

UNIVERSIDADE FEDERAL DE PELOTAS
Centro de Engenharias
Programa de Pós-Graduação em Ciências Ambientais



Dissertação

**Potencial de biorremediação ao cromo por *Exiguobacterium acetylicum* isolada
da macrófita *Hydrocotyle ranunculoides***

Amanda Garcia da Cunha

Pelotas, 2021

Amanda Garcia da Cunha

**Potencial de biorremediação ao cromo por *Exiguobacterium acetylicum* isolada
da macrófita *Hydrocotyle ranunculoides***

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Ambientais do Centro de Engenharias da Universidade Federal de Pelotas, como requisito à obtenção do título de Mestre em Ciências Ambientais.

Orientadora: Prof^a. Dr^a. Simone Pieniz
Coorientador: Prof. Dr. Robson Andreazza

Pelotas, 2021

Universidade Federal de Pelotas / Sistema de Bibliotecas
Catalogação na Publicação

C972p Cunha, Amanda Garcia da

Potencial de biorremediação ao cromo por
Exiguobacterium acetylicum isolada da macrófita
Hydrocotyle ranunculoides / Amanda Garcia da Cunha ;
Simone Pieniz, orientadora ; Robson Andreazza,
coorientador. — Pelotas, 2021.

90 f.

Dissertação (Mestrado) — Programa de Pós-Graduação
em Ciências Ambientais, Centro de Engenharias,
Universidade Federal de Pelotas, 2021.

1. Metais pesados. 2. Cr (III). 3. Riorremediação. 4.
Exiguobacterium acetylicum. I. Pieniz, Simone, orient. II.
Andreazza, Robson, coorient. III. Título.

CDD : 363.7

Elaborada por Maria Inez Figueiredo Figas Machado CRB: 10/1612

Amanda Garcia da Cunha

Potencial de biorremediação ao cromo por *Exiguobacterium acetylicum* isolada da
macrófita *Hydrocotyle ranunculoides*

Dissertação aprovada, como requisito para obtenção do grau de Mestre em Ciências Ambientais, Programa de Pós-Graduação em Ciências Ambientais, Centro de Engenharias, Universidade Federal de Pelotas.

Data da defesa: 27 de julho de 2021.

Banca examinadora:

Prof^a. Dr^a. Simone Pieniz (Orientadora)

Doutora em Microbiologia Agrícola e do Ambiente pela Universidade Federal do Rio Grande do Sul

Prof. Dr. Robson Andreazza (Coorientador)

Doutor em Ciência do Solo pela Universidade Federal do Rio Grande do Sul

Prof^a. Dr^a. Marília Lazarotto

Doutora em Engenharia Florestal pela Universidade Federal de Santa Maria

Prof^a. Dr^a. Mery Luiza Vieira

Doutora em Engenharia e Ciência de Alimentos pela Universidade Federal do Rio Grande

Prof. Dr. Cicero Coelho de Escobar

Doutor em Engenharia Química pela Universidade Federal do Rio Grande do Sul

Agradecimentos

Aos meus pais, Luciane e Guaraci, pelos valores ensinados, por sempre incentivarem os estudos e pelo apoio para que essa realização fosse possível. Por acreditarem em mim e serem o meu porto seguro.

À minha avó Mariane (*in memoriam*), segunda mãe, amiga e confidente, que sempre foi minha grande incentivadora, que vibrou comigo quando entrei no programa, mas que deixou esse plano recentemente, deixando também, muita saudade. Meu eterno amor e gratidão.

Ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Ambientais pela oportunidade incrível.

Ao corpo docente do PPGCAmb, por todos os ensinamentos compartilhados e por fazerem parte da minha trajetória acadêmica.

À minha orientadora, professora Simone Pieniz, que me acolheu, motivou e inspirou. Pela paciência em me orientar, por estar sempre disposta a ajudar, ouvir e ensinar. Tem minha total gratidão e admiração.

Ao meu coorientador, professor Robson Andreazza, pela oportunidade e acolhimento, por todo o suporte, ensinamentos compartilhados, e por tornar este trabalho possível.

À Dienifer, que foi minha parceira e amiga de laboratório e pesquisa, que riu e também chorou comigo, que muito me ajudou, ensinou e apoiou.

À Vandressa, que me motivou a continuar quando as coisas pareciam impossíveis, que escutou meus desabafos e angústias, deixando sempre o ombro amigo à disposição.

Aos colegas e amigos do Laboratório de Química Ambiental, que me receberam tão bem e auxiliaram inúmeras vezes. Em especial, Raquel, Marcela, Carolina, Thays, Josiane e Louise. Vocês deixaram os meus dias de laboratório ainda mais especiais.

Ao Rodrigo, por estar sempre ao meu lado e ser um dos meus maiores incentivadores.

A todos vocês, muito obrigada.

*Na vida, não vale tanto o que temos, nem tanto importa o
que somos. Vale o que realizamos com aquilo que
possuímos, e, acima de tudo, importa o que fazemos de nós.*

(Chico Xavier)

Resumo

CUNHA, Amanda Garcia da. **Potencial de biorremediação ao cromo por *Exiguobacterium acetylicum* isolada da macrófita *Hydrocotyle ranunculoides***. 2021. 90f. Dissertação (Mestrado em Ciências Ambientais) – Programa de Pós-Graduação em Ciências Ambientais, Centro de Engenharias, Universidade Federal de Pelotas, Pelotas, 2021.

O cromo (Cr) é um dos contaminantes de sistemas aquáticos mais comuns devido ao seu uso frequente em indústrias metalúrgicas, de galvanoplastia e curtumes. Para a saúde humana, a exposição a este metal pode desencadear alterações genéticas e doenças como o câncer. A biorremediação é um processo viável ambiental e economicamente, na qual organismos vivos são utilizados para reduzir ou remover contaminantes do ambiente. A rizorremediação é uma técnica de biorremediação, que, ao utilizar bactérias, se torna um dos mais ecológicos e eficientes métodos de descontaminação de solos e ambientes aquáticos. Contudo, o sucesso desta técnica depende que os micro-organismos sejam resistentes e tolerantes à metais e apresentem eficácia em diferentes condições ambientais. A comunidade microbiana da rizosfera também pode variar de acordo com a espécie de planta, estado nutricional, idade, estresse, entre outros. Neste sentido, buscou-se identificar bactérias biorremediadoras existentes na rizosfera de plantas macrófitas da espécie *Hydrocotyle ranunculoides* presentes no canal do arroio Santa Bárbara, na cidade de Pelotas-RS, capazes de bioissorver o metal cromo, bem como conhecer as condições ambientais ótimas para a eficiência da remediação. O isolado denominado HR7 da espécie bacteriana *Exiguobacterium acetylicum*, apresentou melhor viabilidade e biorremoção dentre os selecionados, sendo analisado em diversas condições para remoção de Cr (III), tais como: diferentes pHs, concentrações de cromo, temperaturas e curva de crescimento. A espécie também foi testada quanto à sua capacidade de crescimento e remoção em meio com Cr (VI). Assim, o isolado demonstrou capacidade de adaptação diante das variáveis ambientais estudadas, demonstrando crescimento e remoção ótimos na concentração de 50 mg.L⁻¹ de Cr (III), em pH de neutro a alcalino (entre 7 e 8), nas temperaturas 35°C e 40°C e com tempo ideal de contato com o metal na faixa de 12 a 24 horas. Na forma hexavalente, o isolado apresentou excelente viabilidade e taxas de remoção do metal (~100%) em concentrações 10, 25 e 50 mg.L⁻¹. Desta forma, a rizorremediação demonstrou ser uma técnica eficiente de remediação de ambientes aquáticos contaminados, bem como a espécie bacteriana estudada demonstra ser um micro-organismo com grande potencial para estudos posteriores, visando sua aplicação em processos de biorremediação.

Palavras-chave: Metais pesados. Cr (III). Rizorremediação. *Exiguobacterium acetylicum*.

Abstract

CUNHA, Amanda Garcia da. **Chromium bioremediation potential by *Exiguobacterium acetylicum* isolated from the macrophyte *Hydrocotyle ranunculoides***. 2021. 90f. Dissertation (Masters in Environmental Sciences) – Postgraduate Program in Environmental Sciences, Engineering Center, Federal University of Pelotas, Pelotas, 2021.

Chromium (Cr) is one of the most common contaminants in aquatic systems due to its frequent use in metallurgical, electroplating and tanning industries. For human health, exposure to this metal can trigger genetic changes and diseases such as cancer. Bioremediation is an environmentally and economically viable process in which living organisms are used to reduce or remove contaminants from environment. Rhizoremediation is a bioremediation technique that becomes one of the most ecological and efficient methods for decontaminating soils and aquatic environments. However, success of this technique depends on the microorganisms being resistant and tolerant to metals and showing effectiveness in different environmental conditions. Rhizosphere microbial community can also vary according to plant species, nutritional status, age, stress, among others. Thus, it was sought to identify bioremediator bacteria existing in rhizosphere of macrophyte plants of the species *Hydrocotyle ranunculoides* present at Santa Bárbara stream, in the city of Pelotas-RS, capable of biosorbing chromium as well as knowing the optimal environmental conditions for remediation. The isolate called HR7 identified as *Exiguobacterium acetylicum* showed better viability and bioremoval among those selected, being analyzed under different conditions for Cr (III) removal such as: different pHs, chromium concentrations, temperatures and growth. The species was also tested for its ability to grow and remove Cr (VI) from medium. Thus, the isolate showed adaptability to the environmental variables under study, demonstrating optimal growth and removal at a concentration of 50 mg.L⁻¹ of Cr (III), at pH from neutral to alkaline (between 7 and 8), at temperatures range between 35°C and 40°C and with ideal contact time with the metal in the range of 12 to 24 h. In the Cr (VI), the isolate showed excellent viability and metal removal rates of almost 100% at concentrations of 10, 25 and 50 mg.L⁻¹. Thus, rhizoremediation constitutes an efficient technique for remediation of contaminated aquatic environments, and the bacterial species studied demonstrates to be a microorganism with great potential for further studies, aiming its application in bioremediation processes.

Keywords: Heavy metals. Cr (III). Rhizoremediation. *Exiguobacterium acetylicum*.

Lista de Figuras

Figura 1	Comportamento dos metais no organismo: (a) metais essenciais e (b) metais não essenciais.....	17
Figura 2	Fluxo dos produtos de cromo desde o minério até o uso final do metal.....	20
Figura 3	Representação esquemática do ciclo de contaminação ambiental por cromo.....	27
Figura 4	Representação esquemática da bio sorção de metais em solução aquosa.....	35
Figura 5	Grupos de macrófitas.....	38
Figura 6	Macrófita <i>Hydrocotyle ranunculoides</i> : (a) no arroio Santa Bárbara no dia de coleta e (b) em laboratório após coleta.....	40
Figura 7	Localização do ponto de coleta no arroio Santa Bárbara, no município de Pelotas	47
Figura 8	Absorbância (DO _{600nm}) e biorremoção de Cr (III) pelos isolados da macrófita <i>Hydrocotyle ranunculoides</i>	58
Figura 9	Absorbância (DO _{600nm}) e biorremoção de Cr (III) pelo isolado HR7 em diferentes faixas de pH.....	61
Figura 10	Absorbância (DO _{600nm}) e biorremoção de Cr (III) pelo isolado HR7 em diferentes tempos de incubação.....	62
Figura 11	Absorbância (DO _{600nm}) e biorremoção de Cr (III) pelo isolado HR7 em diferentes temperaturas.....	63
Figura 12	Absorbância (DO _{600nm}) e biorremoção de Cr (VI) pelo isolado <i>Exiguobacterium acetylicum</i> em diferentes concentrações de Cr (VI).	66

Lista de Tabelas

Tabela 1	Alguns métodos convencionais de remoção de metais e suas vantagens e desvantagens	29
Tabela 2	Técnicas de biorremediação e seus princípios.....	32
Tabela 3	Mecanismos de bioissorção e suas características.....	34
Tabela 4	Comparação entre a bioissorção e a bioacumulação.....	37
Tabela 5	Extração de metais pela macrófita <i>Hydrocotyle ranunculoides</i> no Rio Lerma, México.....	45
Tabela 6	Características morfológicas observadas dos isolados selecionados.....	56
Tabela 7	Densidade óptica dos inóculos e unidades formadoras de colônias dos isolados da macrófita <i>Hydrocotyle ranunculoides</i>	57
Tabela 8	Absorbância (DO _{600nm}) e biorremoção pelo isolado HR7 em diferentes concentrações de Cr (III).....	60

Sumário

1 Introdução	11
2 Objetivos	14
2.1 Objetivo geral	14
2.2 Objetivos específicos	14
3 Hipóteses	15
4 Revisão bibliográfica	16
4.1 Metais pesados	16
4.2 Cromo	18
4.2.1 A utilização do cromo na indústria	19
4.2.2 Toxicidade do cromo	24
4.2.3 O cromo como poluente de ambientes aquáticos	25
4.3 Biorremediação	28
4.3.1 Mecanismos de biorremoção	33
4.4 Macrófitas aquáticas	37
4.4.1 <i>Hydrocotyle ranunculoides</i>	39
4.4.2 Rizosfera	42
5 Material e métodos	46
5.1 Caracterização da área de estudo	46
5.2 Isolamento microbiano	48
5.3 Purificação das colônias distintas	49
5.4 Contagem de células	49
5.5 Crescimento bacteriano e absorção de cromo	50
5.6 Seleção do isolado	50
5.7 Identificação das condições ideais de crescimento e biorremoção de cromo pelo isolado HR7	51

5.7.1 Efeito do pH	51
5.7.2 Efeito das concentrações de cromo	51
5.7.3 Efeito da temperatura	52
5.7.4 Curva de crescimento	52
5.8 Identificação molecular do isolado	52
5.8.1 Extração do DNA	52
5.8.2 Amplificação do DNA	53
5.9 Determinação de Cr (VI) pelo método colorimétrico da difenilcarbazida	54
5.9.1 Desenvolvimento da cor.....	54
5.10 Análise estatística dos dados.....	55
6 Resultados e discussão	56
6.1 Isolamento e seleção dos micro-organismos resistentes ao cromo	56
6.2 Contagem de células	57
6.3 Comparação de crescimento e biorremoção de Cr (III) pelos isolados resistentes	58
6.4 Testes das condições ambientais ideais.....	60
6.4.1 Efeito de diferentes concentrações de Cr (III).....	60
6.4.2 Efeito do pH	61
6.4.3 Efeito do tempo de contato com o metal Cr (III).....	62
6.4.4 Efeito da temperatura	63
6.5 Identificação molecular do isolado HR7	64
6.6 Biorremoção de Cr (VI)	66
7 Considerações finais	68
Referências.....	70

1 Introdução

A contaminação de sistemas aquáticos pelas diversas atividades antrópicas vem sendo um dos problemas ambientais mais discutidos, pois a presença de elementos tóxicos nestes ambientes repercute em efeitos adversos sobre os organismos, aos seres vivos e à saúde pública. Naturalmente, a existência abundante de metais nestes sistemas é um reflexo da sua ampla utilização em atividades humanas e industriais, assim, o grau de ameaça ambiental de diversas tecnologias e de atividades deve ser considerado e controlado.

Os metais pesados encontram-se no meio ambiente devido a ações antrópicas como a queima de combustíveis fósseis, utilização de insumos agrícolas, produção de efluentes domésticos e rejeitos industriais (MUNIZ e OLIVEIRA-FILHO, 2006), como também estão espontaneamente presentes na natureza, sendo o intemperismo e a lixiviação, exemplos de processos naturais que geram o aparecimento de metais na água e no solo.

No ambiente aquático, os organismos tendem a acumular metais pesados e contaminantes orgânicos em seus tecidos, o que leva a um grande risco de contaminação dentro da cadeia trófica, causando desequilíbrio do ecossistema (FERRI, 2012). Para a saúde humana, a exposição a metais pesados pode desencadear alterações genéticas e doenças como o câncer, danos ao sistema nervoso, fígado e rim, disfunções motoras, entre outros.

O cromo (Cr) é um dos contaminantes mais comuns devido ao seu uso frequente, principalmente em indústrias metalúrgicas, de galvanoplastia e curtumes, sendo encontrado em todas as fases do ambiente, água, ar e solo. Suas formas mais estáveis são a trivalente (Cr (III)) e a hexavalente (Cr (VI)), embora existam vários outros estados de valência instáveis e de curta duração em sistemas biológicos (SHANKER *et al.*, 2005).

A principal via de exposição ao cromo é pela ingestão de alimentos e água contaminados, e, ainda que sirva como nutriente em alguns alimentos, como carnes e cereais, a exposição aguda a esse metal pode causar impactos tóxicos à saúde. Melnik (2016) relata que vários estudos já provaram que os compostos de cromo são capazes de produzir efeitos alergênicos, mutagênicos e carcinogênicos em todos os organismos vivos.

A biorremediação é um processo pelo qual organismos vivos – normalmente plantas e/ou micro-organismos – são utilizados para reduzir ou remover contaminantes do ambiente. Em comparação com outros métodos de tratamento, a biorremediação demonstra vantagens, pois consiste em um processo natural, com perturbação ambiental mínima, sendo considerado um procedimento acessível, de baixo custo e seguro (WETLER-TONINI *et al.*, 2010). Contudo, o sucesso da técnica depende que os micro-organismos sejam resistentes e tolerantes aos metais (BOECHAT, 2014). As bactérias apresentam menor tempo de geração e maior versatilidade metabólica e enzimática quando comparadas aos demais micro-organismos e, devido a esses fatores, a maioria dos estudos sobre biorremediação são realizados com linhagens bacterianas (MARTINS e MARTINS, 2013).

A espécie *Hydrocotyle ranunculoides* é uma macrófita aquática de grande ocorrência em alguns países da Europa e outros como Japão, Austrália e Israel. Esta planta apresenta também altas taxas de crescimento no arroio Santa Bárbara, na cidade de Pelotas, no Rio Grande do Sul, e vem demonstrando potencial de aplicação no tratamento de ambientes contaminados. Em estudo realizado por Demarco (2018), a espécie apresentou capacidade natural de fitorremediação do arroio citado, com potencial de fitoextração para fósforo, potássio, cálcio, sódio e arsênio, e rizofiltração para metais como magnésio, cobre, manganês, cádmio, alumínio, chumbo e cromo, uma vez que demonstrou reter níveis mais elevados nas raízes.

Sabe-se que macrófitas aquáticas com potencial remediador, associadas à rizobactérias, podem ser grandes aliadas em processos de biorremediação. Alguns gêneros bacterianos habitantes de zonas rizosféricas de plantas já vêm sendo estudados e aplicados em vários tratamentos, como *Pseudomonas*, *Rhizobium*, *Azotobacter* e *Methylobacterium* (CHAUHAN *et al.*, 2015). Logo, a biorremediação com o auxílio de macrófitas e micro-organismos isolados e adaptados pode ser uma alternativa para a redução da contaminação de ambientes aquáticos. Contudo, conhecer os parâmetros físicos, químicos e biológicos que afetam o processo é essencial para o sucesso da técnica (PRADHAN *et al.*, 2017).

O constante crescimento das atividades antrópicas no município de Pelotas tem feito com que uma série de resíduos, tanto industriais quanto domésticos, cheguem às

águas de uma das principais fontes de abastecimento hídrico da cidade, o arroio Santa Bárbara, provocando alterações em suas condições naturais. A presença de cromo nesta região se dá principalmente por meio de atividades agrícolas, sendo que a concentração do metal no arroio está bem acima da concentração permitida pela legislação brasileira (DEMARCO, 2018). Desta forma, o presente estudo visa contribuir com a identificação de rizobactérias associadas à macrófita *H. ranunculoides*, que tenham capacidade de remediar ambientes contaminados com cromo.

2 Objetivos

2.1 Objetivo geral

O presente estudo teve por objetivo identificar bactérias potencialmente biorremediadoras de cromo existentes na rizosfera de macrófitas da espécie *Hydrocotyle ranunculoides* presentes no canal do arroio Santa Bárbara, na cidade de Pelotas-RS.

2.2 Objetivos específicos

- Isolar bactérias rizofíticas da macrófita *H. ranunculoides* resistentes ao metal cromo;
- Avaliar a viabilidade dos micro-organismos isolados no cromo, bem como sua capacidade de absorção do metal;
- Avaliar o crescimento e biorremoção de cromo pelos isolados em diferentes variáveis ambientais;
- Identificar molecularmente por meio do 16S DNA, os isolados com maior potencial de biorremediação de cromo.

3 Hipóteses

Bactérias rizosféricas da macrófita *H. ranunculoides* presentes no arroio Santa Bárbara têm resistência ao metal cromo;

A variáveis ambientais influenciam diretamente a eficácia dos processos de biorremediação;

A utilização de bactérias rizofíticas em técnicas de biorremediação é uma alternativa eficaz e viável de descontaminação de ambientes aquáticos poluídos com cromo e outros metais pesados.

4 Revisão bibliográfica

4.1 Metais pesados

Os metais estão presentes no ambiente de forma natural ou advindos de atividades antrópicas. Por meio de processos naturais, estão frequentemente na forma de óxidos, sulfetos e carbonatos e, apesar da ocorrência de metais em seu estado elementar ser rara, as concentrações dependem muitas vezes do teor do elemento na rocha de origem e do grau de intemperização que esse material sofreu (ANDRADE *et al.*, 2007). Já atividades antrópicas, desde os processos produtivos até a disposição final incorreta de metais pesados utilizados no decurso do produto ou serviço, podem aumentar a concentração destes a níveis mais altos dos que originalmente presentes na natureza. Bielicka *et al.* (2005) esclarecem que os metais são contaminantes ambientais persistentes: uma vez emitidos, podem permanecer no meio ambiente por centenas de anos.

Assim, metais são elementos químicos de extrema importância para a manutenção de condições favoráveis para os meios bióticos e abióticos; apresentam ligações químicas fortes entre seus átomos e características físicas definidas como condução de eletricidade, brilho, maleabilidade e flexibilidade (MILAZZO *et al.*, 2011). Leite (2002) ressalta ainda que os metais apresentam outras diversas propriedades físicas típicas, como alta condutividade térmica, alta densidade e ductilidade.

Os metais pesados representam uma das categorias de metais. Embora não haja ainda um consenso geral sobre a definição de metal pesado, os principais fatores determinantes que os caracterizam são a alta densidade - comumente mais de 5 g/cm³, potencial tóxico (NIES, 1999; JÄRUP, 2003), número atômico superior a 20 e a capacidade de se ligarem às substâncias orgânicas e inorgânicas (LEITE, 2002). Sendo assim, 53 dos 90 elementos da tabela periódica são considerados metais pesados (MARTINS, 2017).

Do ponto de vista biológico, alguns destes elementos apresentam características de essencialidade aos seres humanos, animais e plantas, se presentes em baixas concentrações. Há metais que estão envolvidos no funcionamento de algumas rotas

metabólicas do corpo e presentes em fontes alimentícias. No entanto, enquanto determinados metais são necessários em quantidades mínimas para os seres vivos, outros que não apresentam funções biológicas relevantes podem causar danos ao metabolismo (VALLS e LORENZO, 2002). Lima e Merçon (2011) apontam que, quando acima da faixa de concentração ótima, um metal essencial exerce ação tóxica sobre o desenvolvimento do ser vivo, sendo que há um nível de concentração em que este pode se tornar letal (Figura 1a); por outro lado tem-se um metal não essencial ao ser vivo (Figura 1b), e para este, há uma faixa de concentração tolerável ao organismo e, quando excedido o limite de concentração, este se torna tóxico e, posteriormente, letal. Alguns metais como cálcio, potássio, ferro, cobre, zinco, cromo, manganês, dentre outros (EMSLEY, 2001) são essenciais para o ser humano. Deste modo, até mesmo alguns metais considerados tóxicos em concentrações elevadas, são fundamentais ao metabolismo em baixas concentrações, como o zinco, o cobre e o cromo (LIMA e MERÇON, 2011).

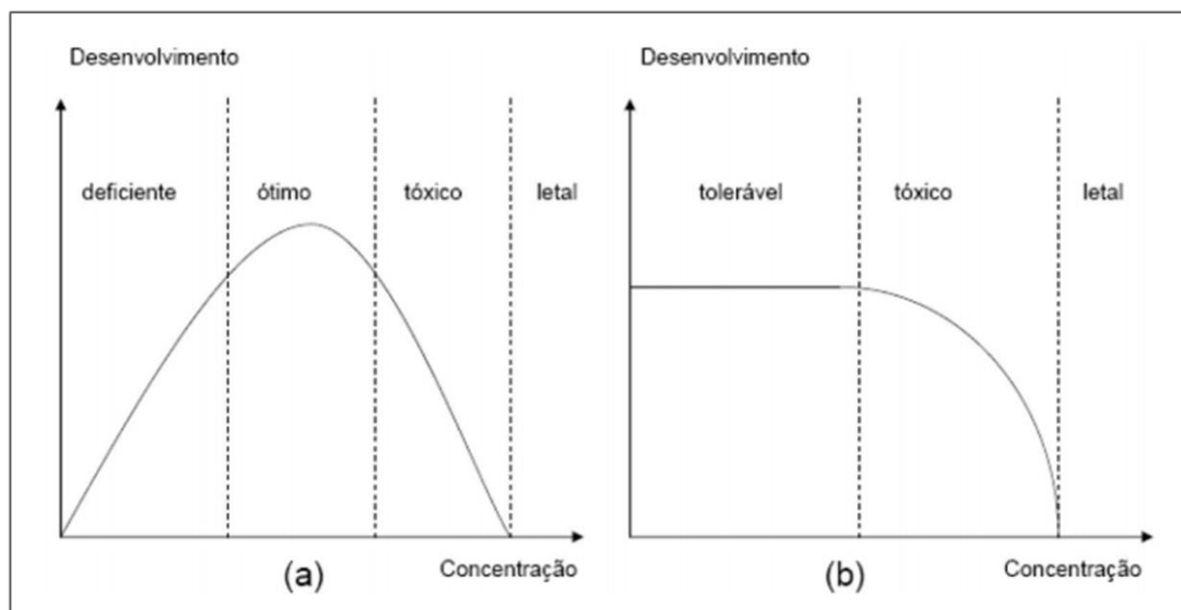


Figura 1 - Comportamento dos metais no organismo: (a) metais essenciais e (b) metais não essenciais. Fonte: LIMA e MERÇON (2011).

