. Canadian Journal Of Microbiology, [S.L.], v. 65, n. 4, p. 308-321, abr. 2019. Canadian Science Publishing. http://dx.doi.org/10.1139/cjm-2018-0379.

NAVARRO, Jessica Paola Fuentes Rivera. Construção e caracterização de uma linhagem de levedura desenhada para biorremediação de mercúrio. Digital Library - Usp, 2013. Universidade de Sao Paulo Sistema Integrado de Bibliotecas - SIBiUSP.

OLJIRA, Temesgen; MULETA, Diriba; JIDA, Mulissa. Potential Applications of Some Indigenous Bacteria Isolated from Polluted Areas in the Treatment of Brewery Effluents. Biotechnology Research International, [s.l.], v. 2018, p.1-13, 2018. Hindawi Limited.

OREGAARD, Gunnar; SØRENSEN, Søren J. High diversity of bacterial mercuric reductase genes from surface and sub-surface floodplain soil (Oak Ridge, USA). The Isme Journal, [s.l.], v. 1, n. 5, p.453-467, 19 jul. 2007. Springer Nature.

PAL, Chandan et al. Metal Resistance and Its Association With Antibiotic Resistance. Microbiology Of Metal Ions, [s.l.], p.261-313, 2017. Elsevier.

PINTO, Marcelo Valente. Construção Gênica Bacteriana para Biorremediação de Mercúrio. Amazonas: Universidade Federal do Amazonas. 2016.

SANTOS, Eliane Iara Alebrandt dos. AVALIAÇÃO DO GRAU DE CONTAMINAÇÃO DA ALFACE POR METAIS PESADOS NO MUNICÍPIO DE GURUPI - TO. 2009. 76 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Mestrado em Produção Vegetal, Universidade Federal do Tocantins, Gurupi, 2009.

SCHENBERG, Ana Clara Guerrini. Biotecnologia e desenvolvimento sustentável. Estudos Avançados, [s.l.], v. 24, n. 70, p.07-17, 2010. FapUNIFESP (SciELO).

SCHÜTTE, Georg. What kind of innovation policy does the bioeconomy need? New Biotechnology, [s.l.], v. 40, p.82-86, jan. 2018. Elsevier BV.

SELIN, Henrik et al. Linking science and policy to support the implementation of the Minamata Convention on Mercury. Ambio, [s.l.], v. 47, n. 2, p.198-215, 31 jan. 2018. Springer Nature.

SOLISIO, Carlo; ARNI, Saleh Al; CONVERTI, Attilio. Adsorption of inorganic mercury from aqueous solutions onto dry biomass of Chlorella vulgaris: kinetic and isotherm study. Environmental Technology, [s.l.], p.1-9, 11 nov. 2017. Informa UK Limited.

SOTERO-MARTINS, Adriana et al. A conservative region of the mercuric reductase gene (mera) as a molecular marker of bacterial mercury resistance. Brazilian Journal Of Microbiology, p.307-310, 2008.

UPADHYAY, Kinjal H. et al. Kinetics and mechanisms of mercury biosorption by an exopolysaccharide producing marine isolate Bacillus licheniformis. 3 Biotech, [s.l.], v. 7, n. 5, 14 set. 2017. Springer Nature.

VELMOUROUGANE, Kulandaivelu; PRASANNA, Radha; SAXENA, Anil Kumar. Agriculturally important microbial biofilms: Present status and future prospects. Journal Of Basic Microbiology, [s.l.], v. 57, n. 7, p.548-573, 13 abr. 2017. Wiley-Blackwell.

WANG, Dan et al. Structural Analysis of the Hg(II)-Regulatory Protein Tn501 MerR from Pseudomonas aeruginosa. Scientific Reports, [s.l.], v. 6, n. 1, 19 set. 2016. Springer Nature.

YIK, Low Yi et al. Adaptive Strategies of Bacillus thuringiensis Isolated from Acid Mine Drainage Site in Sabah, Malaysia. Indian Journal Of Microbiology, [s.l.], v. 58, n. 2, p.165-173, 4 jan. 2018. Springer Nature.

YOSHIDA, Eiko et al. Methylmercury promotes prostacyclin release from cultured human brain microvascular endothelial cells via induction of cyclooxygenase-2 through activation of the EGFR-p38 MAPK pathway by inhibiting protein tyrosine phosphatase 1B activity. Toxicology, [s.l.], v. 392, p.40-46, dez. 2017. Elsevier BV.

ZHENG, Rikuan et al. Genetic and Physiological Adaptations of Marine Bacterium Pseudomonas stutzeri 273 to Mercury Stress. Frontiers In Microbiology, [s.1.], v. 9, 5 abr. 2018. Frontiers Media SA.



ZHU, Manlu; DAI, Xiongfeng. High Salt Cross-Protects Escherichia coli from Antibiotic Treatment through Increasing Efflux Pump Expression. Msphere, [s.l.], v. 3, n. 2, p.5-18, 11 abr. 2018. American Society for Microbiology.