Contudo, frequentemente os metais desta categoria são associados principalmente como substâncias tóxicas, geralmente provenientes de descartes de rejeitos no ambiente e estão ligados diretamente à poluição de águas, do ar, dos solos e

das plantas. Por essa razão, a maior preocupação em relação aos metais pesados é a bioacumulação destes pela flora e fauna aquática, o que conseqüentemente, acaba atingindo o homem (BALTAZAR *et al.*, 2019).

Todos os metais pesados e seus compostos possuem toxicidade que, segundo Muniz e Oliveira-Filho (2006), significa a capacidade inerente que um elemento químico possui de causar efeitos adversos sobre os organismos vivos; todavia, um dos principais fatores que definem o grau de toxicidade de um elemento é o nível de exposição. Demais fatores como biodisponibilidade e espécie química na qual se encontra, também influenciam na toxicidade de um elemento químico (VALLS e LORENZO, 2002). Além disso, no que tange à ambientes aquáticos, a toxicidade de um metal em água varia de acordo com o potencial hidrogeniônico (pH) e dos teores de carbono dissolvidos e em suspensão, visto que, quando os metais interagem com o carbono e seus compostos, podem sofrer adsorção (BAIRD, 2002; LIMA e MERÇON, 2011).

O cromo é um poluente muito comum no meio aquático, normalmente originado de fontes de poluição industrial, como galvanoplastia e tingimento têxtil (MOHANTY e PATRA, 2011; KYZIOŁ-KOMOSIŃSKA *et al.*, 2018). Por ser um elemento com alta capacidade de acumulação na cadeia alimentar, de difícil degradação química e biológica, e apresentar potencial carcinogênico em sua forma de oxidação hexavalente (Cr (VI)), insere-se no grupo de poluentes que requerem tratamento especial (COSTA *et al.*, 2017).

4.2 Cromo

O cromo, símbolo Cr, foi descoberto pelo químico francês Louis Nicolas Vauquelin no ano de 1797, a partir do tratamento do minério crocoíta com ácido clorídrico diluído, o que gerou o óxido crômico (CrO₃) como resíduo da reação. Este CrO₃, que após aquecido à alta temperatura em presença de carvão, produziu o metal cromo (Cr), o qual o nome foi escolhido devido à grande variedade de cores que seus compostos apresentavam, uma vez que o cromo remete à cor (SILVA e PEDROZO, 2001; SHANKER *et al.*, 2005; KORZENOWSKI, 2007; BRANDÃO, 2013).

Assim, o cromo é um elemento metálico do grupo 6 (6B) da Classificação Periódica dos Elementos, possui número atômico 24, massa atômica 52 e densidade de 7,19 g.cm³ a 20°C. Este mineral ocorre nas valências de -2 a +6, onde os estados de oxidação mais comuns são 0, +2, +3 e +6, da qual a forma bivalente é facilmente oxidada à trivalente pelo ar, e as formas trivalente e hexavalente as mais estáveis (SILVA e PEDROZO, 2001; GOMES, 2005; KORZENOWSKI, 2007). Está em todas as fases do ambiente em decorrência da intemperização do material de origem dos solos ou introduzido em resíduos de atividades antrópicas (SOUSA e SANTOS, 2018). Silva e Pedrozo (2001) ressaltam que, naturalmente, o cromo é encontrado em rochas, animais, plantas, poeiras e névoas vulcânicas. Além disto, é encontrado em vários minerais nas formas de óxidos e silicatos, porém não é encontrado puro na natureza devido ao caráter oxidante da atmosfera e à sua elevada reatividade com o oxigênio (SAMPAIO *et al.*, 2008).

Outro aspecto é que, segundo Brandão (2013) e Samantaray *et al.* (2014), o cromo é um metal de transição, de coloração cinza semelhante ao aço e, devido às suas propriedades como resistência à corrosão, dureza, resistência ao atrito, oxidação e capacidades de cor, seu principal uso está em processos industriais.

4.2.1 A utilização do cromo na indústria

O cromo destaca-se como o quinto elemento metálico depois do ferro, manganês, alumínio e cobre. Contudo, a cromita é o único mineral de cromo economicamente aproveitável, sendo considerado um dos mais importantes minerais industriais no mundo e utilizada tanto como mineral metálico quanto não-metálico. Assim, a cromita é um óxido duplo de ferro e cromo (FeCr₂O₄), contendo cerca de 68% de óxido de Cr (III) (Cr₂O₃) e 32% de óxido de ferro (FeO), podendo o magnésio e o alumínio substituírem parcialmente o ferro, constituindo a estrutura da cromita (SAMPAIO *et al.*, 2008; MURTHY *et al.*, 2011). Sampaio *et al.* (2008) salientam que, mundialmente, os concentrados de cromita podem ser agrupados em graus de uso metalúrgico, químico ou refratário e isso dependerá do teor de óxido de cromo e da relação cromo/ferro. Os autores esclarecem ainda a diferença entre o consumo do metal cromo e do mineral cromita: o primeiro envolve, além do consumo da própria cromita, as ligas do metal e substâncias químicas, já o segundo

inclui apenas o concentrado de cromita. O fluxograma da Figura 2 ilustra processos, produtos e usos finais de produtos de cromo, ao longo de seu beneficiamento.

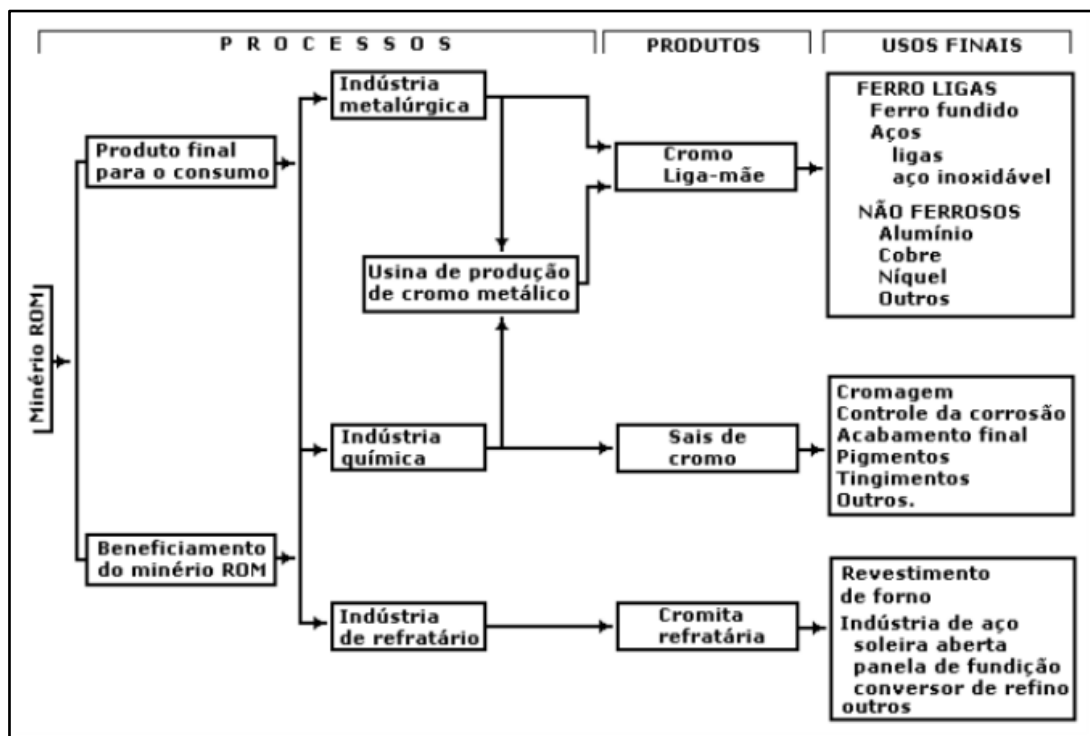


Figura 2 - Fluxo dos produtos de cromo desde o minério até o uso final do metal.

Fonte: PAPP (1994); SAMPAIO et al. (2008).

Inicialmente, o cromo era empregado quase que exclusivamente como corante em pinturas e no campo da indústria química (GONÇALVES, 2001). Somente com o avanço da indústria metalúrgica no início do século XX, somado à difusão dos ácidos inoxidáveis, esse elemento tornou-se então, um produto vital também na indústria da metalurgia (SAMPAIO et al., 2008; COSTA, 2014). Este setor consome cerca de 81% da produção mundial de cromita, utilizado principalmente para a produção de ligas de ferro-cromo, fonte para a produção de ácido inoxidável (GONÇALVES, 2001). Devido às suas propriedades como dureza, resistência ao atrito, corrosão e ao desgaste, também é altamente utilizado em estruturas de construção civil (SILVA e PEDROZO, 2001).

Na indústria de refratários, responsável por 11% do consumo mundial de cromita, o cromo é empregado principalmente na produção de tijolos para fornos metalúrgicos, refinamento de ligas de metais não-ferrosos, fabricação de vidros, etc. (SAMPAIO et al.,

2008; COSTA, 2014). De acordo com Sampaio et al. (2008), entende-se por refratários, materiais usados para resistir aos efeitos térmicos, físicos e químicos que ocorrem nos mais diversos seguimentos de indústrias.

Já na indústria química, que consome cerca de 8% da produção mundial de cromita, os produtos derivados de cromo têm sua principal aplicação na manufatura de pigmentos, compostos de tingimento, catalisadores, inibidores de corrosão, cromagem, produtos de acabamento, entre outros (GONÇALVES, 2001; SILVA e PEDROZO, 2001; SAMPAIO et al., 2008). Além disso, alguns fertilizantes contêm níveis apreciáveis de cromo, a exemplo dos nitrogenados, dos fosfatados e dos superfosfatados (SILVA e PEDROZO, 2001). A fotografia e a preservação da madeira também são exemplos de atividades consumidoras de cromo (MELLA, 2013; MIOR *et al.*, 2013; SOUSA e SANTOS, 2018).

No Brasil, uma das principais atividades que utilizam cromo na produção são os curtumes. O país, juntamente com a China, a Índia e o México, concentra uma das maiores produções de couro do mundo (ABREU, 2006). Segundo o Centro das Indústrias de Curtumes do Brasil – CICB, 2020, 244 curtumes movimentam a indústria do país, exportando mais de 2 bilhões de dólares ao ano para 80 países. O setor coureiro localiza-se principalmente nas regiões sul e sudeste. No ano de 2020, a participação dos estados da federação com exportações relevantes para a categoria foram: Rio Grande do Sul com 28,0%, São Paulo com 14,4%, Paraná com 13,9%, Goiás com 13,4%, Mato Grosso do Sul com 6,9% e 23,3% advinda de outros estados do país (CICB, 2020). No estado gaúcho, 60% das instalações curtumeiras se concentram na região do Vale do Rio dos Sinos (FIGUEIREDO-SGANDERLA *et al.*, 2010).

Apesar dos benefícios econômicos, a atividade dos curtumes é também conhecida pelos diversos impactos ambientais que causa, principalmente devido à vasta utilização de água, produtos químicos, geração de resíduos, emissões atmosféricas e elevados volumes de efluentes (BRÄCHER *et al.*, 2018; LAU, 2019). O processo de curtimento consiste em transformar a pele do animal em couro, e pode ser classificado em três tipos principais: mineral, vegetal e sintético (FERRARI e PACHECO, 2015). No curtimento mineral, o processo ao cromo ainda é o principal método utilizado mundialmente, devido ao seu potencial de produzir um couro de qualidade, com maior resistência ao calor e ao

desgaste, além de reduzir o tempo de curtimento (OLIVEIRA, 2008; FERRARI e PACHECO, 2015). Oliveira (2008) ainda destaca outros reagentes utilizados no curtimento em quantidades expressivas: tanino vegetal, taninos sintéticos, sais de alumínio e zircônio. De acordo com o Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE, 2020), cerca de 96,9% de toda a produção de couro no Brasil, é realizada por meio da utilização de cromo.

Os resíduos cromados são gerados em grandes volumes nas etapas de divisão, rebaixe e recorte de couros *wet-blue* (aqueles curtidos no cromo) (DIAS *et al.*, 2014). O lodo de curtume é outro subproduto dessa indústria, onde o cromo ocorre na forma trivalente, sendo que em condições de baixa acidez, esse elemento se apresenta pouco solúvel (TREBIEN *et al.*, 2011). O agravante ocorre diante de fatores como o descarte inadequado desses resíduos, escassez de áreas de despejo, elevado custo de manutenção e controle de aterros, entre outros (COSTA, 2009). Ferrari e Pacheco (2015) ressaltam que a destinação ideal é a reutilização do cromo residual na própria etapa de curtimento, dentro de seus processos produtivos, assim, eliminando ou minimizando eventuais problemas e custos decorrentes da gestão desses resíduos. Os autores ainda complementam que se esse procedimento for bem realizado, as indústrias de curtumes devem ter lançamento de cromo no ambiente, igual ou muito próximo de zero.

A região de Pelotas, no sul do estado, já teve grande participação na indústria de curtumes brasileira. Na época das charqueadas, iniciada por volta dos anos 1780, Pelotas teve a maior concentração de curtumes do estado e uma das maiores capacidades curtidoras de couros e de peles do país (BORGES, 2019); isso se deve ao fato de que a atividade que produzia o charque, também utilizava o couro como matéria prima. Com o fim da era das charqueadas, consequentemente a atividade curtumeira na cidade também foi diminuindo, apesar de hoje ainda existirem alguns curtumes na região.

No que se refere às demais atividades econômicas, Pelotas abrange os três setores econômicos. De acordo com o Conselho Regional de Desenvolvimento (COREDE, 2015), a cidade possui uma estrutura mais concentrada no segmento alimentício, com destaque para a grande produção de arroz. Outros produtos como fumo, cebola, pêssigo e laranja também são bastante produzidos na região.

Em algumas dessas culturas, a presença de cromo está principalmente ligada aos fertilizantes, utilizados para suprir micronutrientes necessários ao solo. Além dos nutrientes desejáveis, este produto possui em sua composição metais pesados tóxicos (GONÇALVES JÚNIOR *et al.*, 2000). Moraes (2009) esclarece que fertilizantes minerais podem conter metais pesados em concentrações variáveis e, quando adicionados aos solos, que já contêm teores de metais pesados, estes podem ultrapassar os limites toleráveis de concentração para solos e plantas. Apesar de geralmente os teores de metais pesados nos solos serem baixos, são conhecidos alguns solos de regiões do Brasil, Estados Unidos, Canadá e outros, que possuem teores naturalmente elevados.

Um estudo realizado por Gonçalves Júnior *et al.* (2000) verificou que a aplicação de fertilizantes com micronutrientes mostrou uma efetiva disponibilização de cádmio, chumbo e cromo para plantas de soja e, conforme aumento da dosagem das aplicações dos fertilizantes, maior era a concentração desses metais nas plantas. Em outro estudo feito por Lima *et al.* (2015), as concentrações de cádmio, chumbo e cromo encontradas em amostras de diferentes marcas de arroz comercializadas no estado do Rio Grande do Sul, encontraram-se abaixo das descritas nos limites máximos de tolerância em grãos de arroz indicados na Resolução da Diretoria Colegiada – RDC nº 42, de 2013 da Agência Nacional de Vigilância Sanitária – ANVISA, de 0,4 mg.K⁻¹ para o cádmio e de 0,2 mg.K⁻¹ para o chumbo. Para o cromo, a ANVISA declarou na Agenda Regulatória no ano de 2020, que é mais eficiente tratar os problemas identificados com o contaminante em alimentos na perspectiva de uma revisão mais ampla da legislação, inclusive da RDC nº 42 de 2013. Sendo assim, atualmente não há uma norma brasileira descrevendo limites máximos de tolerância do metal cromo em alimentos. No entanto, diante do exposto é importante salientar que a ingestão contínua e em altas concentrações de metais pesados tóxicos para os seres humanos pode causar efeitos graves à saúde (MELNIK, 2016).

Por fim, além dos fertilizantes minerais e corretivos, outras fontes antrópicas como aplicação de fungicidas, dessecantes, lodo de esgoto, restos da produção intensiva de animais, queima de combustíveis fósseis, entre outros, podem adicionar metais pesados tóxicos em áreas agrícolas (MORAES, 2009).

4.2.2 Toxicidade do cromo

O nível de toxicidade do cromo depende da espécie química em que se encontra. As formas mais usuais de oxidação do cromo (III e VI) apresentam características distintas quanto às propriedades geoquímicas, toxicológicas e biológicas (BRANDÃO, 2013). Enquanto o Cr (III) em uma faixa estreita de concentração é considerado um nutriente essencial à algumas rotas metabólicas, o Cr (VI) é tóxico para homens, animais e plantas por ser acumulativo e carcinogênico (MONTEIRO *et al.*, 2002).

O Cr (III) é a forma menos móvel e menos tóxica do metal, encontrado principalmente ligado à matéria orgânica no solo e em ambientes aquáticos, normalmente apresentando-se na forma de cátion (Cr^{3+}) e ânion (CrO_2) (CASTILHOS *et al.*, 2001; SAMANTARAY *et al.*, 2014; SOUSA e SANTOS, 2018). É considerado um nutriente essencial ao metabolismo humano, agindo principalmente na ativação da insulina; a sua falta pode afetar o coração e ocasionar transtornos metabólicos e diabetes (KORZENOWSKI, 2007; HEREDIA, 2017). Além disso, o Cr (III) está presente em baixas concentrações em diversos alimentos como carnes, vegetais, leguminosas, cereais e oleaginosas. As Instruções Dietéticas de Referência (IDR) publicadas no ano de 2019 apontam uma ingestão adequada de 25 $\mu\text{g}/\text{dia}$ para mulheres e 35 $\mu\text{g}/\text{dia}$ para homens adultos, e de 11 a 15 $\mu\text{g}/\text{dia}$ para crianças de 1 a 8 anos de idade (DIETARY REFERENCE INTAKES, 2019). Entretanto, Silva e Pedrozo (2001) alertam que alguns alimentos ácidos podem apresentar concentrações mais altas de cromo quando em contato com superfícies de aço inoxidável, seja durante a sua colheita, processo ou preparação; isso ocorre devido às condições de lixiviação do material. Assim, é necessário evidenciar que mesmo a forma trivalente (Cr (III)) pode se tornar tóxica ao ser humano se for absorvida em altas doses.

O Cr (VI) é considerado a forma mais perigosa à saúde dos seres humanos e ao meio ambiente. Dentre as formas geralmente encontradas na natureza estão os cromatos e dicromatos (CrO_4^{2-} e $\text{Cr}_2\text{O}_7^{2-}$), os quais são tóxicos e mutagênicos, solúveis em uma ampla faixa de pH, apresentando maior mobilidade no ecossistema (CASTILHOS *et al.*, 2001; SAMANTARAY *et al.*, 2014; SOUSA e SANTOS, 2018). O estado de oxidação

hexavalente do cromo raramente ocorre de forma natural, tendo origem basicamente por fontes antropogênicas o que o torna um micropoluinte (COSTA, 2014).

Para o homem, a exposição aguda ao metal em sua forma hexavalente (Cr (VI)) pode ser extremamente alarmante. Por possuir propriedades carcinogênicas e mutagênicas, Dermou *et al.* (2007) complementam que esta é uma substância que facilmente se acumula no organismo dos seres vivos. Ainda, é propensa ao desenvolvimento de alergias, de dores e de úlceras estomacais, de problemas respiratórios, de enfraquecimento do sistema imunológico, de danos aos rins e ao fígado, de alterações genéticas e câncer de pulmão, podendo levar a morte em certos casos (CASTRO, 2006). A *International Agency for Research on Cancer* – IARC (1990) classifica o cromo hexavalente como carcinogênico para humanos, ou “Grupo 1”, categoria utilizada somente quando há evidências suficiente de carcinogenicidade em humanos. Além disso, o Cr (VI) é 100 vezes mais tóxico e 1000 vezes mais mutagênico que o Cr (III) (SAMANTARAY *et al.*, 2014).

4.2.3 O cromo como poluente de ambientes aquáticos

Durante os últimos anos, indústrias brasileiras dos mais diversos segmentos vêm adotando práticas e tecnologias alternativas menos poluidoras e que otimizem o aproveitamento de matérias-primas. Contudo, a disposição de grandes quantidades de resíduos industriais no meio ambiente continua sendo um problema grave (PERALTA, 2014).

Após a entrada das espécies metálicas no ecossistema, estas passam a infligir danos à medida que se movem de uma camada trófica ecológica para outra (VOLESKY, 2001). De acordo com Melville e Burchett (2002), os metais tendem a se acumular em plantas e animais aquáticos por meio da superfície do corpo, por vias respiratórias e pela ingestão, criando condições de toxicidade e potencialmente causadores de efeitos letais e subletais em diversos componentes da biota aquática. Os metais pesados prejudicam fitoplâncton, zooplâncton, comunidades bentônicas, peixes, aves marinhas e demais vertebrados aquáticos, chegando, desta maneira, aos seres humanos (COELHO E FONSECA, 1986). Nestes últimos, as principais formas de contaminação por metais

pesados são por via dérmica, ingestão e inalação (HEREDIA, 2017). Percebe-se assim, que a presença desses metais em ambientes aquáticos interfere não somente na qualidade da água, mas igualmente no ecossistema presente e, posteriormente, na saúde humana.

No ambiente aquático, podem ser distinguidos quatro compartimentos abióticos: o material em suspensão, os sedimentos, as águas superficiais e as águas intersticiais, sendo que os quatro possuem uma forte interação entre si (LEITE, 2002). Do Carmo *et al.* (2011) relatam que os sedimentos são os maiores repositórios de metais pesados em ambientes aquáticos, mesmo quando as concentrações na água são baixas ou inexpressivas. Silva e Pedrozo (2001) corroboram, afirmando que o cromo, em água superficial, pode se apresentar na forma de material particulado ou depositado nos sedimentos. Deste modo, a contaminação de sedimentos serve como um importante indicador de poluição ambiental. No que se refere à biota aquática, esta também é capaz de acumular metais pesados numa concentração muito acima da encontrada na coluna d'água (DO CARMO *et al.*, 2011).

Assim sendo, estudos vêm sendo realizados com frequência com relação à remoção de metais pesados nesses meios. Martins (2004) afirma estarmos na “idade de remoção do metal”, pois, inicialmente, a qualidade da água era avaliada somente por meio dos sentidos físicos da visão, paladar e olfato. Somente mais tarde, com o desenvolvimento das ciências biológica, química e médica, outros métodos de aferição da qualidade da água foram conhecidos.

Atualmente, o Índice de Qualidade de Água (IQA) padronizado e mundialmente utilizado, elaborado no ano de 1970 pela *National Sanitation Foundation* (NSF) dos Estados Unidos da América (EUA) utiliza nove parâmetros de qualidade: demanda bioquímica de oxigênio (DBO), oxigênio dissolvido (OD), coliformes fecais, nitratos, pH, temperatura, sólido totais dissolvidos, fosfato total e turbidez (DONADIO *et al.*, 2005; CASTRO, 2006; FERREIRA *et al.*, 2015). O índice varia de zero (0) (pior qualidade) a cem (100) (melhor qualidade).

Devido a ampla utilização na indústria, a dispersão de cromo no meio ambiente tem sido cada vez maior. Segundo Silva e Pedrozo (2001), algumas das principais formas de liberação do metal e seus compostos para o meio ambiente são por meio de emissões,

incineração de resíduos, fertilizantes, lançamento de efluentes, etc. (Figura 3). Desta forma, Castro (2006) complementa que a contaminação humana e de outros organismos por cromo pode ocorrer pela inalação do ar, pela ingestão de alimentos, pela água e pelo contato com a pele.

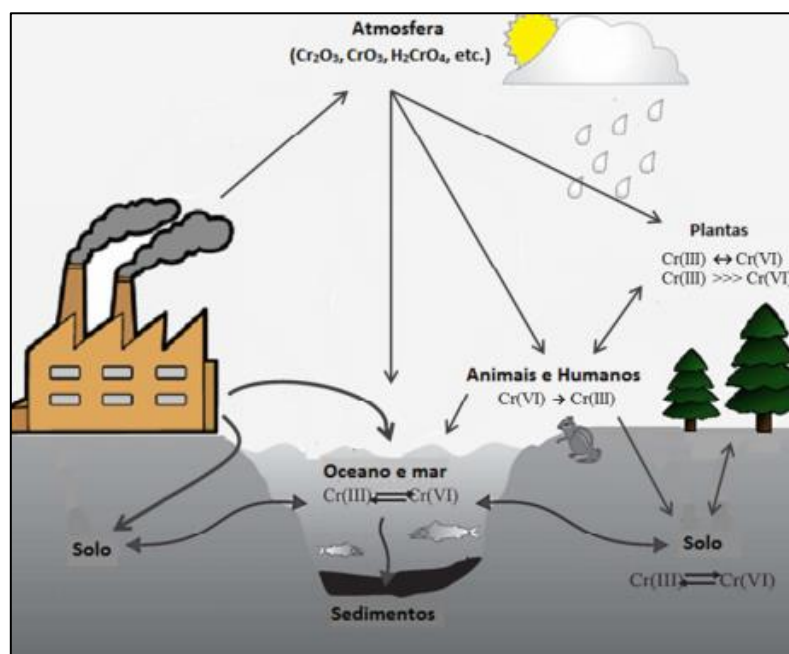


Figura 3 - Representação esquemática do ciclo de contaminação ambiental por cromo.
Fonte: COSTA (2014).

Nos processos ou fontes de contaminação, embora o cromo apareça nas formas trivalente, hexavalente e elementar, a maioria dos compostos solúveis de cromo, em águas de superfície, podem estar presentes como cromo hexavalente, sendo uma pequena parte na forma trivalente. Entretanto, o que geralmente acontece, é a redução do cromo (VI) para cromo (III) devido à matéria orgânica presente na água (SILVA e PEDROZO, 2001). Métodos convencionais como escavação ou bombeamento do material contaminado, adição de redutor químico, precipitação seguida de sedimentação, troca iônica e adsorção, são alguns dos tratamentos utilizados em solos e ambientes aquáticos contaminados com cromo hexavalente (MATOS *et al.*, 2008).

Segundo a Resolução nº 357, do Conselho Nacional de Meio Ambiente (CONAMA, 2005), o valor máximo permitido de cromo em águas doces é de $0,05 \text{ mg.L}^{-1}$, corroborando com a Portaria nº 2.914 do Ministério da Saúde (BRASIL, 2011), que

regulamenta o nível de cromo em água destinada ao consumo humano e seu padrão de potabilidade, e indica o mesmo valor para o metal. Já a concentração permitida em lançamento de efluentes não deve ultrapassar $1,0 \text{ mg.L}^{-1}$ para a forma trivalente (cromo (III)), e $0,1 \text{ mg.L}^{-1}$ para a forma hexavalente (cromo (VI)), segundo a Resolução nº 430 do Conama (CONAMA, 2011).

Em um estudo que objetivava avaliar a presença de cromo e outros metais em dois rios localizados no estuário de São Vicente em São Paulo, Do Carmo *et al.* (2011) encontraram nas amostras de água, uma concentração de cromo bem acima da indicada na resolução Conama, e ainda uma elevada acumulação do metal nas brânquias de peixes paratis, um dos mais abundantes e consumidos pela população da região. Outro estudo realizado por Leite (2002) avaliou as concentrações de alguns metais em diferentes compartimentos do reservatório de Salto Grande, em Americana, São Paulo. Os resultados para cromo na água não ultrapassaram $0,051 \text{ mg.L}^{-1}$, enquanto que nos sedimentos chegaram a $152,0 \text{ mg.kg}^{-1}$, classificando este último compartimento como altamente poluído.

Perante o exposto, a poluição por metais pesados e suas implicações para a saúde pública e o meio ambiente levam a um crescente interesse da comunidade científica para desenvolvimento de abordagens de biotecnologia ambiental.

4.3 Biorremediação

Nas últimas décadas, devido à crescente conscientização a respeito da presença de metais pesados no ambiente e suas consequências ecológicas, busca-se conhecer e aperfeiçoar tecnologias que visem atenuar os efeitos desses poluentes. As técnicas que utilizam processos físicos e químicos são capazes de remover uma vasta gama de contaminantes, porém tendem a possuir alto custo, elevado consumo de energia, gerarem grande quantidade de resíduos e lodos tóxicos difíceis de descartar, além de, em muitos casos, não serem totalmente eficientes e necessitarem complemento de outro método (GURIA *et al.*, 2014; KANG *et al.*, 2016). Dentre os métodos convencionais de tratamento de ambientes contaminados com metais, estão a precipitação química e filtração, oxidação ou redução química, tratamento eletroquímico, troca iônica, osmose

reversa, adsorção, evaporação, etc. (VOLESKY, 2001). A Tabela 1 apresenta algumas vantagens e desvantagens de alguns dos métodos tradicionais de remoção de metais pesados.

Tabela 1 – Alguns métodos convencionais de remoção de metais e suas vantagens e desvantagens.

Método	Vantagem	Desvantagem
Precipitação química e filtração	Simple e de baixo custo	Separação difícil em concentrações altas, não muito efetiva, além de produzir lama
Oxidação e redução química	Mineralização	Requer agentes químicos
Tratamento eletroquímico	Recupera os metais	Custo elevado para altas concentrações
Troca iônica	Efetivo, possível recuperação dos metais	Sensível à presença de partículas, resinas de custo elevado
Osmose reversa	Efluente puro	Custo elevado, altas pressões
Adsorção	Sorventes convencionais	Não efetivo para alguns metais
Evaporação	Efluente puro	Requer fonte de energia, com custo elevado e produz lama

Fonte: Adaptado de Pino (2005).

Mediante o exposto, abordagens biológicas de remediação têm se apresentado mais econômicas e menos nocivas ao meio ambiente.

De Lorenzo (2018) relata que estudos científicos sobre a biodegradação microbiológica de moléculas orgânicas potencialmente complexas iniciaram na década de 1950 por Irwin Clyde Gunsalus, que reconheceu que micro-organismos isolados da natureza poderiam executar reações que até o momento eram consideradas possíveis somente por métodos organoquímicos. O autor ainda narra que, embora já conhecido o imenso potencial dos micro-organismos na degradação/remoção de poluentes, a aplicabilidade de ações remediadoras com estes só teve a atenção do público em grandes acidentes ambientais na década de 1980, a exemplo do derramamento de óleo do petroleiro Exxon Valdez.

Assim, a biorremediação surge como uma ferramenta natural totalmente inovadora e vantajosa. É definida como a transformação de contaminantes ambientais em

substâncias inertes ou menos tóxicas, por meio de processos biológicos que contam com o metabolismo de organismos na degradação molecular de compostos, possibilitando que estes utilizem os poluentes como fonte de carbono e energia (YAKUBU, 2007; ANDREAZZA *et al.*, 2013; DZIOŃEK *et al.*, 2016). Além de ser ambientalmente correta por utilizar organismos vivos na descontaminação, esta técnica é eficaz e apresenta baixo custo de execução, não é invasiva, exige mão de obra reduzida e é considerada uma solução permanente. Volesky (2003) indica que entre os materiais de origem biológica aplicados na biorremediação, estão os micro-organismos (bactérias, fungos e microalgas), os vegetais macroscópicos (algas, gramíneas, plantas aquáticas), ou até mesmo subprodutos agrícolas e industriais de origem vegetal, como cascas, bagaços e sementes.

Outra vantagem da biorremediação, levando em conta o local de aplicação é a possibilidade de ser executada de duas formas: no tratamento *ex situ*, no qual ocorre a remoção da área contaminada para tratamento em local especialmente preparado, mais comumente aplicado à remediação de solos. Já o tratamento *in situ* é feito no próprio local da contaminação, tornando o processo mais atrativo e economicamente viável (KAVAMURA; ESPOSITO, 2010; DZIOŃEK *et al.*, 2016). No entanto, Couto *et al.* (2010) relatam que os desafios dos experimentos de biorremediação, estão em obter resultados de campo tão bons quanto os laboratoriais.

Um determinado local contaminado pode exigir uma combinação de métodos para que seja alcançada a remediação ideal. Deste modo, para a escolha de qualquer técnica de biorremediação, deve-se considerar alguns critérios, como a natureza e a biodisponibilidade do contaminante, as características do local, as políticas ambientais, o ambiente deve apresentar condições satisfatórias para manter o crescimento dos micro-organismos e plantas, e principalmente, o custo total da biorremediação deve ser menor do que as tecnologias convencionais (FRUTOS *et al.*, 2012; ANDREAZZA *et al.*, 2013). Além dos critérios de seleção do método apropriado, alguns critérios de desempenho determinam a eficácia da biorremediação, como a concentração de oxigênio e de nutrientes, de temperatura, de pH e de outros fatores abióticos (AZUBUIKE *et al.*, 2016).

O processo de biorremediação com a utilização de micro-organismos pode ser classificado de três formas, onde em cada uma, a população microbiana passa a utilizar

os compostos orgânicos poluentes como fonte de carbono, ocasionando assim, a redução das concentrações dessas substâncias no meio. A primeira, a **atenuação natural**, consiste na redução dos contaminantes do ambiente pelos micro-organismos vivos, sem qualquer interferência humana (JOUTEY *et al.*, 2013). A principal vantagem é que, mesmo sem o acréscimo de nutrientes ou a adequação das condições ambientais, a redução pode ocorrer de maneira eficiente e contínua devido à adaptação natural da microbiota nativa. Contudo, esse processo costuma durar de meses a anos (ANDRADE *et al.*, 2010). A segunda, **bioestimulação**, também denominada de atenuação natural acelerada, é uma opção de remediação *in situ* onde busca-se principalmente estimular o crescimento da população microbiana nativa utilizando-se da adição de compostos como oxigênio, hidrogênio e nutrientes ao ambiente contaminado. A adição de nutrientes e otimização das condições ambientais proporcionam um aumento do crescimento e da atividade metabólica dos micro-organismos, aumentando, consequentemente, a velocidade e a porcentagem de biodegradação do poluente. Ainda, se tratando da necessidade de uma biodegradação rápida e efetiva, a terceira, denominada **bioaugmentação**, é caracterizada pelo aumento da microbiota nativa por meio da inoculação e adição de micro-organismos exógenos. Geralmente é aplicada quando a comunidade microbiana nativa está presente em pequena quantidade, ou até mesmo, ausente (ANDRADE *et al.*, 2010; JOUTEY *et al.*, 2013).

A biorremediação ainda oferece uma ampla variedade de técnicas de remoção de poluentes que vêm sendo desenvolvidas nos últimos anos. Kavamura e Esposito (2010) apresentam algumas das principais, ilustradas na Tabela 2.

Tabela 2 – Técnicas de biorremediação e seus princípios.

Técnica	Princípio
Atenuação natural	Existência de organismos autóctones capazes de degradar os contaminantes do local
Bioaumentação	Adição de micro-organismos exógenos capazes de degradar os contaminantes resistentes à microbiota nativa
Bioestimulação	Adição de nutrientes que estimulam o crescimento e desenvolvimento de micro-organismos locais, aumentando sua atividade metabólica, elevando assim a degradação do contaminante
Biolixiviação	Micro-organismos específicos como <i>Thiobacillus ferrooxidans</i> e <i>T. thiooxidans</i> promovem a solubilização dos metais
Biofiltros	Aplicação de micro-organismos em filtros para a descontaminação de águas e resíduos
Biopilhas	O material a ser tratado é empilhado sobre um sistema aerado e os nutrientes são adicionados a ele
Biossorção	Adsorção de metais e outros íons de uma solução aquosa pelo uso de materiais biológicos
Bioventilação	Aeração do solo para remover os compostos voláteis e estimular a atividade microbiana degradadora dos contaminantes orgânicos
Compostagem	Nutrientes são misturados ao solo aumentando a aeração e a ativação de micro-organismos autóctones
Fitorremediação	Uso de plantas na descontaminação de ambientes terrestres ou aquáticos
Landfarming	O solo é organizado em pilhas e revertido periodicamente por práticas agrícolas, assim, estimulando a degradação dos contaminantes por micro-organismos locais
Rizoremediação	É a quebra de compostos orgânicos na zona da rizosfera, aumentando a atividade microbiana e, conseqüentemente, a degradação de contaminantes

Fonte: Adaptado de Kavamura e Esposito (2010).

4.3.1 Mecanismos de biorremoção

A biorremoção é o processo no qual poluentes como metais, são degradados por materiais de origem biológica. Com a utilização de bactérias, isso só é possível devido a capacidade de resistência e tolerância à presença de íons metálicos, uma vez que micro-organismos apresentam uma variedade de mecanismos que determinam a entrada e a saída de metais nas células (GADD, 2009). Bruins *et al.* (2000) apontam alguns desses mecanismos de resistência, como exclusão por barreira permeável, sequestro intracelular e extracelular, transporte ativo, redução da sensibilidade ao metal, entre outros.

A absorção se trata da incorporação de uma substância de um estado para outro diferente, a exemplo de um líquido sendo absorvido por um sólido; já a adsorção é a adesão física ou ligação de íons e moléculas para a superfície de uma outra molécula. Assim sendo, a biossorção é uma subcategoria da adsorção, onde o absorvente é um material de origem biológica (ACIOLY, 2014).

A biossorção é ainda, um dos diferentes meios que possibilitam que os micro-organismos realizem a remoção de um metal pesado de um ambiente contaminado, sendo um dos métodos com mais eficácia na biorremediação, juntamente com a bioacumulação (CHOJNACKA, 2010; SILVA, 2011). Nesses dois processos, quando um produto químico solúvel (sorbato) está presente em um ambiente aquoso juntamente com a biomassa (biossorvente), este produto interage com as células do material biológico. A principal diferença está no fato de que, na biossorção, a adsorção do produto limita-se à superfície da parede celular, enquanto que na bioacumulação, o poluente acumula-se também no interior da célula (CHOJNACKA, 2010).

A **biossorção** pode ser definida como o processo no qual micro-organismos ou biomassa vegetal são utilizados para retenção, remoção ou recuperação de metais pesados de um ambiente líquido (VOLESKY, 2001). É um processo físico-químico rápido, reversível e passivo, ocorre essencialmente na parede celular, podendo ser realizado por organismos ativos e inativos (ACIOLY, 2014; FERNÁNDEZ *et al.*, 2018).

Nesta técnica, Conicelli (2017) explica que, devido à grande afinidade do adsorvente/biomassa pelas espécies do sorbato, este é atraído pelo sólido por diferentes mecanismos e o processo continua até que o equilíbrio entre os íons adsorvidos e os

íons dissolvidos, seja atingido. Os mecanismos envolvidos no processo de bioadsorção (Tabela 3) diferem quantitativa e qualitativamente, de acordo com as espécies utilizadas, origem da biomassa e seu processamento (SILVA *et al.*, 2014).

Tabela 3 – Mecanismos de bioadsorção e suas características.

Mecanismo	Adsorção	Características
Complexação	Química	É a formação de um complexo a partir da associação de duas ou mais espécies
Coordenação	Química	Quando o átomo central de um complexo está unido a outros átomos por ligações covalentes
Quelação	Química	Complexos formados por um composto orgânico são unidos ao metal por pelo menos dois sítios
Troca iônica	Química	É definida como o intercâmbio de íons que se encontram formando espécies moleculares
Adsorção	Física	Sorção através da superfície do tecido orgânico
Microprecipitação	Física	Quando existe alguma variação nas condições ambientais próximas da superfície do sorvente (biomassa), levando à precipitação

Fonte: Adaptado de Silva *et al.* (2014) e Conicelli (2017).

Bioadsorventes podem ser bactérias, fungos, algas, resíduos industriais e agrícolas e outros materiais polissacarídeos (ACIOLY, 2014). Por serem um grupo de materiais facilmente coletados no meio ambiente e também fonte de produção de biomassa com baixo custo, tornam o processo da bioadsorção uma alternativa inovadora e vantajosa (CHOJNACKA, 2010).

No entanto, para um material de origem biológica ser utilizado como bioadsorvente, é necessário que apresente algumas características, como seletividade frente à diferentes espécies metálicas, captura eficiente e rápida do metal, separação rápida do bioadsorvente da solução, ter baixo custo e ser reutilizável, entre outras (SILVA *et al.*, 2014). Alguns fatores operacionais também influenciam diretamente na bioadsorção, são eles: pH, força iônica, concentração da biomassa, temperatura, tamanho da partícula, presença de nutrientes outros íons na solução, etc. (PINO, 2005).

Conicelli (2017) esclarece que o pH da solução é um dos fatores que mais afetam a sorção de metais, sendo que a adsorção aumenta com o aumento do valor do pH; contudo, valores extremos podem danificar a estrutura da biomassa e alterar o sítio ativo de ligação. Quanto à concentração metálica, conforme seu aumento, a capacidade de bioadsorção aumenta e a eficiência da bioadsorção diminui. Já a faixa de temperatura para bioadsorção está normalmente situada entre 10 e 70°C (SILVA *et al.*, 2014). Pino (2005) afirma que dentre os sistemas de aplicação de processos de bioadsorção, os mais usuais são as colunas de leito fixo, os sistemas de leito fluidizado, ou uma combinação dos dois, e a bioflotação.

Ao final do processo da bioadsorção, a biomassa carregada com o sorbato é regenerada e reutilizada, sendo o sorbato recuperado por um eluente; este procedimento deve objetivar basicamente não danificar nem diminuir a capacidade de bioadsorção da biomassa, para que assim possa ser aplicada em um novo ciclo (DEMIRBAS, 2009; CHOJNACKA, 2010). A Figura 4 ilustra o processo de remoção de metais por meio da bioadsorção.

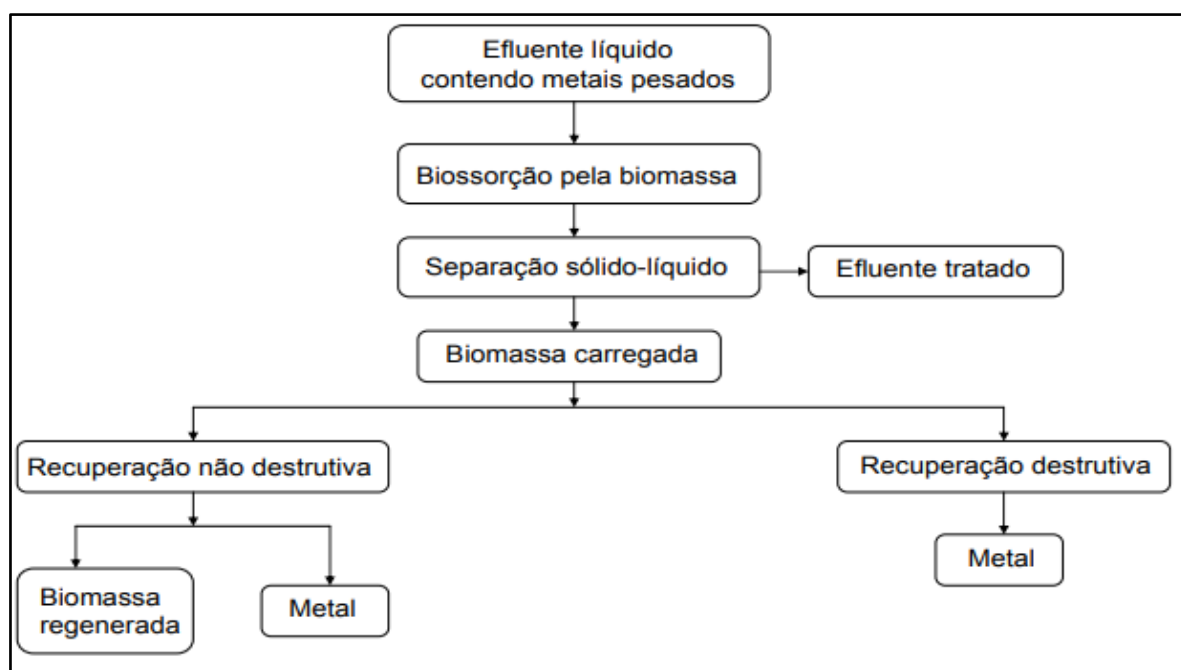


Figura 4 - Representação esquemática da bioadsorção de metais em solução aquosa.
Fonte: CALFA e TOREM (2007).

A **bioacumulação** é definida como a acumulação intracelular de um sorbato por uma biomassa. Ocorre em dois estágios: o primeiro é a própria biossorção, o seguinte é mais lento e conta com a condução do sorbato através da parede celular e membrana plasmática até o interior da célula, e isso acontece normalmente por meio de um sistema de transporte ativo (CHOJNACKA, 2010). É um processo complexo por depender de fatores que podem influenciar no crescimento do organismo utilizado, tais como pH, composição do meio de cultura, temperatura, presença de elementos tóxicos, etc. (SILVA, 2011).

Por ser um mecanismo dependente do metabolismo, só ocorre com biomassa ativa, estando associado ao sistema de defesa dos micro-organismos, que reagem na presença de metais tóxicos (PINO, 2005). Sendo assim, o processo de bioacumulação é suportado devido à síntese de metalotioneínas (proteínas de baixo peso molecular), que se ligam aos metais tornando-os biologicamente indisponíveis, excluídos das reações metabólicas (SILVA, 2011).

A bioacumulação é ainda um mecanismo de custo mais elevado e remoção mais demorada quando comparada com a biossorção, justamente por depender do metabolismo dos organismos e da manutenção das células (ACIOLY, 2014; ALMEIDA, 2018). Apesar de possuir a vantagem de acumular maiores quantidades de metais, com a elevação da concentração da substância tóxica ao longo do tempo de processo, o agente biológico atinge a saturação, podendo interromper o metabolismo e resultar a morte do organismo (VIJAYARAGHAVAN e YUN, 2008).

A Tabela 4 apresenta uma comparação entre a biossorção e a bioacumulação, considerando algumas características.

Tabela 4 – Comparação entre a bioissorção e a bioacumulação.

Característica	Bioissorção	Bioacumulação
Custo	Normalmente baixo devido à maioria dos bioissorventes serem resultantes de resíduos industriais e agrícolas	Geralmente elevado devido a necessidade de manutenção das células vivas
pH	O pH da solução influencia fortemente a capacidade de absorção da biomassa, porém o processo pode ser feito sob ampla faixa de pH	As células vivas são fortemente afetadas sob condições extremas de pH
Temperatura	Há estudos que relatam melhora na absorção com o aumento da temperatura	A temperatura tem forte influência no processo
Manutenção/armazenamento	Fácil armazenamento e uso	É necessária energia metabólica externa para manutenção da biomassa
Grau de absorção	Muito alta, visto que algumas biomassas absorvem quantidades de substâncias tóxicas quase tão alto quanto o seu peso seco	As células são sensíveis à altas concentrações tóxicas e a remoção é normalmente baixa
Regeneração e reutilização	Alta possibilidade de regeneração do bioissorvente, podendo ser reutilizado	Devido a acumulação dos metais tóxicos ser intracelular, as chances são limitadas
Velocidade	Rápida	Lenta
Número de estágios	Estágio único	Dois estágios (bioissorção+bioacumulação)

Fonte: Adaptado de Acioly (2014).

4.4 Macrófitas aquáticas

Macrófitas aquáticas são vegetais que habitam desde brejos até ambientes verdadeiramente aquáticos, e variam desde microalgas até angiospermas (ESTEVES, 2011). Andrade *et al.* (2007) definem como plantas cujas partes fotossinteticamente

ativas estão durante o ano todo ou por alguns meses do ano, submersas em água ou flutuantes em sua superfície. Segundo Esteves (2011), as macrófitas distribuem-se nos seguintes grupos ecológicos quanto aos seus biótipos:

- Macrófitas aquáticas emersas: plantas enraizadas no sedimento e com folhas fora da água. Ex: *Typha* spp., *Sagittaria* spp.
- Macrófitas aquáticas com folhas flutuantes: plantas enraizadas no sedimento com folhas flutuando na superfície da água. Ex: *Nymphaea* spp., *Nymphoides* spp.
- Macrófitas aquáticas submersas enraizadas: plantas enraizadas no sedimento, que crescem totalmente submersas na água. Ex: *Myriophyllum* spp., *Egeria* spp.
- Macrófitas aquáticas submersas livres: plantas que permanecem flutuando submersas na água em locais de pouca turbulência. Ex: *Utricularia* spp., *Ceratophyllum* spp.
- Macrófitas aquáticas flutuantes: plantas que flutuam na superfície da água. Ex: *Pistia* spp., *Eichhornia* spp.

A Figura 5 ilustra as classificações de macrófitas quanto ao seu biótipo.

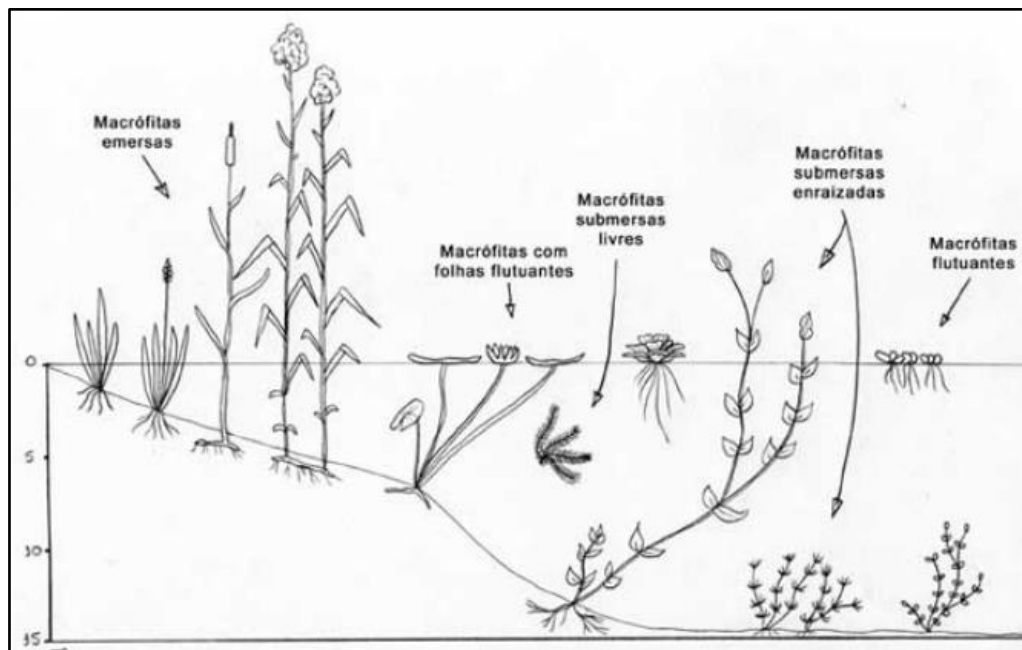


Figura 5 - Grupos de macrófitas aquáticas.
Fonte: ESTEVES (2011).

As macrófitas aquáticas possuem grande facilidade de adaptação e amplitude ecológica, fato que possibilita que uma mesma espécie seja capaz de colonizar diferentes tipos de ambientes. Além disso, grande parte delas é capaz de suportar longos períodos de seca, transformando-se em formas terrestres com modificações anatômicas, fisiológicas e fenotípicas (ESTEVES, 2011). Estudos em todo o mundo mostram que a utilização de macrófitas aquáticas, submersas ou flutuantes, é uma estratégia eficiente de descontaminação de sedimentos e resíduos, com alta capacidade de melhoria da qualidade da água e remoção de cargas pesadas de nutrientes e metais tóxicos (SRIVASTAVA *et al.*, 2008; RIZZO *et al.*, 2012).

Barreto (2011) salienta que para conhecer as espécies de macrófitas mais indicadas para remediar determinado poluente ou grupo de poluentes, existem dois métodos: o primeiro deles é testar a capacidade de várias espécies de plantas em remover um poluente. O segundo método é buscar conhecer as plantas que ocorrem naturalmente em ambientes poluídos.

Demarco (2016) realizou estudo que identificou macrófitas aquáticas existentes arroio Santa Bárbara, são elas: *Sagittaria montevidensis*, *Lemna valdiviana*, *Pistia stratiotes*, *Enydra anagallis*, *Hymenachne grumosa* e *Hydrocotyle ranunculoides*.

4.4.1 *Hydrocotyle ranunculoides*

Hydrocotyle ranunculoides (Figuras 6a e 6b) é uma macrófita aquática flutuante, pertencente à família Araliaceae. De nome popular chapéu-flutuante, chapéu-de-sapo, caiuruçu-de-brejo, entre outros, é uma espécie nativa muito comum nas Américas do Sul e Central, e que tem presença natural e abundante no arroio Santa Bárbara, área selecionada para este estudo (HUSSNER e LÖSCH, 2007; BASÍLICO *et al.*, 2015; DEMARCO *et al.*, 2018).

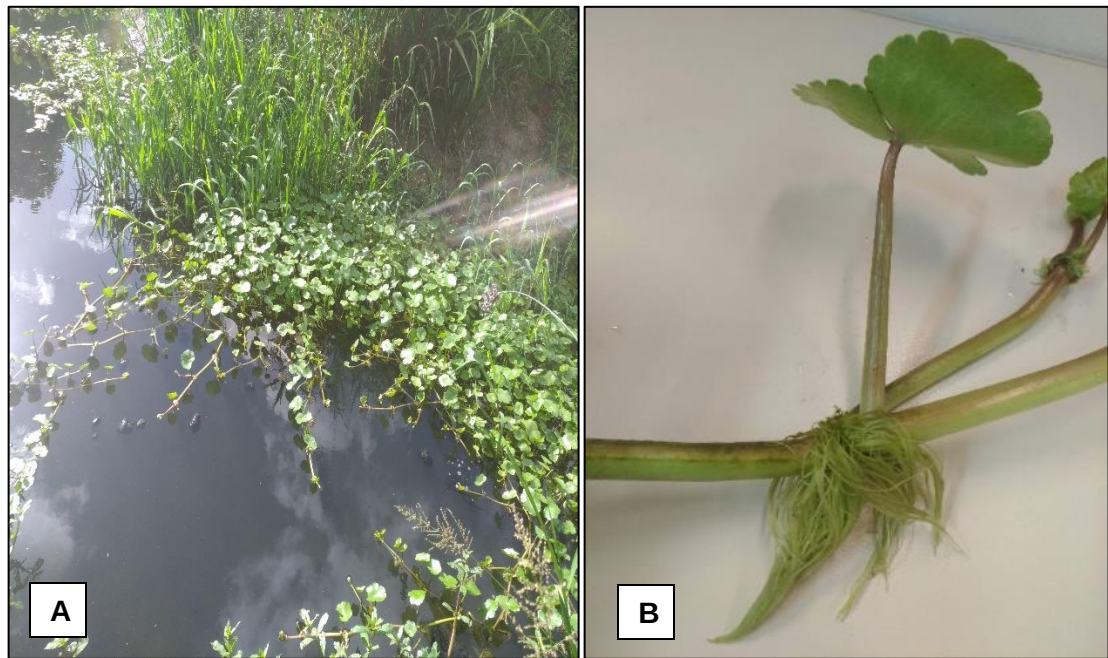


Figura 6 - Macrófita *Hydrocotyle ranunculoides*: (a) no arroio Santa Bárbara no dia de coleta e (b) em laboratório após coleta.

Basílico *et al.* (2017) relatam que esta macrófita pode crescer enraizada nas margens, mas também como planta flutuante, cobrindo os cursos d'água. Em condições favoráveis, apresenta significativo crescimento e, às vezes, acaba causando problemas para o uso humano de corpos d'água (a navegação, por exemplo) por formarem grandes tapetes flutuantes de vegetação (HUSSNER e LÖSCH, 2007).

O *Centre for Agriculture and Bioscience International*, CABI, caracteriza esta macrófita como uma planta aquática estolonífera, de caule rastejante com nós com intervalos entre 40 e 150 mm cada um, com crescimento de raízes filiformes em cada nó, folhas emergentes de caules vindos dos nós dos estolões horizontais, a matéria foliar estende-se até 40 cm acima da superfície da água, e o entrelaçado de raízes e caules podem afundar até 50 cm na água. As folhas não apresentam mais que 1 mm de espessura, e o tamanho destas varia de 20 a 45 mm e 100 a 150 mm, dependendo da disponibilidade de nitrato (CABI, 2017).

Esta espécie foi introduzida por meios comerciais para áreas fora da sua distribuição nativa, e desde então se naturalizou em diversos países ao redor do mundo, como Austrália, Japão, Israel, Grã-Bretanha, Holanda, França, Portugal, Espanha, Itália, Bélgica, entre outros. Logo, *H. ranunculoides* é considerada uma erva daninha aquática,

principalmente na Europa (HUSSNER e LÖSCH, 2007; CABI, 2017). Como muitas ervas daninhas aquáticas, possui uma série de características: altas taxas de crescimento, adaptação às condições de nutrientes prevalentes, alta propagação vegetativa, resistência ao controle químico, entre outras. Como exemplo, grandes infestações em canais do Reino Unido já foram observadas, com cobertura de 100% por 25 km de extensão ou mais, o que acabou gerando impactos severos sobre a biodiversidade local (CABI, 2017).

Desta forma e, com base no estudo de Demarco (2018), é possível inferir que essa planta apresenta uma capacidade natural de remediação do arroio Santa Bárbara.

Ainda assim, existem poucos estudos que avaliam a capacidade de *H. ranunculoides* tratar águas residuais ou para a remediação *in situ* de corpos d'água poluídos (BASÍLICO *et al.*, 2017). Contudo, no estudo de Rizzo *et al.* (2012) que avalia a capacidade de remediação de efluentes de confinamento de gado com alta carga orgânica, a utilização da espécie se mostrou adequada devido a sua tolerância a uma ampla gama de condições ambientais, pela capacidade de produzir biomassa rapidamente, bem como pelo potencial de remoção de diversos contaminantes e estabilização de pH. Quispe *et al.* (2019), ao utilizarem *H. ranunculoides* no funcionamento de uma estação de tratamento de águas residuais municipais no distrito de Sicaya, no Peru, encontraram uma taxa de eficiência de 81,53% para remoção de DQO (Demanda Química de Oxigênio) e de 79,2% para remoção de coliformes fecais.

Custodio *et al.* (2020) em estudo onde aplicaram *H. ranunculoides* como biofiltros em lagoas de estabilização, indicaram que a espécie possui alta capacidade de armazenar e remover metais como zinco, cobre e ferro. Além disso, a imobilização destes metais, juntamente com o cromo e o manganês, também foi encontrada na pesquisa de Demarco *et al.* (2018), utilizando espécies de *H. ranunculoides* encontradas no arroio Santa Bárbara.

Outras espécies do gênero *Hydrocotyle* já foram testadas quanto à fitorremediação de metais pesados em ambientes aquáticos, por meio de técnicas como rizofiltração e fitoacumulação (LONE *et al.*, 2008; YANG *et al.*, 2017). Yang *et al.* (2017) sugerem ainda que espécies deste gênero possuem capacidade de acumulação de metais e alta produção de biomassa, apresentando potencial para uso em fitorremediação.

4.4.2 Rizosfera

O solo, como qualquer outro ecossistema, é um habitat importante para milhares de organismos de diversas variedades, como fungos, algas, protozoários e diferentes tipos de bactérias (KAVAMURA e ESPOSITO, 2010).

A rizosfera foi definida por Lorenz Hiltner, há mais de um século, como a região ao redor das raízes, entre 1 a 3 mm, onde há interação entre planta, solo e micro-organismos (HILTNER, 1904; CARDOSO e NOGUEIRA, 2007). Essa zona é rica em nutrientes devido ao acúmulo de uma diversidade de compostos orgânicos liberados pelas raízes por meio de exsudação, secreção e rizodeposição, sendo que estes compostos acabam servindo de fonte de carbono e energia para micro-organismos (CHAUHAN *et al.*, 2015).

Nesta pequena camada de solo é que se encontram as rizobactérias, comumente referidas como rizobactérias promotoras do crescimento das plantas (ou PGPR, de *Plant Growth-Promoting Rhizobacteria*). Estas apresentam ampla diversidade e são um grupo importante de inoculantes microbianos em razão da sua capacidade de promoção do crescimento das plantas, melhoria da produtividade e, conseqüentemente, da qualidade do solo (KAVAMURA e ESPOSITO, 2010; CHAUHAN *et al.*, 2015). Chauhan *et al.* (2015) ainda esclarecem que a promoção do crescimento das plantas pelas PGPR, inclui mecanismos diretos, onde há a secreção de metabólitos como o ácido indolacético, citocinas, giberelinas, etc., além de auxiliarem na absorção de nutrientes essenciais como nitrogênio, fósforo, ferro, zinco, entre outros. Já na promoção de crescimento por mecanismos indiretos, as PGPR diminuem ou previnem o efeito deletério de organismos fitopatogênicos, através da produção de antibióticos, sideróforos, ácido cianídrico, etc.

A comunidade microbiana da rizosfera pode variar de acordo com fatores ambientais, como tipo de solo, espécie de planta, estado nutricional, idade, estresse, entre outros. Todavia, o número de micro-organismos nessa região pode ser algumas vezes maior em comparação à massa do solo (CARDOSO e NOGUEIRA, 2007; KAVAMURA e ESPOSITO, 2010). Em estudo que buscou determinar a diversidade microbiana em solos árticos rizosféricos e não rizosféricos utilizando o índice de diversidade de Shannon-Weaver, Tam *et al.* (2001) encontraram diversidades significativamente maiores em amostras da rizosfera. Anderson *et al.* (1993) ainda

esclarecem que, embora as taxas de micro-organismos nos solos rizosféricos variem normalmente de 5 a 20 vezes mais que em solos não rizosféricos, elas também podem chegar a 100 vezes ou mais.

Desta forma, pesquisas sobre as PGPR ganharam importância nas últimas décadas devido à necessidade de práticas agrícolas sustentáveis e ecologicamente corretas, uma vez que o uso excessivo de fertilizantes químicos e pesticidas apresentam efeitos adversos ao meio ambiente (CHAUHAN *et al.*, 2015). A rizorremediação, embora um pouco demorada, é um dos mais ecológicos e economicamente viáveis meios de remediação do solo, mas para que seja eficiente, é interessante que antes de aplicada, seja feita uma análise mais aprofundada das condições do solo e dos contaminantes, bem como o entendimento de como a interação entre raiz e micro-organismos influenciam o desenvolvimento das plantas (CARDOSO e NOGUEIRA, 2007; KAVAMURA e ESPOSITO, 2010; PANDEY, 2020).

De acordo com Kavamura e Esposito (2010), é importante que, na rizorremediação, haja a combinação de plantas e micro-organismos que aumentem a eficiência da extração do contaminantes, já que é uma técnica benéfica para os dois lados: uma vez que as plantas fornecem nutrientes para os micro-organismos, estes crescem e se multiplicam, aumentando a capacidade de degradação pelas plantas ou a fitotoxicidade do solo contaminado.

Algumas PGPR de gêneros como *Azospirillum*, *Azotobacter*, *Bacillus Burkholderia*, *Pseudomonas*, *Rhizobium* e *Serratia* já são frequentemente utilizadas em processos de rizorremediação. No entanto, existem PGPR focos de importantes pesquisas, sobre as quais já há muitas informações consideráveis disponíveis, que ainda não atingiram escalas comerciais de produção, tais como *Azoarcus*, *Exiguobacterium*, *Methylobacterium*, *Paenibacillus*, *Pantoea*, etc. (CHAUHAN *et al.*, 2015).

Em relação às plantas aquáticas, Srivastava *et al.* (2008) relatam que elas transportam aproximadamente 90% do seu oxigênio na rizosfera, o que acaba estimulando a decomposição aeróbia da matéria orgânica e promovendo o crescimento de bactérias nitrificantes.

Muitos estudos mostram que macrófitas submersas e flutuantes têm alta capacidade de remoção de cargas pesadas de nutrientes e metais tóxicos da água, o que

é importante visto que a tolerância à metais pesados é um pré-requisito essencial para processos de fitorremediação (SRIVASTAVA et al., 2008; SARWAR et al., 2017). Mangabeira et al. (2006) relatam que a concentração de metais em plantas aquáticas pode ser mais de 100.000 vezes maior do que no ambiente aquático em que se encontra.

Assim, diversas plantas aquáticas podem ser classificadas como hiperacumuladoras, ou seja, são capazes de tolerar, absorver e translocar altos níveis de metais pesados tóxicos (ZEITOUNI et al., 2007). Essa característica é dada a plantas que acumulam mais de 100 mg.kg⁻¹ de cádmio, 1.000 mg.kg⁻¹ de cobre, cobalto, cromo, níquel ou chumbo, ou mais de 10.000 mg.kg⁻¹ de manganês ou zinco (RASKIN et al., 1994). Tavares et al. (2013) ainda complementam que uma boa planta hiperacumuladora deve apresentar, primeiramente, tolerância ao contaminante, apresentar alta taxa de acumulação deste, mesmo em baixas concentrações, capacidade simultânea de acumular diversos contaminantes, boa produção de biomassa e taxa de crescimento e resistência a pragas e doenças. Barreto (2011) identificou em seu estudo, alguns gêneros de macrófitas aquáticas capazes de hiperacumular altas concentrações de um ou mais metais traço em seus caules, folhas ou raízes, como *Ludwigia* sp., *Sagittaria* sp., *Commelina* sp., *Eichhornia* sp., *Typha* sp., entre outras.

Em estudo realizado por Wong-Argueles et al. (2020), os autores trazem uma relação da extração de metais traço e metais potencialmente tóxicos de um local poluído (Rio Lerma, no México) pela macrófita *H. ranunculoides* (Tabela 5).

Tabela 5 – Extração de metais pela macrófita *Hydrocotyle ranunculoides* no Rio Lerma, México.

Metal	Acúmulo de metais (mg.kg ⁻¹)	
	Parte aérea	Parte submersa
Cr	1.18 mg.kg ⁻¹	12.8 mg.kg ⁻¹
Mn	541 mg.kg ⁻¹	1752 mg.kg ⁻¹
Fe	816 mg.kg ⁻¹	8929 mg.kg ⁻¹
Cu	7.36 mg.kg ⁻¹	21.53 mg.kg ⁻¹
Zn	103 mg.kg ⁻¹	126 mg.kg ⁻¹
Pb	1.1 mg.kg ⁻¹	5.27 mg.kg ⁻¹

Fonte: Adaptado de Wong-Argueles *et al.* (2020).

De acordo com a Tabela 5, observa-se que Wong-Argueles *et al.* (2020) encontraram um maior acúmulo de metais na parte submersa da *H. ranunculoides*, incluindo as raízes.

Barreto (2011), que avaliou a capacidade de bioacumulação de metais traço por diversas macrófitas expostas a ambientes urbanos poluídos, encontrou maior acumulação destes elementos em amostras de raízes. Demarco (2016) em estudo que identificou seis espécies de macrófitas aquáticas do arroio Santa Bárbara, também concluiu que todas apresentaram maior concentração de zinco, chumbo, cromo, manganês e níquel em suas raízes.

5 Material e métodos

5.1 Caracterização da área de estudo

A área de pesquisa deste estudo é o arroio Santa Bárbara, localizado no município de Pelotas, região sul do Rio Grande do Sul. Este é o principal responsável pelo escoamento hídrico da cidade e aflui para o canal São Gonçalo e deste, até a Lagoa dos Patos (SIMON *et al.*, 2007). Além disso, a bacia do arroio Santa Bárbara forma a barragem Santa Bárbara, sendo responsável pelo abastecimento hídrico de grande parte da população, chegando a fornecer em média 40 milhões de litros d'água ao dia (SAMPAIO e WINCKLER, 2017).

Este importante curso d'água fica próximo às principais vias de acesso à cidade, e seu estado de poluição é claramente notado devido ao seu odor, formação de espumas e grande quantidade de plantas aquáticas, o que pode indicar condição de eutrofização (DEMARCO *et al.*, 2020). O exato ponto do arroio onde foi realizada a coleta da macrófita *H. ranunculoides* está em posição geográfica de 31°45'18" de latitude sul e 52°21'26" de longitude oeste, ficando às margens da Avenida Presidente João Goulart (Figura 7).

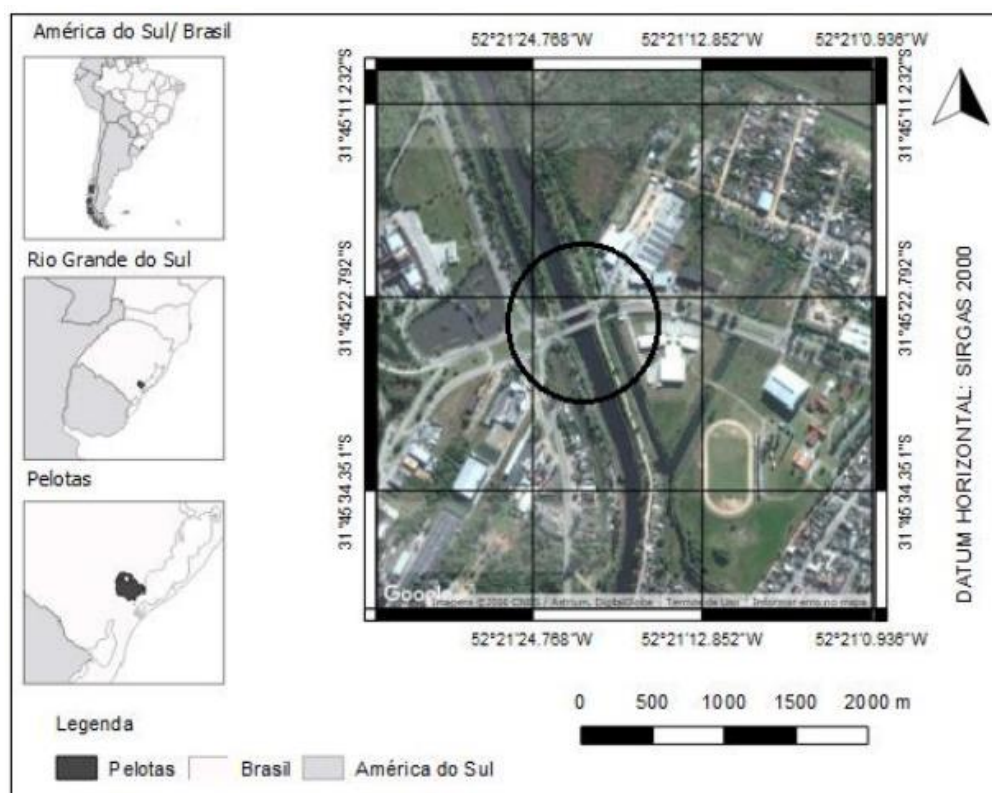


Figura 7 - Localização do ponto de coleta no arroio Santa Bárbara, no município de Pelotas.
Fonte: DEMARCO (2016).

Korb e Suertegaray (2014) apontam que, embora algumas das principais nascentes do arroio Santa Bárbara encontrem-se em terrenos cristalinos, o seu curso principal drena locais agrícolas, especialmente com lavouras de arroz, áreas urbanas e também rodoviárias, evidenciando que o arroio passa por zonas com risco de contaminação. Os autores relatam ainda que alguns outros fatores como a precariedade do planejamento da ocupação do solo, a inexistência de um sistema de esgotamento sanitário, e a multiplicidade de atividades urbanas e rurais na área, também contribuem para a poluição do arroio. Demarco *et al.* (2019) mencionam que a ocupação habitacional desordenada no entorno do curso d'água, a liberação de esgotos domésticos e industriais não tratados e a disposição inadequada de resíduos sólidos urbanos são as principais atividades que afetam esta região. Um outro estudo realizado pelo referido autor e colaboradores (DEMARCO *et al.*, 2018), visando conhecer os níveis de nutrientes e metais tóxicos no arroio, constatou que diversos elementos ultrapassam os níveis recomendados pelas legislações que visam garantir a proteção do sistema aquático e da

saúde humana. Quanto ao cromo, a concentração encontrada pelo autor foi de $4,61 \text{ mg.L}^{-1}$, indicando uma concentração muito acima do que a permitida pela legislação brasileira ($0,05 \text{ mg.L}^{-1}$) (CONAMA, 2005).

5.2 Isolamento microbiano

Após a coleta, espécimes de *H. ranunculoides* foram levadas em frascos estéreis ao laboratório de Análises Químicas e Ambientais, do Centro de Engenharias da Universidade Federal de Pelotas.

Para o isolamento dos micro-organismos, optou-se por utilizar a região da rizosfera das plantas, devido ao exposto no item 4.4.2. Assim, raízes inteiras com medidas entre 3 e 5 cm foram separadas com lâmina estéril e pesadas em balança analítica de precisão, lavadas com água destilada para a remoção de resíduos indesejados e, misturadas em solução salina (NaCl a 0,85%) estéril na proporção de 100 mL de solução para 1 g de raiz, agitadas em agitador magnético por 30 minutos. Esse procedimento promove a desagregação de resíduos e partículas das raízes misturando-os com a solução, obtendo-se assim, a solução inicial (10^0).

Em seguida, para o processo de diluição, coletou-se uma fração de 100 μL da solução 10^0 para a realização de diluições seriadas de 10^{-1} a 10^{-5} , transferindo sucessivamente 100 μL da suspensão de cada diluição para 900 μL de solução salina NaCl 0,85% em tubos eppendorf, antecedendo entre uma diluição e outra uma vigorosa agitação em agitador vórtex. De cada diluição (incluindo a 10^0) alíquotas de 100 μL foram inoculadas em placas de Petri com meio de cultura contendo ágar nutriente e o cromo (50 mg.L^{-1}), em triplicata.

Ressalta-se que após o preparo dos meios de cultura, estes foram ajustados ao pH 7,0 e somente após autoclavados (121°C durante 15 minutos). Em seguida, as placas devidamente inoculadas, foram incubadas em estufa a temperatura de 30°C por 24 horas ou até que o aparecimento das colônias fosse detectado.

5.3 Purificação das colônias distintas

Após o tempo de incubação, com o auxílio de uma lupa 100x, observou-se as colônias morfológicamente distintas (cor, brilho, forma da borda, consistência, etc.) para coleta e purificação por meio da técnica de esgotamento por estria em placas de Petri contendo ágar nutriente adicionado de cromo (50 mg.L^{-1}) em pH 7,0, com incubação em estufa a temperatura de 30°C por 24 horas ou até que o aparecimento das colônias puras fosse detectado. Assim, os isolados selecionados foram denominados como: HR1, HR2, HR3, HR4, HR5, HR6, HR7 e HR8.

Para a preservação das estirpes, os micro-organismos foram mantidos sob refrigeração (4°C) e repicados quinzenalmente, além de serem mantidos conservados em glicerol, congelados a -20°C .

5.4 Contagem de células

Para a contagem de unidades formadoras de colônias (UFC) dos isolados selecionados, uma alçada de cada estirpe foi inoculada em meio líquido contendo 10 ml de caldo nutriente suplementado com 50 mg.L^{-1} de Cr (III) e incubada por 24 horas a 30°C . Após o tempo necessário de incubação, foi realizada em duplicata uma diluição seriada de 10^0 a 10^{-5} de 100 μL dos inóculos em solução salina. Em seguida, a partir de cada diluição foram depositados 20 μL com pipeta estéril em placas de Petri contendo meio sólido com ágar nutriente suplementado com 50 mg.L^{-1} de Cr (III), previamente identificadas com as respectivas diluições. Estas foram incubadas por 24 horas a 30°C , para somente então ser realizada a contagem das colônias crescidas. Para obter a relação com o crescimento de biomassa de cada amostra de isolado, a densidade óptica foi mensurada em espectrofotômetro sob o comprimento de onda de 600 nm (Tabela 2). A contagem das UFC possibilita conhecer a concentração de bactérias por ml dos inóculos preparados.

5.5 Crescimento bacteriano e absorção de cromo

Para a seleção dos isolados com maior potencial de crescimento no cromo, adicionou-se 10 ml de caldo nutriente suplementado com cromo (50 mg.L^{-1}) em tubos de ensaios. Após inoculados, os micro-organismos foram incubados em triplicata a 30°C por 24 horas.

O crescimento da biomassa microbiana foi verificado em equipamento de espectrofotometria UV-VIS (NI 1600UV) por meio da avaliação da densidade óptica (DO) sob comprimento de onda à 600 nm. Após a leitura, alíquotas de 2 ml das amostras contendo os micro-organismos foram transferidas para microtubos eppendorf e agitadas em centrífuga à 5.000 rpm por 15 minutos, a fim de separar o sobrenadante da biomassa.

Para a leitura de absorção atômica que identifica a concentração total/final de cromo no meio, preparou-se amostras com o sobrenadante diluídas a 10% e ajustou-se o pH para 3 com adição de ácido clorídrico (HCl) para a leitura em Espectroscopia de Absorção Atômica (AA) por Chama. A chama foi produzida a partir de ar e acetileno com vazões de 3,3 e 10 L/min, respectivamente. A resolução espectral foi de 0,2 nm. As determinações de cromo foram realizadas usando lâmpada de catodo oco, sendo o comprimento de onda de 357,9 nm e a corrente elétrica aplicada de 2,7 mA. Esta análise foi realizada no Laboratório de Metrologia Química, da Universidade Federal de Pelotas (UFPEL).

5.6 Seleção do isolado

A seleção do isolado a ser trabalhado no estudo ocorreu após a conclusão das leituras de crescimento de biomassa e quantidade de cromo removida pelos oito micro-organismos selecionados. Para isto, realizou-se a média dos resultados das leituras das triplicatas de cada isolado, e considerando o desvio padrão, foi possível identificar os isolados com maior capacidade de crescimento em meio com cromo e de biorremediação. Assim, o isolado identificado como HR7 foi o selecionado para o estudo.

5.7 Identificação das condições ideais de crescimento e biorremediação de cromo pelo isolado HR7

Por meio de testes preliminares e embasamento em algumas metodologias de estudos semelhantes (TIRRY *et al.*, 2018; WANI *et al.*, 2018), foram definidas como condições ótimas de crescimento do isolado HR7: pH 7, temperatura de incubação de 30°C, tempo de 24 horas e concentração de cromo de 50 mg.L⁻¹. Após a realização dos testes descritos a seguir, foi mensurada a DO das amostras em equipamento de espectrofotometria sob comprimento de onda a 600 nm para identificação da biomassa crescida e depois em equipamento de espectroscopia de absorção atômica para determinação da concentração final de cromo.

5.7.1 Efeito do pH

O isolado HR7 foi inoculado em tubos de ensaio contendo caldo nutriente suplementado com cromo (50 mg.L⁻¹), ajustados nos pHs 4, 5, 6, 7, e 8. Estes foram incubados a 30°C por 24 horas. Para o ajuste, foram utilizadas soluções de NaOH 1M e HCl 1M. O experimento foi realizado em quadruplicata em dois experimentos independentes.

5.7.2 Efeito das concentrações de cromo

Para verificar a capacidade de crescimento e remoção do isolado HR7 em diferentes concentrações de Cr (III), este foi inoculado em tubos de ensaio contendo caldo nutriente suplementado com as seguintes concentrações de cromo: 0, 25, 50 e 75 mg.L⁻¹, sendo ajustado o meio líquido no pH 7 e, após, incubados a 30°C por 24 horas. O experimento foi realizado em triplicata em dois experimentos independentes.

5.7.3 Efeito da temperatura

O isolado HR7 foi inoculado em tubos de ensaio contendo caldo nutriente suplementado com cromo (50 mg.L^{-1}), sendo ajustado o meio no pH 7 e incubados por 24 horas nas seguintes temperaturas: 15°C , 20°C , 25°C , 30°C , 35°C e 40°C . O experimento foi realizado em quadruplicata em dois experimentos independentes.

5.7.4 Curva de crescimento

O isolado HR7 foi inoculado em tubos de ensaio nas condições padrão do estudo (pH 7, temperatura de incubação de 30°C e concentração de cromo de 50 mg.L^{-1}), sendo a leitura do crescimento da biomassa microbiana realizada nos tempos de 6, 12, 18, 24, 36 e 48 horas de incubação. O experimento foi realizado em quadruplicata em dois experimentos independentes.

5.8 Identificação molecular do isolado

A identificação molecular do isolado estudado (HR7) foi feita pelo Laboratório de Diagnóstico Molecular do Instituto de Biotecnologia da Universidade de Caxias do Sul (UCS), de acordo com os protocolos descritos a seguir, padronizados pelo próprio laboratório.

5.8.1 Extração do DNA

Os micro-organismos foram crescidos *overnight* em meio Luria Bertani (LB) (HiMedia) em agitação a 140 rpm à 37°C . A extração do DNA foi realizada com HiMedia HiPura™ Bacterial genomic DNA Purification Kit (HiMedia Laboratories), seguindo o protocolo do fabricante.

5.8.2 Amplificação do DNA

A amplificação dos genes 16S rRNA foi realizada por reação em cadeia da polimerase (PCR) com Kit GoTaq® Green Master Mix (Promega), utilizando os oligonucleotídeos universais 11F (5'-GTTTGATCCTGGCT-3') (Kane *et al.*, 1993) e 1492R (5'-TACCTTGTTACGACTT-3') (Lin e Stahl, 1995), de acordo com a seguinte reação: 1 µL de cada oligonucleotídeo, 10 µL do Master Mix, 7 µL de água Milli-Q e 1 µL do DNA extraído, totalizando 20 µL. Todas as amplificações foram acompanhadas por controle negativo, isto é, sem DNA.

A reação foi realizada em termociclador (Applied Biosystems), seguindo o seguinte protocolo: desnaturação inicial a 94°C durante 4 minutos, 35 ciclos de desnaturação a 94°C por 30 segundos, anelamento a 52°C por 1 minuto, extensão por 1 minuto e extensão final, a 72°C por 10 minutos. Os amplificados foram analisados em gel de agarose (1,5%) e eletroforese (80 volts). A visualização dos fragmentos foi realizada em transiluminador com luz ultravioleta (UV) (Vilber Lourmat) após coloração com GelRed® Nucleic Acid Gel Stain (Biotium).

Os produtos do PCR foram purificados utilizando 0,25 µL da enzima Exonuclease I (Amersham Bioscience 2500 U), 0,25 µL da enzima Shrimp Alkaline Phosphatase (Amersham Bioscience 5000 U), 0,50 µL de água Milli-Q e 6,0 µL do amplificado. A reação foi incubada a 37°C durante 30 minutos e após a 80°C por 15 minutos para inativação das enzimas.

Após a purificação, os produtos foram submetidos ao sequenciamento genético utilizando o sequenciador automático AB 3500 Genetic Analyzer equipado com capilares de 50 cm e polímero POP7 (Applied Biosystems). Os DNA-moldes foram marcados utilizando-se 2,5 pmol do oligonucleotídeo específico e 0,5 µL do kit Big Dye Terminator Cycle Sequencing Kit (Applied Biosystems) de acordo com instruções do fabricante.

Os dados do sequenciamento foram coletados e os arquivos FASTA obtidos foram alinhados e a identificação dos micro-organismos isolados deu-se pela comparação das sequências de DNA com as sequências depositadas no *National Center for Biotechnology Information* (NCBI, <http://ncbi.nlm.nih.gov>), usando a ferramenta BLAST (BLASTn) (Edgar, 2010).

5.9 Determinação de Cr (VI) pelo método colorimétrico da difenilcarbazida

Para avaliar a capacidade de biorremediação do Cr (VI) do isolado HR7, realizou-se o método colorimétrico da difenilcarbazida, adaptado da metodologia prescrita pela NBR 13738, para determinação de Cr (VI) em amostras de água.

Para dar início ao experimento, preparou-se os reagentes e soluções a serem usados: solução estoque de Cr (VI) a 500 mg.L⁻¹; solução de ácido sulfúrico 0,2 N e a solução de difenilcarbazida.

Assim, o isolado foi cultivado em placa de Petri contendo meio de cultura ágar nutriente suplementado com Cr (VI) a 50 mg.L⁻¹ e pH 7,0. Após incubação de 24 horas à temperatura de 30°C, uma alçada do cultivo foi inoculada em tubos de ensaio com meio de cultura líquido com 10 mL de caldo nutriente suplementado com Cr (VI) a 50 mg.L⁻¹ e pH 7,0 para nova incubação nas condições padrões utilizadas no experimento.

A partir do inóculo inicial, foram retiradas alíquotas de 100 µL, depositadas em novos inóculos preparados em quadruplicata contendo meio líquido com caldo nutriente suplementado com Cr (VI), nas seguintes concentrações: 10 mg.L⁻¹, 25 mg.L⁻¹ e 50 mg.L⁻¹. Assim, passado o tempo de incubação padrão utilizado no estudo, foi possível mensurar o crescimento de biomassa dos inóculos, medida pela DO 600 nm em equipamento de espectrofotometria ultravioleta-visível (UV-VIS).

5.9.1 Desenvolvimento da cor

Para o desenvolvimento da cor e consequente determinação de Cr (VI) total, as amostras foram diluídas a 10%, com a adição da solução de 1,5-difenilcarbazida e ajuste do pH a $1,0 \pm 0,3$, com solução de ácido sulfúrico 0,2 N. As amostras foram misturadas e aguardou-se cerca de 5 a 10 minutos para o completo desenvolvimento da cor. Por fim, transferiu-se 2 mL da amostra para a cubeta e mediu-se a absorbância sob o comprimento de onda de 540 nm espectrofotômetro UV-VIS.

A determinação de Cr (VI) foi realizada por meio do cálculo da equação da reta obtida pela curva padrão.

5.10 Análise estatística dos dados

Todos os dados foram analisados utilizando a análise de variância One-Way (ANOVA) com auxílio do programa Statística 7 e o teste de comparação de médias (teste Tukey), tomando como base os níveis de significância maiores que 95% ($p < 0,05$).

6 Resultados e discussão

6.1 Isolamento e seleção dos micro-organismos resistentes ao cromo

Ao crescerem em meios de cultura, micro-organismos apresentam características que são expressões fenotípicas de seu material genético, permitindo dessa forma, uma caracterização inicial das colônias (ANDRADE, 2008).

Assim, para a realização do presente estudo, micro-organismos habitantes na rizosfera da macrófita *H. ranunculoides* foram inoculados em meio de cultura com Cr (III) a 50 mg.L⁻¹ e, posteriormente, selecionados e purificados de acordo com algumas características morfológicas como coloração, forma, consistência seca ou gomosa, aspecto brilhante ou opaco, etc. Ainda que, de acordo com Hungria e Silva (2011), características fenotípicas de um determinado micro-organismo possam sofrer alterações com o meio ambiente e diferirem em cada meio de cultivo, Andrade (2008) explica que mesmo que subjetiva, a caracterização morfológica das colônias de bactérias é importante como uma primeira avaliação da diversidade de populações microbianas existentes na amostra estudada.

Dentre a variedade morfológica dos isolados, foram selecionadas oito colônias por suas características distintas (Tabela 6). As mesmas foram nomeadas como HR1, HR2, HR3, HR4, HR5, HR6, HR7 e HR8.

Tabela 6 – Características morfológicas observadas dos isolados selecionados.

Isolado	Coloração	Forma	Aspecto	Consistência
HR1	branca	circular	brilhante	viscosa
HR2	branca/incolor	irregular	brilhante	viscosa
HR3	branca	circular	opaca	seca
HR4	amarela alaranjada	circular	opaca	seca
HR5	laranja	circular	brilhante	viscosa
HR6	branca/incolor	puntiforme	brilhante	viscosa
HR7	amarela alaranjada	circular	opaca	viscosa
HR8	branca	circular	opaca	viscosa

Elsas *et al.* (1997) sugerem que, quando há um predomínio de bactérias de coloração clara, como é o caso deste estudo, estas desenvolvem pouca pigmentação pelo fato de o ambiente receber pouca luz, indicando também uma possível situação de eutrofização do meio aquático.

Ainda assim, foi possível observar nesta etapa inicial que há uma diversidade morfológica, ou seja, uma provável variedade de micro-organismos existentes na região da rizosfera da planta *H. ranunculoides* que demonstram resistência ao cromo, visto a viabilidade dos isolados no meio de cultura.

6.2 Contagem de células

Após o período de crescimento em meio de cultivo nutritivo, os micro-organismos crescem em colônias, formadas a partir de uma única célula ou um agregado de células, que podem ser visualizadas sem o auxílio de um microscópio (ALVES, 2006). Assim, uma das formas de avaliação do crescimento bacteriano é a contagem das UFC, que ocorre a partir da contagem do número de células viáveis presentes em suspensão, ou seja, as colônias (NAVROSKI *et al.*, 2015).

A contagem das UFC dos oito isolados estudados foi feita a partir do método de espalhamento em placa para inferir sobre a concentração de micro-organismos por ml dos inóculos preparados. A biomassa dos inóculos também foi medida em DO a 600nm, conforme ilustra a Tabela 7.

Tabela 7 – Densidade óptica dos inóculos e unidades formadoras de colônias dos isolados da macrófita *Hydrocotyle ranunculoides*.

Isolado	Densidade Óptica (DO _{600nm})	log UFC/ml
HR1	0,279	-
HR2	0,118	-
HR3	0,226	4,71
HR4	0,070	3,77
HR5	0,082	4,30
HR6	0,082	-
HR7	0,089	4,40
HR8	0,344	7,46

*Não foi possível realizar a contagem de célula pois o número de colônias existentes estava acima de 250, que é o limite recomendado pela literatura.

Para a contagem, muitos microbiologistas preferem placas com células entre 30 e 300 colônias, porém a *Food and Drug Administration* recomenda que a contagem de placas seja realizada entre 25 a 250 colônias (TORTORA *et al.*, 2012).

6.3 Comparação de crescimento e biorremediação de Cr (III) pelos isolados resistentes

Os oito isolados tiveram suas capacidades de crescimento em meio contaminado com Cr (III) e biorremediação de Cr (III) avaliadas para que a estirpe com melhor viabilidade fosse selecionada para os estudos seguintes. Assim, de acordo com o item 5.5, os isolados foram inoculados em caldo nutriente suplementado com cromo 50 mg.L⁻¹ nas condições padrões utilizadas no estudo. A avaliação de crescimento da biomassa microbiana foi realizada por DO em espectrofotômetro a 600 nm (Figura 8).

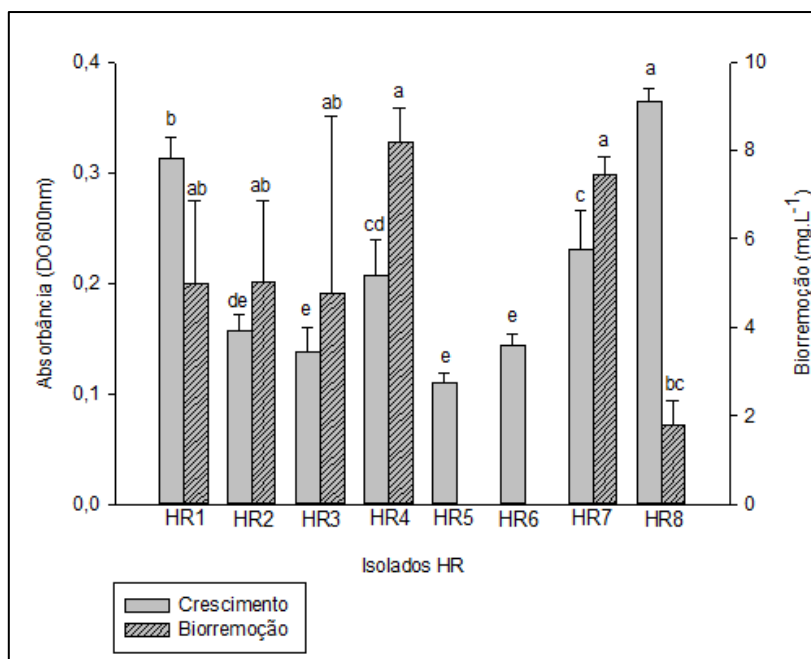


Figura 8 - Absorbância (DO_{600nm}) e biorremediação de Cr (III) pelos isolados da macrófita *Hydrocotyle ranunculoides*.

*Médias seguidas pela mesma letra não diferem significativamente no nível de confiança de 95% (Teste de Tukey).

A capacidade de um micro-organismo tolerar a presença de um metal pode ser explicada como uma habilidade de sobrevivência à toxicidade do composto utilizando mecanismos de defesa, como a sorção, a precipitação, o acúmulo, a transformação enzimática, a produção de metalotioneína, entre outros. Esses mecanismos são transmitidos frequentemente pelos plasmídeos, facilitando a dispersão de célula para célula (VALLS e LORENZO, 2002; CONCEIÇÃO *et al.*, 2007; MOHAMMADIAN *et al.*, 2017).

Apesar de todos os isolados apresentarem desenvolvimento no meio acrescido de Cr (III), destacaram-se o HR1, HR7 e HR8. A variação de crescimento entre as estirpes pode ter sido ocasionada devido às condições de cultivo utilizadas no estudo, à fase exponencial de cada micro-organismo, entre outros fatores. Tortora *et al.* (2012) explicam que a velocidade de crescimento exponencial dos micro-organismos é variável, onde cada espécie apresenta um tempo de geração. Desta forma, no momento da leitura de crescimento de biomassa realizada após o tempo de incubação de 24 horas, alguns isolados podem ter chegado a sua fase estacionária, ou mesmo, terem atingido sua fase de declínio.

Ainda na Figura 6, quando analisada a biorremoção de Cr (III), a maioria dos isolados estudados obtiveram resultados significativos, com exceção do HR5 e do HR6, os quais não apresentaram capacidade de remoção do metal. Os isolados com maior porcentagem de biorremoção foram HR2 (10,04%), HR4 (16,35%) e HR7 (14,93%). Joutey *et al.* (2013) esclarecem que a eficiência da biodegradação depende de muitos fatores, como a natureza química e a concentração do poluente, sua disponibilidade para os micro-organismos e as características físico-químicas do ambiente. Assim, os fatores que influenciam na taxa de degradação de poluentes pelos micro-organismos, estão relacionados às necessidades nutricionais destes, ou associados ao meio ambiente. Os autores também citam o pH, a umidade e a temperatura como condições que podem influenciar diretamente na biodegradação de um poluente.

Com base nos resultados dos dois testes, o isolado HR4 evidenciou ser, dentre todos os isolados, o micro-organismo com maior potencial de biorremoção de Cr (III). Contudo, pela análise de crescimento da biomassa, este isolado não apresentou resultado significativo. Desta forma, devido à elevada viabilidade em meio suplementado

com Cr (III), somada à biorremediação do metal, o isolado HR7 foi o selecionado para as demais análises propostas no presente estudo (concentração, pH, temperatura, tempo, identificação molecular e redução de Cr (VI)).

6.4 Testes das condições ambientais ideais

6.4.1 Efeito de diferentes concentrações de Cr (III)

A biorremediação do cromo mostrou-se proporcional em todas as concentrações. O isolado HR7 apresentou maior remoção na concentração de 75 mg.L⁻¹ (Tabela 8), um equivalente à 64,05% do cromo total do meio. Contudo, nas concentrações de 25 e 50 mg.L⁻¹ de Cr (III), a remoção foi de 59,04% e 68,32% respectivamente, possivelmente indicando que quanto maior a concentração do metal, maior a capacidade de remoção pelo isolado. Dua *et al.* (2002) apontam que níveis baixos do contaminante podem ser insuficientes para estimular a atividade dos micro-organismos, diminuindo assim, o processo de biodegradação.

Da mesma forma, foi observado aumento significativo no crescimento da biomassa quando comparadas as concentrações de 25 e 75 mg.L⁻¹ de Cr (III).

Tabela 8 – Absorbância (DO_{600nm}) e biorremediação pelo isolado HR7 em diferentes concentrações de Cr (III).

Cr (III) (mg.L ⁻¹)	Absorbância (DO _{600nm})	Biorremediação (mg.L ⁻¹)
0	0,305	0,000
25	0,272	14,760
50	0,408	34,163
75	0,479	48,040

É importante ressaltar que buscou-se realizar testes em concentrações de 100 e 150 mg.L⁻¹ de cromo, contudo, em altas concentrações o metal apresentou precipitação, o que poderia influenciar na confiabilidade dos resultados. Andrade (2008) reitera em sua revisão que bactérias podem apresentar baixa eficiência na degradação quando os

compostos forem insolúveis em água, fazendo com que seu sistema enzimático seja induzido somente na presença do contaminante.

6.4.2 Efeito do pH

Apesar de estarem presentes em ambientes com o pH extremo, a maioria dos seres procariontes vive em um pH próximo da neutralidade, numa faixa de 5 a 8, sendo que para o crescimento de cada espécie pode ser definido um pH mínimo, um pH ótimo e um pH máximo, que não favorece o desenvolvimento (BERTRAND *et al.*, 2011).

O isolado HR7 foi testado em meios de cultura com diferentes faixas de pH com o objetivo de identificar a faixa de pH ideal para o desenvolvimento e a biorremediação de Cr (III), conforme demonstrado na Figura 9.

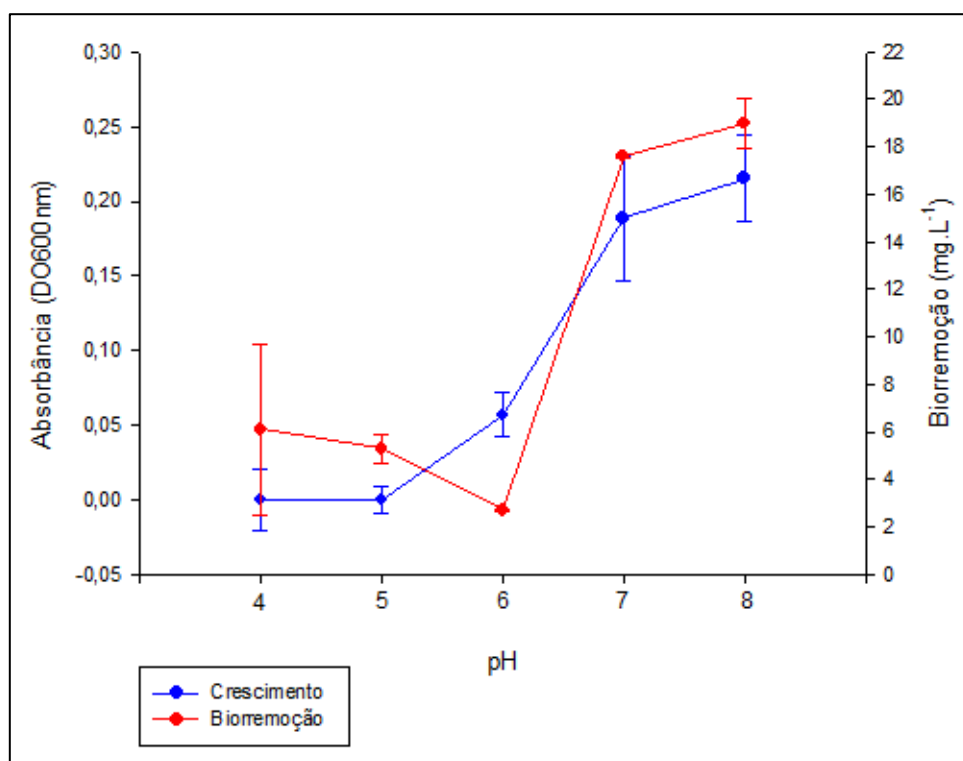


Figura 9 - Absorância (DO_{600nm}) e biorremediação de Cr (III) pelo isolado HR7 em diferentes faixas de pH.

A Figura 9 mostra que o isolado estudado apresentou viabilidade somente a partir do pH 6, destacando-se os pHs 7 e 8, no qual o isolado apresentou maior crescimento de biomassa e maior biorremediação (remoção de 35,2% em pH 7 e 37,8% em pH 8),

indicando um melhor desenvolvimento e desempenho do isolado em ambientes com pHs neutros ou básicos. Costa *et al.* (2017) identificaram em seu estudo utilizando fibra de coco e quitosana como adsorventes, que a maior capacidade de remoção de íons de Cr (III) ocorreu a partir do pH 6,5. Ainda, visando avaliar a redução de Cr (VI) por bactérias isoladas de um solo contaminado, Conceição *et al.* (2007) observaram capacidade de redução de 100% do contaminante em pHs na faixa de 5 a 9. Ambos os resultados dos estudos exemplificados corroboram com a presente pesquisa.

6.4.3 Efeito do tempo de contato com o metal Cr (III)

Conforme ilustrado na Figura 10 observa-se que o isolado apresentou crescimento similar em todos os tempos analisados, com maior porcentagem de biorremoção nos tempos de 12 horas (55,08%) e 24 horas (63,08%). Ainda, foi demonstrado que o isolado atingiu a fase estacionária no tempo de 12 horas, mantendo-se estável até 48 horas.

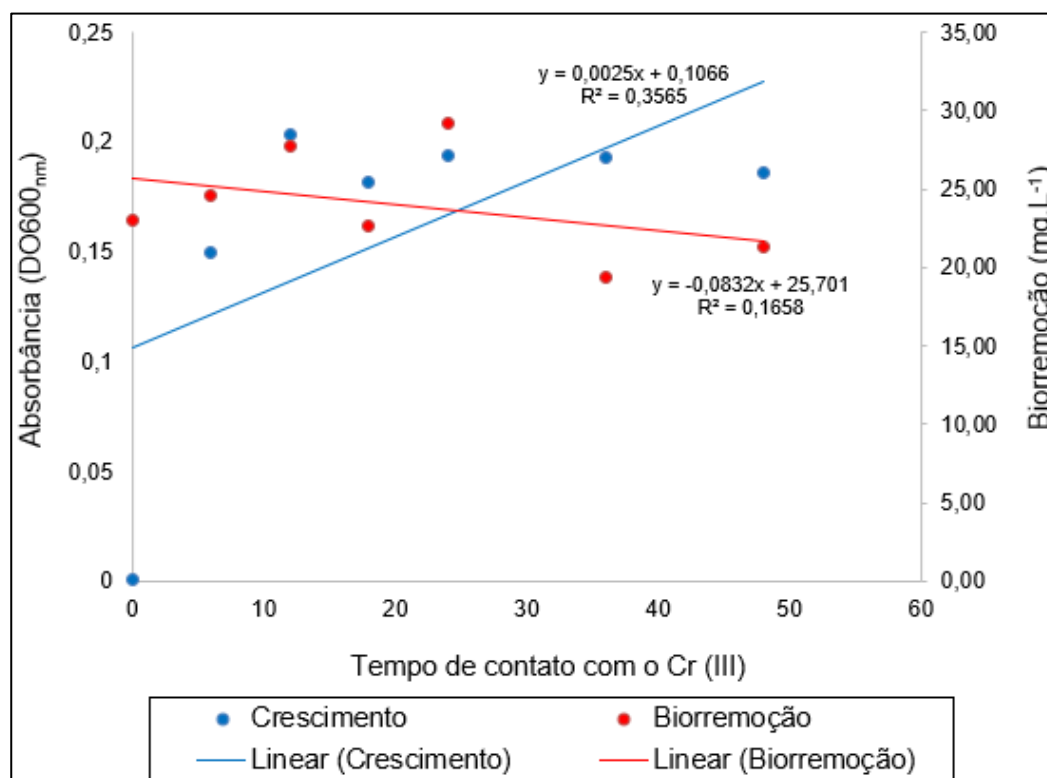


Figura 10 - Absorbância (DO_{600nm}) e biorremoção de Cr (III) pelo isolado HR7 em diferentes tempos de incubação.

6.4.4 Efeito da temperatura

A temperatura é um dos principais fatores de influência para o crescimento e sobrevivência microbiano, uma vez que com o aumento da temperatura do ambiente, há também o aumento das reações químicas e enzimáticas dos micro-organismos (BERTRAND *et al.*, 2011).

Conforme demonstrado na Figura 11, foi observada maior viabilidade celular nas temperaturas de 25°C, 30°C e 35°C. Contudo, a capacidade de biorremediação pelo isolado foi significativamente maior nas temperaturas de 25°C, 35°C e 40°C, com porcentagem de remoção de 43,92%, 49,90% e 49,02%, respectivamente.

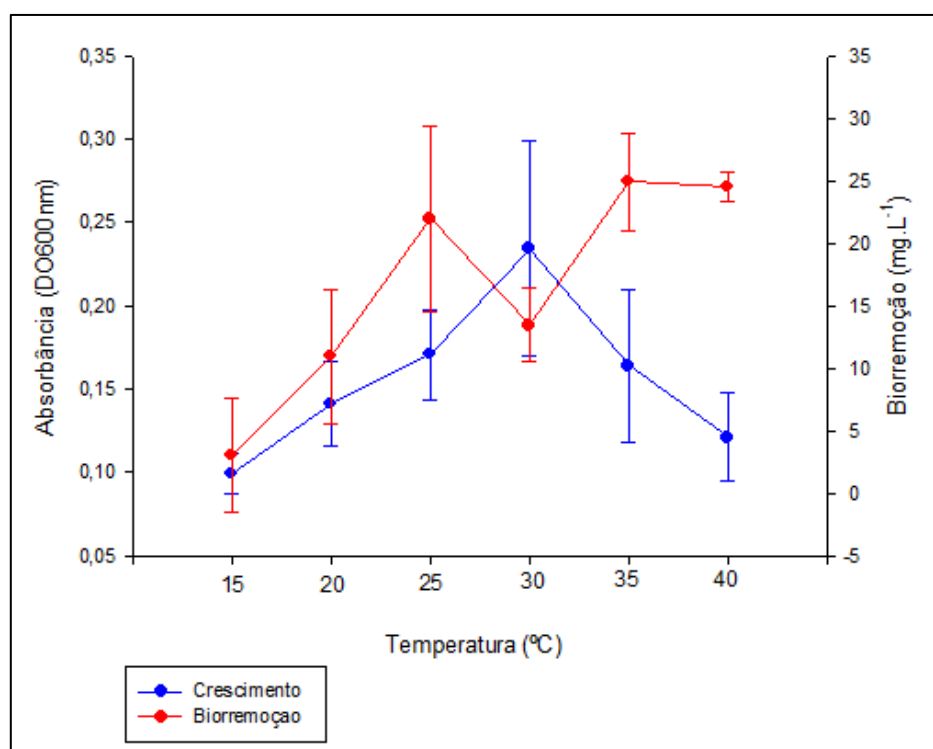


Figura 11 - Absorbância (DO_{600nm}) e biorremediação de Cr (III) pelo isolado HR7 em diferentes temperaturas.

Os resultados evidenciam a possibilidade da aplicação do isolado HR7 em uma ampla faixa de temperaturas.

6.5 Identificação molecular do isolado HR7

A identificação molecular do isolado HR7 foi realizada pelo Laboratório de Diagnóstico Molecular do Instituto de Biotecnologia da UCS. De acordo com os resultados obtidos, o micro-organismo apresentou 99,87% de similaridade com a espécie *Exiguobacterium acetylicum*.

O gênero *Exiguobacterium* foi descrito pela primeira vez em 1983 por Collins *et al.* (1983), com a caracterização da espécie *E. aurantiacum*. É um grupo altamente diverso, cujos membros são encontrados em vários habitats, incluindo ambientes extremos, com variação de temperatura de -12 a 55°C, em situação de limitação de nutrientes (VISHNIVETSKAYA *et al.*, 2009; KASANA e PANDEY, 2017). Pandey (2020) ressalta a diversidade geográfica na qual o gênero já foi encontrado, como regiões tropicais a polares, fontes termais, depósitos sedimentares, amostras glaciais, pergelissolo siberiano, oceanos, lagos de água doce, entre outros.

Selvakumar *et al.* (2009) descrevem as bactérias da espécie *E. acetylicum* como gram-positivas, com colônias circulares amarelas e tornando-se laranja com o envelhecimento, corroborando com a avaliação das características morfológicas obtidas neste estudo, apresentada na Tabela 2. Além disso, são oxidase positivas e facultativamente anaeróbias, com morfologia celular diversa, podendo se apresentar em forma ovoides, bastonetes, bastonetes duplos ou cadeia de células, o que dependerá da espécie, cepa e condições ambientais (KEYNAN *et al.*, 2007; VISHNIVETSKAYA *et al.*, 2007).

Alguns estudos para aplicação destes micro-organismos vêm sendo realizados. Devido à habilidade de crescimento em uma ampla faixa de temperatura, associada à capacidade de crescer facilmente em laboratório, este gênero é um forte candidato para estudos de desenvolvimento de produtos relevantes para a agricultura, indústria e meio ambiente (VISHNIVETSKAYA *et al.*, 2007; KASANA e PANDEY, 2017). Kasana e Pandey (2017) salientam que a capacidade que diferentes espécies desse grupo têm de competir e sobreviver em ambientes hostis, as torna atraentes para a biorremediação e biodegradação. Estudos sustentam o fato de que cepas do gênero *Exiguobacterium* são capazes de degradar compostos xenobióticos, apresentando mecanismos de resistência

à metais como o cádmio, o cobre, o cromo, o mercúrio, o arsênio, entre outros (PANDEY, 2020).

Estudo realizado por Okeke (2008), *Exiguobacterium* sp. GS1 apresentou rápida biorremocção de Cr (VI) de meio aquoso sob ampla faixa de temperaturas, pH e concentrações de sal. Oh *et al.* (2018) investigaram a estabilidade e tolerância da espécie *E. acetylicum* CR1 ao céσιο, bem como a capacidade de bioissorção do metal. A pesquisa encontrou resistência do micro-organismo à múltiplas tensões de céσιο, reduzindo a contaminação da amostra de água pelo metal. Além disso, a taxa de remoção de céσιο por *E. acetylicum* CR1 foi acelerada quando a bactéria recebia tratamento com radiação gama, indicando um excelente potencial de resistência da espécie. Sorokulova *et al.* (2009) isolaram cepas de *E. acetylicum* com potencial de biodegradação utilizando resíduos de cascas como única fonte de carbono e nitrogênio, sem quaisquer outros suplementos.

Algumas das espécies de *Exiguobacterium* também possuem capacidade de promoção do crescimento de plantas, melhorando a absorção de nutrientes, produzindo sideróforos e aumentando o sistema antioxidante (PANDEY, 2020). Cepas de *Exiguobacterium* solubilizantes de fosfato e antagônicas isoladas de Western Ghats, na Índia, aumentaram o crescimento e a biomassa do feijão-caupi em condições de estufa (DASTAGER *et al.*, 2010). Foi relatado por Azizollahi Aliabadi *et al.* (2014), o uso da espécie *E. acetylicum* como inibidora do crescimento e desenvolvimento de vários fungos fitopatogênicos e patógenos bacterianos de importância clínica. *E. acetylicum* também melhorou os parâmetros de germinação e de crescimento inicial de ervilhas na presença de fungos como *Rhizoctonia solani* e *Sclerotium rolfsii* em condições de cultivo em vaso (SELVAKUMAR *et al.*, 2009). Além disso, foi relatado que essa espécie bacteriana aumenta o crescimento e a absorção de nutrientes por mudas de trigo em estufa (SELVAKUMAR *et al.*, 2010).

6.6 Biorremediação de Cr (VI)

Após a análise das condições ótimas de crescimento do isolado *E. acetylicum* em Cr (III), realizou-se análise de viabilidade e da capacidade de remoção em meios contendo três concentrações de Cr (VI): 10, 25 e 50 mg.L⁻¹.

Por meio dos resultados obtidos verificou-se uma excelente capacidade de crescimento em um período de 24 horas, não diferindo significativamente entre as três concentrações, conforme ilustra a Figura 12.

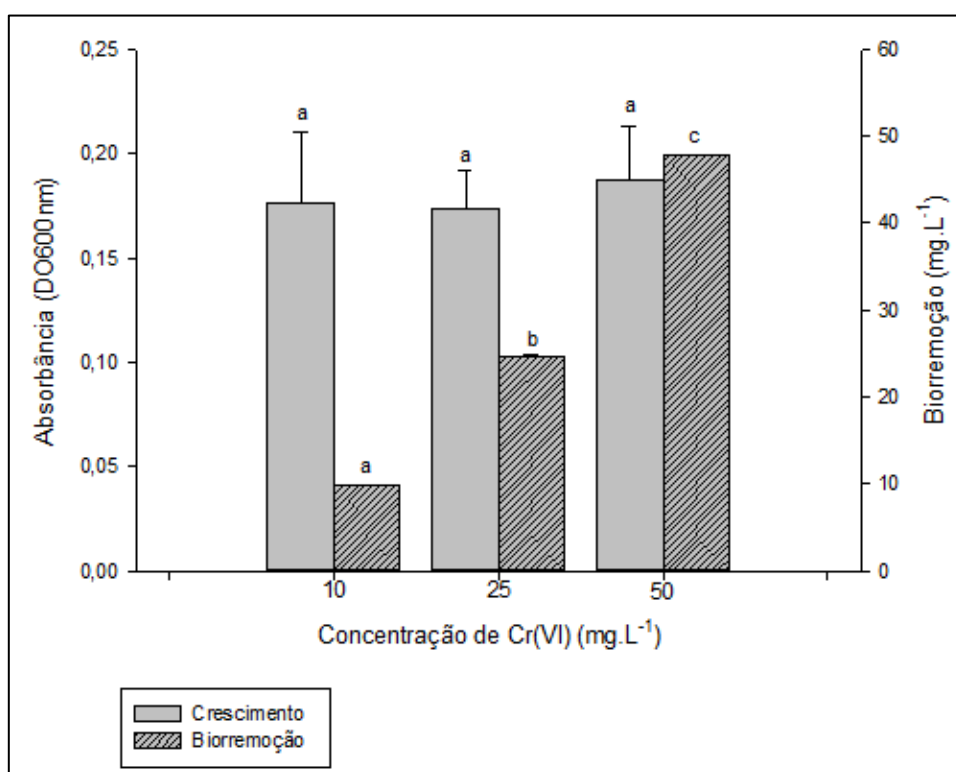


Figura 12 - Absorbância (DO_{600nm}) e biorremediação de Cr (VI) pelo isolado *Exiguobacterium acetylicum* em diferentes concentrações de Cr (VI).

*Médias seguidas pela mesma letra não diferem significativamente no nível de confiança de 95% (Teste de Tukey).

Os resultados sugerem que o isolado pode apresentar capacidade de crescimento em concentrações acima das estudadas. Estudo realizado por Conceição *et al.* (2007) identificou viabilidade dos seus isolados em caldos nutritivos contendo até 750 mg.L⁻¹ de Cr (VI). Porém, Okeke em (2008), utilizando bactérias do gênero *Exiguobacterium* sp. GS1 na remoção de Cr (VI) em meio aquoso revelou crescimento substancial até a

concentração de 75 mg.L⁻¹, sendo que a partir da concentração 100 mg.L⁻¹, diminuições significativas de viabilidade foram observadas até a concentração de 200 mg.L⁻¹.

O isolado também apresentou ótimas taxas de remoção do metal Cr (VI) nas três concentrações estudadas. Na concentração 10 mg.L⁻¹, removeu 98,3%; nas concentrações 25 e 50 mg.L⁻¹, removeu um total de 98,9% e 95,4%, respectivamente. Esse fato indica que, em um tempo mais longo de incubação, há a possibilidade de remoção total do metal, sendo provável que em concentrações mais altas também haja remoção.

Peral-Filho *et al.* (2014), visando conhecer a capacidade de biorremoção de Cr (VI) de uma cultura mista de micro-organismos obtida a partir de resíduos de lodo de curtume, encontraram taxas de remoção acima de 96% para concentrações iniciais de 80, 120 e 150 mg.L⁻¹. Banguero *et al.* (2020) identificaram em seu estudo utilizando a espécie *E. acetylicum* para reduzir Cr (VI) a uma concentração de 10 mg.L⁻¹, uma redução de 60% da concentração nas primeiras 6 horas de crescimento, tendo atingido 100% da redução do metal em 11 horas. Os autores ainda relatam que esse fenômeno está diretamente associado às fases de crescimento bacteriano, uma vez que na fase exponencial há um aumento de remoção do Cr (VI), assim como são os processos metabólicos que geram o crescimento da população bacteriana.

As demais condições de cultivo utilizadas no presente estudo (meio nutritivo em pH 7,0 e incubação em estufa à 30°C por 24 horas) mostraram-se satisfatórias, embora outros estudos também relatem sucesso de biorremoção de Cr (VI) em outras condições. Okeke (2008) obteve bons resultados de biorremoção com *E. acetylicum* em uma faixa de temperatura de incubação de 18 a 45°C, sendo que a maior taxa ocorreu entre 35 e 40°C. O autor ainda identificou níveis de biorremoção semelhantes em pH de 6 a 8, em um período de incubação de 12 horas.

7 Considerações finais

O isolado HR7, identificado como *Exiguobacterium acetylicum*, apresentou ótimas condições de crescimento e de remoção na concentração de 50 mg.L⁻¹ de Cr (III), em pH de neutro a alcalino (entre 7 e 8), nas temperaturas 35°C e 40°C e com tempo ideal de contato com o metal na faixa de 12 a 24 horas. Ainda, em concentrações distintas (10, 25 e 50 mg.L⁻¹) na forma hexavalente do cromo (Cr (VI)), a espécie *E. acetylicum* apresentou alta taxa de remoção do metal (~100%), da mesma forma que o crescimento foi considerado excelente, equivalente nas três concentrações.

Com os resultados obtidos no presente estudo, observa-se que as variáveis ambientais influenciam diretamente o processo de biorremediação, portanto, conhecer as melhores condições para remoção de um contaminante é essencial para que, quando aplicada em situações reais, a biorremediação apresente sucesso e efetividade. Em vista disso, *E. acetylicum* expressou resultados satisfatórios para remoção de Cr (III) e Cr (VI) mediante as condições ambientais testadas e, de modo geral, a aplicação deste gênero bacteriano em processos de rizorremediação apresenta-se como uma alternativa eficiente de descontaminação ambiental, uma vez que esse fato também pode ser comprovado devido a estudos publicados nos últimos anos em periódicos de alto impacto para a comunidade científica.

Em virtude da presença de espécies com capacidade de remoção de metais, como a *E. acetylicum*, é possível inferir que o arroio Santa Bárbara já passe por um processo de atenuação natural, visto que há também a presença abundante da macrófita *H. ranunculoides* e demais espécies de plantas aquáticas, sugerindo um possível potencial biorremediador dos organismos presentes.

Por fim, é importante conhecer a técnica de biorremediação *in situ* mais adequada e eficiente para o local, levando em consideração a biodisponibilidade do contaminante, as condições de crescimento para plantas e micro-organismos, as formas de otimização do processo, entre outros fatores. A avaliação de outras espécies de macrófitas, bem como de outras espécies bacterianas existentes na região, também é altamente recomendada para que seja possível conhecer a capacidade de biorremediação da biota

local, não somente para o cromo, mas também para os demais metais pesados e contaminantes.

Referências

- ABREU, M.A. **Reciclagem do resíduo de cromo da indústria do curtume como pigmentos cerâmicos**. 2006. Tese (Doutorado em Engenharia) – Escola Politécnica da Universidade de São Paulo, São Paulo, 2006.
- ACIOLY, L.M.L. **Pantoea isolada de efluente industrial: identificação, caracterização, susceptibilidade e aplicação na remoção de metais pesados**. 2014. Tese (Doutorado em Ciências Biológicas) – Centro de Ciências Biológicas, Universidade Federal de Pernambuco, Recife, 2014.
- AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA. ANVISA. **Agenda Regulatória Quadriênio 2017-2020**. Tema 4.5 – Contaminantes em alimentos. Brasília: Ministério da Saúde, 2020
- AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA. ANVISA. **Resolução RDC nº 42, de 29 de agosto de 2013**. Dispõe sobre o regulamento técnico MERCOSUL sobre limites máximos de contaminantes inorgânicos em alimentos. Brasília: Ministério da Saúde, 2013.
- ALMEIDA, M.F. **Potencial de bio sorção do mercúrio pela estirpe *Aspergillus flavus* IOC-4133**. 2018. Trabalho de Conclusão de Curso (Bacharelado em Ciências Biológicas) – Centro Universitário Estadual da Zona Oeste, Rio de Janeiro, 2018.
- ALVES, G.M. **Método fundamentado em processamento digital de imagens para contagem automática de unidades formadoras de colônias**. 2006. Dissertação (Mestrado em Ciência da Computação) – Centro de Ciências Exatas e de Tecnologia, Universidade Federal de São Carlos, São Carlos, 2006.
- ANDERSON, T.A.; GUTHRIE, E.A.; WALTON, B.T. Bioremediation in the rhizosphere. **Environmental Science & Technology**, v. 27, n. 13, p. 2630-2636, 1 dez. 1993. DOI: <https://doi.org/10.1021/es00049a001>. Disponível em: <https://pubs.acs.org/doi/abs/10.1021/es00049a001>. Acesso em: 23 jun. 2021.
- ANDRADE, D.M. **Avaliação de bactérias provenientes de um biofiltro de tratamento de vapores de gasolina**. 2008. Dissertação (Mestrado em Engenharia Ambiental) – Centro Tecnológico, Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2008.
- ANDRADE, J.A.; AUGUSTO, F.; JARDIM, I.C.S.F. Biorremediação de solos contaminados por petróleo e seus derivados. **Eclética Química**, v. 35, n. 3, p. 17-43, set. 2010. DOI: <https://doi.org/10.1590/S0100-46702010000300002>. Disponível em: <https://www.scielo.br/j/eq/a/sGLvvg5B6qBspNBtncd9GKq/?lang=pt>. Acesso em: 12 mai. 2020.

ANDRADE, J.C.M.; TAVARES, S.R.L.; MAHLER, C.F. **Fitorremediação**: o uso de plantas na melhoria da qualidade ambiental. São Paulo: Oficina de Textos, 2007.

ANDREAZZA, R., CAMARGO, F.A.O., ANTONIOLLI, Z.I., QUADRO, M.S., BARCELOS, A.A. Biorremediação de áreas contaminadas com cobre. **Revista de Ciências Agrárias**, v. 36, n. 2, p. 127-136, 2013. DOI: <https://doi.org/10.19084/rca.16290>. Disponível em: <https://revistas.rcaap.pt/rca/article/view/16290>. Acesso em: 22 set. 2020.

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS. ABNT. **NBR13738 de 11/1996**. Água - Determinação de cromo hexavalente - Método colorimétrico da difenilcarbazida.

AZIZOLLAHI ALIABADI, M.; FAEZI GHASEMI, M.; ISAAZADEH, K.H. Antimicrobial activity bioactive compounds produced by *Exiguobacterium acetylicum* PTCC1756 against pathogenic bacteria. **Scientific Journal of Microbiology**, v. 3, n. 4, p. 55-61, abr. 2014. DOI: 10.14196/sjm.v3i4.1320. Disponível em: <http://sjournals.com/index.php/sjm/article/view/1369>. Acesso em: 20 mar. 2021.

AZUBUIKE, C.C.; CHIKERE, C.B.; OKPOKWASIL, 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, art. 180, nov. 2016. DOI: 10.1007/s11274-016-2137-x. Disponível em: <https://link.springer.com/article/10.1007%2Fs11274-016-2137-x>. Acesso em: 28 set. 2020.

BAIRD, C.; CANN, M. **Química ambiental**. 2. ed. Porto Alegre: Bookman, 2002.

BALTAZAR, M.P.G.; GRACIOSO, L.H.; AVANZI, I.R.; KAROLSKI, B.; TENÓRIO, J.A.S.; NASCIMENTO, C.A.O.; PERPETUO, E.A. Copper biosorption by *Rhodococcus erythropolis* isolated from the Sossego Mine – PA – Brazil. **Journal of Materials Research and Technology**, v. 8, n. 1, p. 475-483, 2019. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jmrt.2018.04.006>. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S2238785417306609>. Acesso em: 13 out. 2020.

BANGUERO, R.S.L.; COLLAZOS, A.M.; LIZCANO-VALBUENA, W.H.; BENÍTEZ-CAMPO, N. Actividad electroquímica de la cepa bacteriana CrLIM26 acoplada a la reducción de Cr (VI). **Revista Internacional de Contaminación Ambiental**, v. 36, n. 3, p. 555-565, ago. 2020. DOI: <https://doi.org/10.20937/rica.53405>. Disponível em: http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0188-49992020000300555&lng=es&nrm=iso&tlng=es. Acesso em: 12 abr. 2021.

BARRETO, A.B. **A seleção de macrófitas aquáticas com potencial para remoção de metais-traço em fitorremediação**. 2011. Dissertação (Mestrado em Saneamento, Meio Ambiente e Recursos Hídricos) – Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 2011.

BASÍLICO, G.; CABO, L.; FAGGI, A. Adaptación de índices de calidad de agua y de riberas para la evaluación ambiental en dos arroyos de la llanura pampeana. **Revista del Museo Argentino de Ciencias Naturales**, v. 17, n. 2, p. 119-134, dez. 2015. Disponível em: <http://revista.macn.gob.ar/ojs/index.php/RevMus/article/view/411>. Acesso em: 13 jun. 2021.

BASÍLICO, G.; MAGDALENO, A.; PAZ, M.; MORETTON, J.; FAGGI, A.; CABO, L. Sewage pollution: genotoxicity assessment and phytoremediation of nutrients excess with *Hydrocotyle ranunculoides*. **Environmental Monitoring and Assessment**, v. 189, n. 182, mar. 2017. DOI: 10.1007/s10661-017-5892-8. Disponível em: <https://link.springer.com/article/10.1007%2Fs10661-017-5892-8>. Acesso em: 13 jun. 2021.

BERTRAND, J.C.; CAUMETTE, P.; LEBARON, P.; MATHERON, R.; NORMAND, P.; SIME-NGANDO, T. **Environmental Microbiology: Fundamentals and Applications**. France: Springer Science, 2011.

BIELICKA, A.; BOJANOWSKA, I.; WISNIEWSKI, A. Two faces of chromium: pollutant and bioelement. **Polish Journal of Environmental Studies**, v. 14, n. 1, p. 5-10, 2005. Disponível em: <http://www.pjoes.com/Two-Faces-of-Chromium-Pollutant-and-Bioelement,87721,0,2.html>. Acesso em: 22 dez. 2020.

BOECHAT, C.L. **Biorremediação de solos contaminados por metais pesados em áreas de beneficiamento de minério de ouro**. 2014. Tese (Doutorado em Ciência do Solo) - Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2014.

BORGES, P.R.S. O papel da variável classe social no uso de *a gente* em Pelotas – RS e os novos significados sociais para uma análise variacionista. **Revista Intertexto**, v. 12, n. 1, p. 146-163, 2019. DOI: 10.18554/ri.v12i1.3772. Disponível em: <http://seer.uftm.edu.br/revistaeletronica/index.php/intertexto/article/view/3772>. Acesso em: 13 jan. 2020.

BRÄCHER, G.H.; POSSA, T.M.; SILVA-MANETTI, A.G. Uso de *Aphanothece microscópica* Nägeli na biorremediação de cromo de efluentes de curtume. **Brazilian Journal of Animal and Environmental Research**, v. 1, n. 2, p. 420-431, out./dez. 2018. Disponível em: <https://www.brazilianjournals.com/index.php/BJAER/article/view/1053>. Acesso em: 22 jul. 2020.

BRANDÃO, C.A. **Remoção de cromo (VI) e carbono orgânico total em biorreatores híbridos sequenciais**. 2013. Dissertação (Mestrado em Engenharia Química) – Faculdade de Engenharia Química, Universidade Federal de Uberlândia, Uberlândia, 2013.

BRASIL, **Portaria nº 2.914, de 12 de dezembro de 2011**. Ministério da Saúde. Dispõe sobre os procedimentos de controle e de vigilância da qualidade da água para consumo

humano e seu padrão de potabilidade. Brasil: Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil.

BRASIL, **Resolução CONAMA 357, de 17 de março de 2005**. Ministério do Meio Ambiente. Classificação de águas, doces, salobras e salinas do Território Nacional. Brasil: Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil.

BRASIL, **Resolução CONAMA 430, de 13 de maio de 2011**. Ministério do Meio Ambiente. Dispõe sobre as condições e padrões de lançamento de efluentes. Brasil: Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil.

BRUINS, M.R.; KAPIL, S.; OEHME, F.W. Microbial resistance to metals in the environment. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 45, n. 3, p. 198-207, mar. 2000. DOI: <https://doi.org/10.1006/eesa.1999.1860>. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0147651399918602>. Acesso em: 14 mai. 2020.

CALFA, B.A.; TOREM, M.L. **Uso de biomassas em processo combinado biossorção/flotação para remoção de metais pesados**. 2007. Relatório de Atividades do Projeto de Iniciação Científica, Curso de Engenharia Química, Pontifícia Universidade Católica do Rio de Janeiro, 2007.

CARDOSO, E.J.B.N.; NOGUEIRA, M.A. A rizosfera e seus efeitos na comunidade microbiana e na nutrição de plantas. In: SILVEIRA, A.P.D.; FREITAS, S.S. (ed.). **Microbiota do solo e qualidade ambiental**. Campinas: Instituto Agrônomo, 2007. p. 79-96. Disponível em: <http://www.iac.agricultura.sp.gov.br/publicacoes/arquivos/microbiota.pdf>. Acesso em: 20 jun. 2020.

CASTILHOS, D.D.; VIDOR, C.; TEDESCO, M.J. Redução química e biológica do cromo hexavalente aplicado ao solo. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v. 25, n. 2, p. 509-514, jun. 2001. DOI: <https://doi.org/10.1590/S0100-06832001000200026>. Disponível em: <https://www.scielo.br/j/rbcs/a/rZGfdQDxzvJQHMwJbWpKdPw/?lang=pt>. Acesso em: 18 nov. 2020.

CASTRO, S.V. **Efeitos de metais pesados presentes na água sobre a estrutura das comunidades bentônicas do alto Rio das Velhas – MG**. 2006. Dissertação (Mestrado em Saneamento, Meio Ambiente e Recursos Hídricos) - Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 2006.

CENTRO DAS INDÚSTRIAS DE CURTUME DO BRASIL - CICB. **Exportações brasileiras de couros e peles**. Nov. 2020.

CENTRE FOR AGRICULTURE AND BIOSCIENCE INTERNATIONAL. **CABI**. Invasive Species Compendium: *Hydrocotyle ranunculoides* (floating pennywort). 2017. Disponível em: <https://www.cabi.org/isc/datasheet/28068#tosummaryOfInvasiveness>. Acesso em: 17 jun. 2021.

CHOJNACKA, K. Biosorption and bioaccumulation – the prospects for practical applications. **Environment International**, v. 36, n. 3, p. 299-307, abr. 2010. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.envint.2009.12.001>. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0160412009002396>. Acesso em: 10 jul. 2020.

COELHO, V.M.B.; FONSECA, M.R.M.B. **Projeto regional sobre avaliação e controle do lançamento de substâncias tóxicas em águas superficiais**. Estudo de caso do Rio Paraíba do Sul: CEPIS-OPS/FEEMA/CETESB; 1986.

COLLINS, M. D.; LUND, B. M.; FARROW, J. A. E.; SCHLEIFER, K. H. Chemotaxonomic study of an alkalophilic bacterium, *Exiguobacterium aurantiacum* gen. nov., sp. nov. **Journal of General Microbiology**, v. 129, n. 7, p. 2037–2042, 01 jul. 1983. DOI: <https://doi.org/10.1099/00221287-129-7-2037>. Disponível em: <https://www.microbiologyresearch.org/content/journal/micro/10.1099/00221287-129-7-2037>. Acesso em: 14 mar. 2021.

CONCEIÇÃO, D.; JACQUES, R.; BENTO, F.; SIMONETTI, A.; SELBACH, P.; CAMARGO, F. Redução de cromo hexavalente por bactérias isoladas de solos contaminados com cromo. **Ciência Rural**, v. 37, n. 6, p. 1661-1667, nov./dez. 2007. DOI: <https://doi.org/10.1590/S0103-84782007000600024>. Disponível em: <https://www.scielo.br/j/cr/a/NfrgHN7nnph9BCy4GTgdFTH/?lang=pt>. Acesso em: 24 jan. 2020.

CONICELLI, B.P. **Biossorção de chumbo e mercúrio pelas linhagens selvagem e recombinante de *C. metallidurans* em meio aquoso**. 2017. Dissertação (Mestrado em Ciências) – Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares, Autarquia Associada à Universidade de São Paulo, São Paulo, 2017.

CONSELHO REGIONAL DE DESENVOLVIMENTO. **COREDE**: Perfil socioeconômico COREDE Sul. Porto Alegre, 2015. Disponível em: <https://governanca.rs.gov.br/upload/arquivos/201603/17095141-perfis-regionais-2015-sul.pdf>. Acesso em: 03 jun. 2020.

COSTA, M.G.C.C. **Valorização de resíduos industriais na formulação de produtos e pigmentos cerâmicos: processamento e desenvolvimento de cor**. 2009. Dissertação (Doutorado em Ciência e Engenharia de Materiais) – Departamento de Engenharia Cerâmica e do Vidro, Universidade de Aveiro, Aveiro, 2009.

COSTA, C.H. **Avaliação toxicológica da nanopartícula de óxido de cromo III através de ensaios *in vivo* e *in vitro***. 2014. Tese (Doutorado em Engenharia Ambiental) – Centro Tecnológico, Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2014.

COSTA, D.A.; MENDONÇA, R.H.; WYSARD JUNIOR, M.M. Avaliação da remoção de cromo (III) por materiais compósitos porosos adsorventes de PE-g-MA, fibra de coco e

quitosana, usando planejamento experimental. **Engenharia Sanitária e Ambiental**, v. 22, n. 6, p. 1203-1213, nov/dez 2017. DOI: 10.1590/S1413-41522017119214.

Disponível em:

<https://www.scielo.br/j/esa/a/BLTTVQp4JwvdTfvqPKGFKkp/abstract/?lang=pt>. Acesso em: 19 abr. 2020.

COUTO, M.N.P.F.S., MONTEIRO, E., VASCONCELOS, M.T.S.D. Mesocosm trials of bioremediation of contaminated soil of a petroleum refinery: comparison of natural attenuation, biostimulation and bioaugmentation. **Environmental Science and Pollution Research**, v. 17, p. 1339-1346, 2010. DOI: 10.1007/s11356-010-0318-y. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/20229281/>. Acesso em: 14 mai. 2020.

CUSTODIO, M.; ORELLANA-MENDOZA, E.; PEÑALOZA, R.; CRUZ-SOLANO, H.; BULEGE-GUTIÉRREZ, W.; QUISPE-MENDOZA, R. Heavy metals accumulation in sediment and removal efficiency in the stabilization ponds with the *Hydrocotyle ranunculoides* filter. **Journal of Ecological Engineering**, v. 21, n. 5, p. 72-79, jul. 2020. DOI: <https://doi.org/10.12911/22998993/122189>. Disponível em: <http://www.jeeng.net/Heavy-Metal-Accumulation-in-Sediment-and-Removal-Efficiency-in-the-Stabilization,122189,0,2.html>. Acesso em: 23 jun. 2021.

DASTAGER, S.G.; KUMARAN, D.C.; PANDEY, A. Characterization of plant growth-promoting rhizobacterium *Exiguobacterium* NII-0906 for its growth promotion of cowpea (*Vigna unguiculata*). **Biologia**, v. 65, n. 2, p. 197-203, fev. 2010. DOI: 10.2478/s11756-010-0010-1. Disponível em: <https://link.springer.com/article/10.2478%2Fs11756-010-0010-1>. Acesso em: 16 mar. 2021.

DE LORENZO, V. Biodegradation and bioremediation: na introduction. Consequences of Microbial Interactions with Hydrocarbons, Oils, and Lipids: Biodegradation and Bioremediation, **Handbook of Hydrocarbon and Lipid Microbiology**, p. 1-21, 18 jun. 2018. DOI: https://doi.org/10.1007/978-3-319-44535-9_1-1. Disponível em: https://link.springer.com/referenceworkentry/10.1007%2F978-3-319-44535-9_1-1. Acesso em: 12 mai. 2021.

DEMARCO, C.F. **Seleção de macrófitas aquáticas com potencial de fitorremediação no arroio Santa Bárbara, município de Pelotas/RS**. 2016. Trabalho de Conclusão de Curso (Bacharelado em Engenharia Ambiental e Sanitária) – Centro de Engenharias, Universidade Federal de Pelotas, Pelotas, 2016.

DEMARCO, C.F.; AFONSO, T.F.; PIENIZ, S.; QUADRO, M.S.; CAMARGO, F.A.O.; ANDREAZZA, R. Evaluation of *Enydra anagallis* remediation at a contaminated watercourse in south Brazil. **International Journal of Phytoremediation**, v. 22, n. 12, p. 1216-1223, 16 abr. 2020. DOI: <https://doi.org/10.1080/15226514.2020.1754759>. Disponível em: <https://www.tandfonline.com/doi/full/10.1080/15226514.2020.1754759>. Acesso em: 12 jan. 2021.

DEMARCO, C.F.; AFONSO, T.F.; PIENIZ, S.; QUADRO, M.S.; CAMARGO, F.A.O.; ANDREAZZA, R. In situ phytoremediation characterization of heavy metals promoted by

Hydrocotyle ranunculoides at Santa Bárbara stream, an anthropogenic polluted site in southern of Brazil. **Environmental Science and Pollution Research**, v. 25, n. 28, p. 28312-28321, out. 2018. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2013.01.075>. Disponível em: <https://link.springer.com/article/10.1007%2Fs11356-018-2836-y>. Acesso em: 26 nov. 2019.

DEMARCO, C.F.; AFONSO, T.F.; QUADRO, M.S.; PIENIZ, S.; ANDRADE, L.C.; CAMARGO, F.A.O.; ANDREAZZA, R. Environmental and multivariate analysis of Santa Bárbara stream, Brazil, contaminated with heavy metals and nutrients. **Australian Journal of Basic and Applied Sciences**, v. 13, n. 1, p. 53-63, jan. 2019. DOI: 10.22587/ajbas.2019.13.1.7. Acesso em: 26 nov. 2019.

DEMIRBAS, A. Agricultural based activated carbons for the removal of dyes from aqueous solutions: A review. **Journal of Hazardous Materials**, v.167, n. 1-3, ap.1-9, ago. 2009. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2008.12.114>. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0304389408019663>. Acesso em: 13 out. 2020.

DERMOU, E.; VELISSARIOU, A.; XENOS, D.; VAYENAS, D.V. Biological removal of hexavalent chromium in trickling filters operating with different filter media types. **Desalination**, v. 211, n. 1-3, p. 156-163, 10 jun. 2007. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.desal.2006.02.090>. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S001191640700207X>. Acesso em: 19 dez. 2020.

DIAS, S.E.V.; CARLONI, A.R.; MELO JÚNIOR, T.A. Resíduos e efluentes gerados pelos curtumes de Franca: uma análise considerando as novas exigências internacionais. **Revista Eletrônica “Diálogos Acadêmicos”**, v. 7, n. 2, p. 49-66, jul./dez. 2014. Disponível em: https://www.researchgate.net/publication/292128868_RESIDUOS_E_EFLUENTES_GERADOS_PELOS_CURTUMES_DE_FRANCA_UMA_ANALISE_CONSIDERANDO_AS_NOVAS_EXIGENCIAS_INTERNACIONAIS. Acesso em: 13 ago. 2020.

DO CARMO, C.A.; ABESSA, D.M.S.; MACHADO NETO, J.G. Metais em águas, sedimentos e peixes coletados no estuário de São Vicente – SP, Brasil. **O Mundo da Saúde**, v. 35, n. 1, p. 64-70, 2011. Acesso em: 14 mai. 2020.

DONADIO, N. M. M.; GALBIATTI, J. A.; PAULA, R. C. Qualidade da água de nascentes com diferentes usos do solo na bacia hidrográfica. **Engenharia Agrícola**, v. 25, n. 1, p. 115-125, 2005. DOI: <https://doi.org/10.1590/S0100-69162005000100013>. Disponível em: <https://www.scielo.br/j/eagri/a/m9KzFQywkjqVLCZZdhT7JsF/?lang=pt>. Acesso em: 12 jul. 2021.

DUA, M.; SINGH, A.; SETHUNATHAN, N.; JOHRI, A.K. Biotechnology and bioremediation: successes and limitations. **Applied Microbiology and Biotechnology**, v. 59, p. 143-152, 2002. DOI: 10.1007/s00253-002-1024-6. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/12111139/>. Acesso em: 21 dez. 2020.

DZIOŃEK, A., WOJCIESZYŃSKA, D., GUZIK, U. Natural carriers in bioremediation: a review. **Electronic Journal of Biotechnology**, v. 23, p. 28-36, 2016. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.ejbt.2016.07.003>. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0717345816300732?via%3Dihub>. Acesso em: 14 out. 2020.

EDGAR, R. C. Search and clustering orders of magnitude faster than BLAST. **Bioinformatics**, v. 26, n. 19, p. 2460–2461, out. 2010. DOI: <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/btq461>. Disponível em: <https://academic.oup.com/bioinformatics/article/26/19/2460/230188>. Acesso em: 20 abr. 2021.

ELSAS, J. D.V.; TREVORS, J. T.; WELLINGTON, E. M. H.; DEKKER, M. **Modern soil microbiology**. 2 ed. Nova York, 1997. 683p.

ESTEVEZ, Francisco de Assis (Coord.). **Fundamentos de Limnologia**. 3 ed. Rio de Janeiro: Interciência, 2011. 790p.

FERNÁNDEZ, P.M.; VIÑARTA, S.C.; BERNAL, A.R.; CRUZ, E.L.; FIGUEROA, L.I.C. Bioremediation strategies for chromium removal: current research, scale-up approach and future perspectives. **Chemosphere**, v. 208, p. 139-148, out. 2018. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2018.05.166>. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0045653518310233>. Acesso em: 15 mai. 2020.

FERRARI, W.A.; PACHECO, J.W.F. **Guia técnico ambiental de curtumes**. 2 ed. CETESB – Companhia Ambiental do Estado de São Paulo, São Paulo, 2015. Disponível em: <https://cetesb.sp.gov.br/camaras-ambientais/wp-content/uploads/sites/21/2013/12/Guia-T%C3%A9cnico-Ambiental-de-Curtumes-v2015.pdf>. Acesso em: 23 jun. 2020.

FERREIRA, K.C.D.; LOPES, F.B.; ANDRADE, E.M.; MEIRELES, A.C.M.; SILVA, G.S. Adaptação do índice de qualidade de água da National Sanitation Foundation ao semiárido brasileiro. **Revista Ciência Agronômica**, v. 46, n. 2, p. 277-286, 2015. DOI: 10.5935/1806-6690.20150007. Disponível em: <https://www.scielo.br/j/rca/a/XxFq47Sh93nmXMVvxHrJYvr/?lang=pt>. Acesso em: 21 set. 2020.

FERRI, P.L.F. **Análises da qualidade da água proveniente de sangradouros localizados no município de Cidreira – litoral norte do Rio Grande do Sul, Brasil**. 2012. Monografia (Bacharel em Ciências Biológicas) - Universidade Estadual do Rio Grande do Sul, Imbé, 2012.

FIGUEIREDO-SGANDERLA, J.A.; PRODANOV, C.C.; DAROIT, D. Impacts of the globalized economy on the environment: the tanning industry in the Vale do Rio dos Sinos. **Brazilian Journal of Biology**, v. 70, n. 4, p. 1231-1243, 2010. DOI: <https://doi.org/10.1590/S1519-69842010000600013>. Disponível em:

<https://www.scielo.br/j/bjb/a/mpfRrwK5TbmKqXnMVrvV7Rj/abstract/?lang=en>. Acesso em: 02 ago. 2020.

FRUTOS, F.J.G.; PÉREZ, R.; ESCOLANO, O.; RUBIO, A.; GIMENO, A.; FERNANDEZ, G.C.; PERUCHA, C.; LAGUNA, J. Remediation trials for hydrocarbon-contaminated sludge from a soil washing process: Evaluation of bioremediation technologies. **Journal of Hazardous Materials**, v. 199-200, p. 262-271, 15 jan. 2012. DOI: 10.1016/j.jhazmat.2011.11.017. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0304389411013677?via%3Dihub>. Acesso em: 14 abr. 2021.

GADD, G.M. Heavy metal pollutants: environmental and biotechnological aspects. In: SCHAECHTER, M. (ed.). **Encyclopedia of Microbiology**, 3 ed. Academic Press, 2009. p. 321-334. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/B9780123739445001498?via%3Dihub>. Acesso em: 13 mai. 2020.

GOMES, M.R.; ROGERO, M.M.; TIRAPEGUI, J. Considerações sobre cromo, insulina e exercício físico. **Revista Brasileira de Medicina do Esporte**, v. 11, n. 5, p. 262-266, set./out. 2005. Disponível em: <https://www.scielo.br/j/rbme/a/6kWrLdbpKbJp334gRhHhpvb/abstract/?lang=pt>. Acesso em: 31 jan. 2021.

GONÇALVES JÚNIOR, A.C.; LUCHESE, E.B.; LENZI, E. Avaliação da fitodisponibilidade de cádmio, chumbo e crômio, em soja cultivada em latossolo vermelho escuro tratado com fertilizantes comerciais. **Química Nova**, v. 23, n. 2, p. 173-177, mar./abr. 2000. Disponível em: http://quimicanova.sbq.org.br/detalhe_artigo.asp?id=1417. Acesso em: 24 jan. 2020.

GONÇALVES, M.M. Cromo. In: **Balanço Mineral Brasileiro**, 2001. Agência Nacional de Mineração, 28 p. Disponível em: <https://www.gov.br/anm/pt-br/centrais-de-conteudo/dnpm/paginas/balanco-mineral/balanco-mineral-brasileiro-2001>. Acesso em: 12 mai. 2020.

GURIA, M.K.; GUHA, A.K.; BHATTACHARYYA, M. A green chemical approach for biotransformation of Cr(VI) to Cr(III), utilizing *Fusarium* sp. MMT1 and consequent structural alteration of cell morphology. **Journal of Environmental Chemical Engineering**, v. 2, n. 1, p. 424-433, mar. 2014. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jece.2014.01.016>. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S2213343714000189>. Acesso em: 13 mar. 2021.

HEREDIA, D.N. Intoxicación ocupacional por metales pesados. **Revista Medica de Santiago de Cuba – Medisan**, v. 21, n. 12, 2017. Disponível em: http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1029-30192017001200012. Acesso em: 18 nov. 2019.

HILTNER, L. Über neuere Erfahrungen und Probleme auf dem Gebiet der Bodenbakteriologie unter besonderer Berücksichtigung der Gründüngung und Brache. **Arb. Deut. Landwirtsch. Ges.**, v.98, p.59-78, 1904.

HUNGRIA, M.; SILVA, K. **Manual de curadores de germoplasma - micro-organismos: rizóbios e bactérias promotoras do crescimento vegetal**. 1 ed. Documentos- Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, Brasília, 2011. Disponível em: <https://www.infoteca.cnptia.embrapa.br/infoteca/handle/doc/933488>. Acesso em: 23 jun. 2020.

HUSSNER, A.; LÖSCH, R. Growth and photosynthesis of *Hydrocotyle ranunculoides* L. fil. in Central Europe. **Flora - Morphology, Distribution, Functional Ecology of Plants**, v. 202, n. 8, p. 653-660, nov. 2007. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.flora.2007.05.006>. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0367253007000862>. Acesso em: 14 jun. 2021.

INSTITUTE OF MEDICINE (US). **DIETARY REFERENCE INTAKES**. Dietary Reference Intakes for Vitamin A, Vitamin K, Arsenic, Boron, Chromium, Copper, Iodine, Iron, Manganese, Molybdenum, Nickel, Silicon, Vanadium, and Zinc. Washington (DC): National Academy Press, 2019.

INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA. **IBGE**: Indicadores IBGE: Estatística da Produção Pecuária, jul./set. 2020. Disponível em: https://biblioteca.ibge.gov.br/visualizacao/periodicos/2380/epp_2020_3tri.pdf. Acesso em: 20 fev. 2021.

INTERNATIONAL AGENCY FOR RESEARCH ON CANCER. **IARC**. Chromium, Nickel and Welding. Monographs on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans, v. 49, Lyon, France: IARC, 1990: 19-256.

JOUTEY, N.T.; BAHAFID, W.; SAYEL, H.; GHACHTOULI, N. Biodegradation: Involved Microorganisms and Genetically Engineered Microorganisms. In: CHAMY, R. **Biodegradation: Life of Science**. Chile: IntechOpen, 2013. p. 289-320. Disponível em: <https://www.intechopen.com/books/biodegradation-life-of-science/biodegradation-involved-microorganisms-and-genetically-engineered-microorganisms>. Acesso em: 14 mai. 2020.

KANE, M.D., POULSEN, L.K., STAHL, D.A. Monitoring the enrichment and isolation of sulfatereducing bacteria by using oligonucleotide hybridization probes designed from environmentally derived 16s ribosomal RNA sequences. **Applied Environmental Microbiology**, v. 59, n. 3, p. 682–686. 1993. DOI: 10.1128/aem.59.3.682-686.1993. Disponível em: <https://journals.asm.org/doi/10.1128/aem.59.3.682-686.1993>.

KANG, C-H.; KWON; Y-J.; SO, J-S. Bioremediation of heavy metals by using bacterial mixtures. **Ecological Engineering**, v. 89, p. 64-69, 2016. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.ecoleng.2016.01.023>. Disponível em:

<https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0925857416300234?via%3Dihub>. Acesso em: 07 out. 2020.

KASANA, R.C.; PANDEY, C.B. *Exiguobacterium*: an overview of a versatile genus with potential in industry and agriculture. **Critical Reviews in Biotechnology**, v. 38, n. 1, p. 141-156, abr. 2017. DOI: <https://doi.org/10.1080/07388551.2017.1312273>. Disponível em: <https://www.tandfonline.com/doi/abs/10.1080/07388551.2017.1312273?journalCode=ibty20>. Acesso em: 12 mai. 2021.

KAVAMURA, V.N., ESPOSITO, E. Biotechnological strategies applied to the decontamination of soils polluted with heavy metals. **Biotechnology Advances**, v. 28, p. 61-69, 2010. DOI:10.1016/j.biotechadv.2009.09.002. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0734975009001530?via%3Dihub>. Acesso em: 18 jul. 2019.

KEYNAN, Y.; WEBER, G.; SPRECHER, H. Molecular identification of *Exiguobacterium acetylicum* as the aetiological agent of bacteraemia. **Journal of Medical Microbiology**, v. 56, n. 4, p. 563-564, abr. 2007. DOI: <https://doi.org/10.1099/jmm.0.46866-0>. Disponível em: <https://www.microbiologyresearch.org/content/journal/jmm/10.1099/jmm.0.46866-0>. Acesso em: 15 mai. 2021.

KORB, C.C.; SUERTEGARAY, D.M.A. Identificação de depósitos tecnogênicos em um reservatório de abastecimento de água da cidade de Pelotas (RS). **Quaternary and Environmental Geosciences**, v. 5, n. 1, p. 41-54, 2014. DOI: 10.5380/abequa.v5i1.33918. Disponível em: <https://revistas.ufpr.br/abequa/article/view/33918>. Acesso em: 20 jul. 2019.

KORZENOWSKI, C. **Estudo da recuperação de soluções de cromo hexavalente contendo íons Al(III) e Fe(III) através da eletrodialise e efeito da incorporação dos íons na degradação de membranas catiônicas**. 2007. Tese (Doutorado em Engenharia) - Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2007.

KYZIOŁ-KOMOSIŃSKA, J.; AUGUSTYNOWICZ, J.; LASEK, W.; CZUPIOL, J.; OCIŃSKI, D. *Callitriche cophocarpa* biomass as a potential low-cost biosorbent for trivalent chromium. **Journal of Environmental Management**, v. 214, p. 295-304, 2018. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2018.03.010>. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0301479718302330?via%3Dihub>. Acesso em: 12 mai. 2021.

LAU, A.M.P. **Métodos geofísicos, geoquímicos e análises físico-químicas no estudo de impacto ambiental por curtume, RS – Brasil**. 2019. Tese (Doutorado em Geologia) – Departamento de Geologia – Centro Politécnico, Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2019.

LEITE, M.A. **Análise do aporte, da taxa de sedimentação e da concentração de metais na água, plâncton e sedimento do Reservatório de Salto Grande, Americana – SP**. 2002. Tese (Doutorado em Ciências da Engenharia Ambiental) - Universidade de São Paulo, São Carlos, 2002.

LIMA, V.F.; MERÇON, F. Metais pesados no ensino de química. **Química Nova na Escola**, v. 33, n. 4, p. 199-205, nov. 2011. Disponível em: http://qnesc.sbq.org.br/online/qnesc33_4/. Acesso em: 14 nov. 2019.

LIMA, C.V.S.; HOEHNE, L.; MEURER, E.J. Cádmio, cromo e chumbo em arroz comercializado no Rio Grande do Sul. **Ciência Rural**, v. 45, n. 12, p. 2164-2167, dez. 2015. DOI: <https://doi.org/10.1590/0103-8478cr20140654>. Disponível em: <https://www.scielo.br/j/cr/a/cRzxYkGvSrQYT3VnhWx6LxR/?lang=pt>. Acesso em: 18 nov. 2020.

LIN, C. e STAHL, D.A. Comparative analyses reveal a highly conserved endoglucanase in the cellulolytic genus *Fibrobacter*. **Journal of Bacteriology**, v. 177, n. 9, p. 2543–2549, 1995. DOI: <https://doi.org/10.1128/jb.177.9.2543-2549.1995>. Disponível em: <https://journals.asm.org/doi/10.1128/jb.177.9.2543-2549.1995>.

LONE, M.I.; HE, Z.; STOFFELLA, P.J.; YANG, X. Phytoremediation of heavy metals polluted soils and water: progresses and perspectives. **Journal of Zhejiang University – SCIENCE B**, v. 9, n. 3, p. 210-220, 2008. DOI: 10.1631/jzus.B0710633. Disponível em: <https://link.springer.com/article/10.1631%2Fjzus.B0710633>. Acesso em: 02 dez. 2019.

MANGABEIRA, P.A.; MIELKE, M.S.; ARANTES, I.; DUTRUCH, L.; SILVA, D.C.; BARBIER, F.; ALMEIDA, A.A.F.; OLIVEIRA, A.H.; SEVERO, M.I.G.; LABEJOF, L.; ROCHA, D.C.; ROSA, T.S.; SANTANA, K.B.; GAVRILOV, K.L.; GALLE, P.; LEVI-SETTI, R.; GRENIER-LOUSTALOT, M.F. Bioaccumulation of chromium in aquatic macrophyte *Borreria scabiosoides* Cham. & Schltdl. **Applied Surface Science**, v. 252, n. 19, p. 6816-6819, 30 jul. 2006. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.apsusc.2006.02.118>. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0169433206004193?via%3Dihub>. Acesso em: 23 jun. 2021.

MARTINS, N.H.C. **Resistência de metais pesados em bactérias de importância médica isoladas de ambientes aquáticos no Brasil: uma revisão sistemática**. 2017. Monografia (Graduação em Biomedicina) - Universidade Federal do Rio Grande do Norte, Natal, 2017.

MARTINS, R.J.E. **Acumulação e liberação de metais pesados por briófitas aquáticas**. 2004. Dissertação (Doutorado em Engenharia Química) - Universidade do Porto, 2004.

MARTINS, S.C.S.; MARTINS, C.M. Bactérias diazotróficas: potencial para biorremediação de ambientes impactados. **Enciclopédia Biosfera**, Centro Científico

Conhecer, v. 9, n. 17, 2013. Disponível em:
<https://conhecer.org.br/ojs/index.php/biosfera/article/view/3240>. Acesso em: 12 mar. 2021.

MATOS, W.O.; NÓBREGA, J.A.; SOUZA, G.B.; NOGUEIRA, A.R.A. Especiação redox de cromo em solo acidentalmente contaminado com solução sulfocrômica. **Química Nova**, v. 31, n. 6, p. 1450-1454, 2008. DOI: <https://doi.org/10.1590/S0100-40422008000600032>. Disponível em:
<https://www.scielo.br/j/qn/a/8NMYyrg8ncnNYNBgGpXfjLf/?lang=pt>. Acesso em: 14 out. 2020.

MELLA, B. **Remoção de cromo de banhos residuais de curtimento através da precipitação química e eletrocoagulação**. 2013. Dissertação (Mestrado em Engenharia) - Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2013.

MELNIK, E.S. Alternative design for electrocoagulation treatment of chromium – containing electroplating wastewater. **Journal of Water Chemistry and Technology**, v. 38, n. 1, p. 45-50, 2016. DOI: 10.3103/S1063455X16010082. Disponível em:
<https://link.springer.com/article/10.3103/S1063455X16010082>. Acesso em: 14 out. 2019.

MELVILLE, F.; BURCHETT, M. Genetic variation in *Avicennia marina* in three estuaries of Sydney (Australia) and implications for rehabilitation and management. **Marine Pollution Bulletin**, v. 44, n. 6, p. 469-479, 2002. DOI: [https://doi.org/10.1016/S0025-326X\(01\)00259-4](https://doi.org/10.1016/S0025-326X(01)00259-4). Disponível em:
<https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0025326X01002594?via%3Dihub>. Acesso em: 12 mar. 2020.

MILAZZO, A.D.D.; RIOS, M.C.; OTERO, O.M.F.; CRUZ, M.J.M. Concentração de metais em águas superficiais do estuário do rio São Paulo, baía de todos os santos. Publicação original - **Cadernos de Geociências**, v. 8, n. 1, 2011. Disponível em:
<https://repositorio.ufba.br/ri/handle/ri/5695>. Acesso em 15 out. 2019.

MIOR, R.; DUTRA, J.N.B.; CARASEK, E.; MARTENDAL, E. Desenvolvimento de um método analítico baseado em microextração líquido-líquido para a determinação de cromo (VI) em amostras aquosas com detecção por espectrometria de absorção atômica em chama. **Química Nova**, v. 36, n. 7, p. 942-946, 2013. DOI:
<https://doi.org/10.1590/S0100-40422013000700004>. Disponível em:
<https://www.scielo.br/j/qn/a/MTsrY9rHMghLX9CGgTr33zh/?lang=pt>. Acesso em: 14 jul. 2020.

MOHAMMADIAN, E.; AHARI, A.B.; ARZANLOU, M.; OUSTAN, S.; KHAZAEI, S.H. Tolerance to heavy metals in filamentous fungi isolated from contaminated mining soils in the Zanjan Province, Iran. **Chemosphere**, v. 185, p. 290-296, out. 2017. DOI:
<https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2017.07.022>. Disponível em:
<https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0045653517310652?via%3Dihub>. Acesso em: 12 jul. 2020.

MOHANTY, M.; PATRA, H.K. Attenuation of chromium toxicity by bioremediation technology. **Reviews of Environmental Contamination and Toxicology**, v. 210, p. 1-34, 2011. DOI: 10.1007/978-1-4419-7615-4_1. Disponível em: https://link.springer.com/chapter/10.1007%2F978-1-4419-7615-4_1. Acesso em: 08 abr. 2020.

MONTEIRO, M.I.C.; FRAGA, I.C.S.; YALLOUZ, A.V.; OLIVEIRA, N.M.M.; RIBEIRO, S.H. Determination of total chromium traces in tannery effluents by electrothermal atomic absorption spectrometry, flame atomic absorption spectrometry and UV-visible spectrophotometric methods. **Talanta**, v. 58, n.4, p. 629-633, out. 2002. DOI: [https://doi.org/10.1016/S0039-9140\(02\)00317-X](https://doi.org/10.1016/S0039-9140(02)00317-X). Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S003991400200317X>. Acesso em: 18 nov. 2020.

MORAES, M.F. **Micronutrientes e metais pesados tóxicos: do fertilizante ao produto agrícola**. 2009. Tese (Doutorado em Ciências) – Centro de Energia Nuclear na Agricultura, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2009.

MUNIZ, D.H.F.; OLIVEIRA-FILHO, E.C. Metais pesados provenientes de rejeitos de mineração e seus efeitos sobre a saúde e o meio ambiente. **Universitas: Ciências da Saúde**, v. 4, n. 1/2, p. 83-100, 2006. DOI: <https://doi.org/10.5102/ucs.v4i1.24>. Disponível em: <https://www.publicacoesacademicas.uniceub.br/cienciasaude/article/view/24>. Acesso em: 06 dez. 2019.

MURTHY, Y.R.; TRIPATHY, S.K.; KUMAR, C.R. Chrome ore beneficiation challenges & opportunities – a review. **Minerals Engineering**, v. 24, n. 5, p. 375-380, abr. 2011. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.mineng.2010.12.001>. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0892687510003286>. Acesso em: 24 abr. 2020.

NAVROSKI, D.; SILVA, T.L.; SCHERER, A.J.; APPEL, R.J.C.; FAVETTA, A.; BARREIROS, M.A.B.; GRANGE, L. Diversidade morfológica de rizobactérias obtidas de solos sob distintos manejos de cultivo da região oeste do Paraná. **Revista Brasileira de Energias Renováveis**, v. 4, n. 2, p. 117-128, 2015. DOI: <http://dx.doi.org/10.5380/rber.v4i2.42838>. Disponível em: <https://revistas.ufpr.br/rber/article/view/42838>. Acesso em: 14 abr. 2020.

NIES, D.H. Microbial heavy-metal resistance. **Applied Microbiology and Biotechnology**, v.51, p.730-750, 1999. DOI: 10.1007/s002530051457. Disponível em: <https://link.springer.com/article/10.1007%2Fs002530051457>. Acesso em: 12 jul. 2020.

OH, S.Y.; HEO, N.S.; SHUKLA, S.; KANG, S.M.; LEE, I.; LEE, H.; BAJPAI, V.K.; JANG, S.C.; HAN, Y.K.; ROH, C.; SUK, Y. Multi-stress radioactive-tolerant *Exiguobacterium acetylicum* CR1 and its applicability to environmental cesium uptake bioremediation. **Journal of Cleaner Production**, v. 205, p. 281-290, dez. 2018. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jclepro.2018.09.077>. Disponível em:

<https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0959652618327926>. Acesso em: 15 mar. 2021.

OKEKE, B.C. Bioremoval of hexavalent chromium from water by a salt tolerant bacterium, *Exiguobacterium* sp. GS1. **Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology**, v. 35, n. 12, p. 1571-1579, dez. 2008. DOI: 10.1007/s10295-008-0399-5. Disponível em: <https://academic.oup.com/jimb/article/35/12/1571/5993812>. Acesso em: 14 nov. 2020.

OLIVEIRA, R.C. **Contaminação do solo por alguns resíduos de curtume**. 2008. Tese (Doutorado em Solos e Nutrição de Plantas) – Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 2008.

PANDEY, N. *Exiguobacterium*. In: AMARESAN, N.; ANNAPURNA, K.; SANKARANARAYANAN, A.; KUMAR, M.S.; KUMAR, K. (ed.). **Beneficial microbes in agro-ecology**. Academic Press, 2020. p. 169-183. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/B9780128234143000101?via%3Dihub>. Acesso em: 24 jun. 2021.

PAPP, J. F. Chromium. In: Carr, D.D., (ed.), **Industrial Minerals and Rocks**, 6 ed., Colorado: Society of Mining, Metallurgy, and Exploration, Inc. Littleton, 1994, p. 209-228.

PERAL-FILHO, P.P.; SILVA, N.R.; TERRA, N.M.; CARDOSO, V.L.; RESENDE, M.M. Biorremediação de diferentes concentrações iniciais de Cr (VI) com uso de cultura mista. In: XIX JORNADA EM ENGENHARIA QUÍMICA, 2014, Uberlândia. **Anais eletrônicos [...]**. Universidade Federal de Uberlândia, 2014. Disponível em: <http://www.peteq.feq.ufu.br/jorneq/anais2014/trabalhos/A74.pdf>. Acesso em: 15 mar. 2021.

PINO, G.A.H. **Biossorção de metais pesados utilizando pó da casca de coco verde (*Cocos nucifera*)**. 2005. Dissertação (Mestrado em Engenharia Metalúrgica) – Departamento de Ciência dos Materiais e Metalurgia, Pontifícia Universidade Católica do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2005.

PRADHAN, D.; SUKLA, L.B.; SAWYER, M.; RAHMAN, P. K. S. M. Recent bioreduction of hexavalent chromium in wastewater treatment: A review. **Journal of Industrial and Engineering Chemistry**, v. 55, p. 1-20, nov. 2017. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jiec.2017.06.040>. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S1226086X17303295>. Acesso em: 18 ago. 2020.

QUISPE, R.; SOTO, M.; INGARUCA, E.; BULEGE, W.; CUSTODIO, M. Optimization of the operation of a municipal wastewater treatment plant with *Hydrocotyle ranunculoides*. **Journal of Ecological Engineering**, v. 20, n. 9, p. 228-236, out. 2019. DOI: <https://doi.org/10.12911/22998993/112486>. Disponível em:

<http://www.jeeng.net/Optimization-of-the-Operation-of-a-Municipal-Wastewater-Treatment-Plant-with-Hydrocotyle,112486,0,2.html>. Acesso em: 22 jun. 2021.

RASKIN, I.; KUMAR, P.B.A.N.; DUSHENKOV, S.; SALT, D.E. Bioconcentration of heavy metals by plants. **Current Opinion in Biotechnology**, v. 5, n. 3, p. 285-290, jun. 1994. DOI: [https://doi.org/10.1016/0958-1669\(94\)90030-2](https://doi.org/10.1016/0958-1669(94)90030-2). Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0958166994900302>. Acesso em: 24 jun. 2021.

RIZZO, P.F.; ARREGHINI, S.; SERAFINI, R.J.M.; BRES, P.A.; CRESPO, D.E.; IORIO, A.R.F. Remediation of feedlot effluents using aquatic plants. **Revista de la Facultad de Ciencias Agrarias**, v. 44, n. 2, p. 47-64, 2012. Disponível em: https://www.researchgate.net/publication/274309482_Remediation_of_feedlot_effluents_using_aquatic_plants. Acesso em: 17 jun. 2021.

SAMANTARAY, D.; MOHAPATRA, S.; MISHRA, B.B. Microbial bioremediation of industrial effluents. In: DAS, S. (ed.). **Microbial Biodegradation and Bioremediation**. Rourkela (India): 2014. p. 325-339. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/B9780128000212000145?via%3Dihub>. Acesso em: 30 abr. 2020.

SAMPAIO, J.A.; ANDRADE, M.C.; PAIVA, P.R.P. Cromita. In: **Rochas e Minerais Industriais no Brasil: usos e especificações**. 2 ed. Rio de Janeiro: CETEM/MCTI – Centro de Tecnologia Mineral, 2008. p. 403-425. Disponível em: <http://mineralis.cetem.gov.br/handle/cetem/1107>. Acesso em: 13 jul. 2020.

SAMPAIO, T.P.; WINCKLER, L.T. **Enquadramento de corpos d'água da bacia hidrográfica do Arroio Santa Bárbara, Pelotas, RS**. Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento, Embrapa Clima Temperado, Pelotas, 2017. Disponível em: <https://www.embrapa.br/busca-de-publicacoes/-/publicacao/1085057/enquadramento-de-corpos-dagua-da-bacia-hidrografica-do-arroio-santa-barbara-pelotas-rs>. Acesso em: 16 mai. 2020.

SARWAR, N.; IMRAN, M.; SHAHEEN, M.R.; ISHAQUE, W.; KAMRAN, M.A.; MATLOOB, A.; REHIM, A.; HUSSAIN, S. Phytoremediation strategies for soils contaminated with heavy metals: modifications and future perspectives. **Chemosphere**, v. 171, p. 710-721, mar. 2017. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2016.12.116>. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0045653516318574>. Acesso em: 23 jun. 2021.

SELVAKUMAR, G.; JOSHI, P.; NAZIM, S.; MISHRA, P.K.; KUNDU, S.; GUPTA, H.S. *Exiguobacterium acetylicum* strain 1P (MTCC 8707) a novel bacterial antagonist from the North Western Indian Himalayas. **World Journal of Microbiology and Biotechnology**, v. 25, p. 131-137, 2009. DOI: 10.1007/s11274-008-9874-4. Disponível em: <https://link.springer.com/article/10.1007%2Fs11274-008-9874-4>. Acesso em: 13 mar. 2021.

SELVAKUMAR, G.; KUNDU, S.; JOSHI, P.; NAZIM, S.; GUPTA, A.D.; GUPTA, H.S. Growth promotion of wheat seedlings by *Exiguobacterium acetylicum* 1P (MTCC 8707) a cold tolerant bacterial strain from the Uttarakhand Himalayas. **Indian Journal of Microbiology**, v. 50, p. 50-56, mar. 2010. DOI: 10.1007/s12088-009-0024-y. Disponível em: <https://link.springer.com/article/10.1007%2Fs12088-009-0024-y>. Acesso em: 13 mar. 2021.

SHANKER, A.K.; CERVANTES, C.; LOZA-TAVERA, H.; AVUDAINAYAGAM, S. Chromium toxicity in plants. **Environment International**, v. 31, p. 739-753, 2005. DOI: 10.1016/j.envint.2005.02.003. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0160412005000231?via%3Dihub>. Acesso em: 16 dez. 2019.

SILVA, C. S.; PEDROZO, M.F.M. **Ecotoxicologia do cromo e seus compostos**. Salvador: Cadernos de Referência Ambiental, v.5, 2001.

SILVA, J.L.B.C.; PEQUENO, O.T.B.L.; ROCHA, L.K.S.; ARAÚJO, E.C.O.; MARCIEL, T.A.R.; BARROS, A.J.M. Biossorção de metais pesados: uma revisão. **Revista Saúde e Ciência On line**, v. 3, n. 3, p. 137-149, set./dez. 2014. DOI: <https://doi.org/10.35572/rsc.v3i3.320>. Disponível em: <https://rsc.revistas.ufcg.edu.br/index.php/rsc/article/view/320>. Acesso em: 21 mai. 2020.

SILVA, M.V. **Avaliação do potencial de uma microalga acidofílica quanto a biorremediação de metais traço em diferentes compartimentos ambientais**. 2011. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia Ambiental) – Universidade do Vale do Itajaí, Itajaí, 2011.

SIMON, A. L. H.; GONÇALVES, A. M. B. A.; HILSINGER, R.; NOAL, R. E. Impactos Ambientais e estado de degradação ambiental do Canal do Santa Bárbara, Município de Pelotas, R.S. In: Simpósio Brasileiro de Geografia Física Aplicada, 10 ed., 11 p., 2007. **Anais eletrônicos**. Disponível em: <http://www.cibergeo.org/XSBGFA/eixo3/3.3/202/202.htm>. Acesso em: 27 set. 2019.

SOROKULOVA, I.; KRUMNOW, A.; GLOBAL, L.; VODYANOY, V. Efficient decomposition of shrimp shell waste using *Bacillus cereus* and *Exiguobacterium acetylicum*. **Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology**, v. 36, n. 8, p. 1123-1126, ago. 2009. DOI: <https://doi.org/10.1007/s10295-009-0587-y>. Disponível em: <https://academic.oup.com/jimb/article/36/8/1123/5993639>. Acesso em: 15 mar. 2021.

SOUSA, V.F.O.; SANTOS, G.L. Elemento cromo na nutrição mineral de plantas. **Revista da Universidade Vale do Rio Verde**, v. 16, n. 2, ago./dez. 2018. DOI: <http://dx.doi.org/10.5892/ruvrd.v16i2.4352>. Disponível em: <http://periodicos.unincor.br/index.php/revistaunincor/article/view/4352>. Acesso em: 12 out. 2019.

SRIVASTAVA, J.; GUPTA, A.; CHANDRA, H. Managing water quality with aquatic macrophytes. **Reviews in Environmental Science and Bio/Technology**, v. 7, p. 255-

266, 2008. DOI: 10.1007/s11157-008-9135-x. Disponível em: <https://link.springer.com/article/10.1007/s11157-008-9135-x>. Acesso em: 23 jun. 2021.

TAM, L.; DERRY, A.M.; KEVAN, P.G.; TREVORS, J.T. Functional diversity and community structure of microorganisms in rhizosphere and non-rhizosphere Canadian arctic soils. **Biodiversity & Conservation**, v. 10, n. 11, p. 1933-1947, nov. 2001. DOI: 10.1023/A:1013143503902. Disponível em: <https://link.springer.com/article/10.1023/A:1013143503902>. Acesso em: 22 jun. 2021.

TAVARES, S.R.L.; OLIVEIRA, S.A.; SALGADO, C.M. Avaliação de espécies vegetais na fitorremediação de solos contaminados por metais pesados. **Holos**, v. 5, p. 80-97, 2013. DOI: <https://doi.org/10.15628/holos.2013.1852>. Disponível em: <http://www2.ifrn.edu.br/ojs/index.php/HOLOS/article/view/1852>. Acesso em: 24 jun. 2021.

TORTORA, G.J.; FUNKE, B.R.; CASE, C.L. **Microbiologia**. 10 ed. Porto Alegre: Editora Artmed, 2012. 967p.

TREBIEN, D.O.P.; BORTOLON, L.; TEDESCO, M.J.; BISSANI, C.A.; CAMARGO, F.A.O. Environmental factors affecting chromium-manganese oxidation-reduction reactions in soil. **Pedosphere**, v. 21, n. 1, p. 84-89, fev. 2011. DOI: [https://doi.org/10.1016/S1002-0160\(10\)60082-3](https://doi.org/10.1016/S1002-0160(10)60082-3). Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S1002016010600823>. Acesso em: 14 out. 2019.

VALLS, M.; DE LORENZO, V. Exploiting the genetic and biochemical capacities of bacteria for the remediation of heavy metal pollution. **FEMS Microbiology Reviews**, v. 26, p. 327-338, 2002. DOI: 10.1111/j.1574-6976.2002.tb00618.x. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/12413663/>. Acesso em: 12 jan. 2020.

VIJAYARAGHAVAN, K.; YUN, Y.S. Bacterial biosorbents and biosorption. **Biotechnology Advances**, v. 26, n. 3, p. 266-291, mai./jun. 2008. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.biotechadv.2008.02.002>. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0734975008000177>. Acesso em: 18 out. 2020.

VISHNIVETSKAYA, T.A.; KATHARIOU, S.; TIEDJE, J.M. The *Exiguobacterium* genus: biodiversity and biogeography. **Extremophiles**, v. 13, n. 3, p. 541-555, abr. 2009. DOI: 10.1007/s00792-009-0243-5. Disponível em: <https://link.springer.com/article/10.1007%2Fs00792-009-0243-5>. Acesso em: 14 mar. 2021.

VISHNIVETSKAYA, T.A.; SILETZKY, R.; JEFFERIES, N.; TIEDJE, J.M.; KATHARIOU, S. Effect of low temperature and culture media on the growth and freeze-thawing tolerance of *Exiguobacterium* strains. **Cryobiology**, v. 54, n. 2, p. 234-240, fev. 2007. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.cryobiol.2007.01.008>. Disponível em:

<https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0011224007000107>. Acesso em: 14 mar. 2021.

VOLESKY, B. Detoxification of metal-bearing effluents: biosorption for the next century. **Hydrometallurgy**, v. 59, n. 2-3, p. 203-216, fev. 2001. DOI: [https://doi.org/10.1016/S0304-386X\(00\)00160-2](https://doi.org/10.1016/S0304-386X(00)00160-2). Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0304386X00001602>. Acesso em: 14 mai. 2020.

VOLESKY, B. **Sorption and biosorption**. Montreal: BV Sorbex, 2003. 316 p.

WETLER-TONINI, R.M.C.; REZENDE, C.E.; GRATIVOL, A.D. Degradação e biorremediação de compostos do petróleo por bactérias: revisão. **Oecologia Australis**, v.14, n. 4, p. 1010-1020, 2010. DOI: 10.4257/oeco.2010.1404.11. Disponível em: <https://revistas.ufrj.br/index.php/oa/article/view/7128>. Acesso em: 15 jan. 2020.

WONG-ARGUELLES, C.; ALONSO-CASTRO, J.A.; ILIZALITURRI-HERNANDEZ, C.A.; CARRANZA-ALVAREZ, C. **Credibility of in situ phytoremediation for restoration of disturbed environments**. In: HAKEEM, K.R.; BHAT, R.A.; QADRI, H. (ed.) *Bioremediation and Biotechnology: sustainable approaches to pollution degradation*.

YAKUBU, M.B. Biological approach to oil spills remediation in the soil. **African Journal of Biotechnology**, v. 6, n. 24, p. 2735-2739, 17 dez. 2007. DOI: 10.5897/AJB2007.000-2437. Disponível em: <https://academicjournals.org/journal/AJB/article-abstract/3EFD72A8682>. Acesso em: 12 jan. 2020.

YANG, J.; ZHENG, G.; YANG, J.; WAN, X.; SONG, B.; CAI, W.; GUO, J. Phytoaccumulation of heavy metals (Pb, Zn, and Cd) by 10 wetland plant species under different hydrological regimes. **Ecological Engineering**, v. 107, p. 56-64 2017. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.ecoleng.2017.06.052>. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0925857417303804?via%3Dihub>. Acesso em: 02 dez. 2019.

ZEITOUNI, C.F.; BERTON, R.S.; ABREU, C.A. Fitoextração de cádmio e zinco de um latossolo vermelho-amarelo contaminado com metais pesados. **Bragantia**, v. 66, n. 4, p. 649-657, 2007. DOI: <https://doi.org/10.1590/S0006-87052007000400015>. Disponível em: <https://www.scielo.br/j/brag/a/QMPYYLDyKQDk8TprBbgzyNk/abstract/?lang=pt>. Acesso em 24 jun. 2021.