

RUOLO DEI MICRORGANISMI NELLA MOBILIZZAZIONE DEL MERCURIO NEI SEDIMENTI E LA SALUTE UMANA

Stefania Marcheggiani, Laura Mancini

Dipartimento Ambiente e Salute, Istituto Superiore di Sanità, Roma

I microrganismi, in particolare i batteri sono funzionalmente vitali per tutti gli ecosistemi (Liang *et al.* 2021; Torsvik & Øvreås, 2002; Fuhrman, 2009; Laforest-Lapointe *et al.*, 2017). Essi svolgono un ruolo fondamentale nel ciclo dei nutrienti e nel mantenimento della qualità degli ecosistemi e degli organismi viventi, oltre a essere indispensabili per molte relazioni simbiotiche con organismi superiori (Liang *et al.*, 2021). La loro complessa diversità biochimica gli consente di esistere in molti *habitat* diversi e, le loro interazioni con la componente abiotica, sono centrali per le funzioni dell'ecosistema e per la trasformazione/eliminazione di molti inquinanti. In questo contesto è opportuno sottolineare l'importante ruolo dei sedimenti nell'ecosistema acquatico.

Attraverso l'interfaccia acqua-sedimento si verifica un continuo fluire di composti organici e inorganici e questi interscambi possono essere accelerati dall'attività biologica. La loro ripartizione nell'ecosistema acquatico è in funzione della granulometria del sedimento, della natura delle particelle solide presenti e, non ultimo, dello stato di salute del microbioma ambientale (Marcheggiani *et al.*, 2004; Carere *et al.*, 2008; Mancini *et al.*, 2010).

I sedimenti comprendono ecosistemi microbici sia aerobici che anaerobici, che persistono con flussi molto bassi di biodisponibilità ed energia nel tempo geologico. La biodiversità microbica del sedimento supera di gran lunga quella degli organismi eucarioti. Un grammo di terreno può ospitare fino a 10 miliardi di microrganismi appartenenti a migliaia di specie diverse e meno dell'1% di essi è coltivato e caratterizzato (Torsvik & Øvreås, 2002). Mentre il microbioma umano comprende 100 trilioni di cellule microbiche appartenenti a 10.000 specie di batteri che costituiscono circa 1,5-2 kg del peso corporeo (Turnbaugh *et al.*, 2007).

L'attività biochimica del microbioma del sedimento contribuisce sostanzialmente alla biomassa globale della Terra. Tuttavia la diversità tassonomica del bioma microbico dei sedimenti e la distribuzione spaziale di tale diversità sono ancora poco conosciuti (Hosino *et al.*, 2020). La struttura e le funzioni delle comunità microbiche sono strettamente legate alle peculiarità intrinseche del sedimento. Il sedimento ha origine dall'erosione di minerali e da materiale organico. Il sedimento rappresenta un *habitat* estremamente eterogeneo, il diametro, la densità e la forma delle particelle, unitamente alle caratteristiche composizionali, rappresentano il fattore principale che influenza il trasporto e la successiva deposizione del particolato nonché determinano le condizioni favorevoli per la colonizzazione delle diverse comunità (Marcheggiani & Mancini, 2011). In base alle caratteristiche del sedimento si può distinguere una parte attiva rappresentata dallo strato superficiale, circa i primi due centimetri, limo argilla e sabbia, e una parte non attiva rappresentata dallo strato più profondo.

Le molecole e gli ioni inorganici e organici possono essere facilmente adsorbiti dal particolato in sospensione e veicolati, depositati e accumulati negli ecosistemi acquatici. La sostanza sospesa particolata (*Suspended Particulate Matter*, SPM), è costituita da due frazioni.

La frazione organica è costituita da organismi viventi, fitoplancton, nanoplancton e batteri, materiale detritico, prodotti della degradazione di cellule di piante o alghe, frammenti di diatomee, secrezioni e pellets fecali, prevalentemente di invertebrati.

La frazione inorganica sospesa è derivata principalmente dalla modificazione e dall'erosione della crosta continentale, dallo scioglimento dei ghiacciai, dall'atmosfera e in maniera esigua dall'attività vulcanica (Marcheggiani *et al.*, 2004; Marcheggiani *et al.*, 2011).

Metilazione microbica

Il mercurio (Hg), un elemento presente in natura nell'aria, nell'acqua e nel suolo è considerato un metallo tossico e dannoso per la salute dell'uomo e degli ecosistemi (Gustin *et al.*, 2020; Jing *et al.*, 2022). Le attività umane come l'estrazione dell'oro e dell'argento, la combustione dei combustibili fossili, altri processi industriali e l'incenerimento dei rifiuti urbani rappresentano attualmente gran parte dell'immissione totale di mercurio nell'atmosfera, influenzando in modo significativo il ciclo globale del mercurio e la restante parte viene immessa attraverso processi naturali come le eruzioni vulcaniche (EEA, 2018).

L'inquinamento da mercurio (Hg²⁺) rappresenta una minaccia significativa a livello globale.

La sua forma più tossica è il metilmercurio (CH₃Hg⁺) che può avere effetti negativi sul sistema nervoso (portando a cecità, problemi di linguaggio), sullo sviluppo del feto delle donne in stato di gravidanza; può inoltre compromettere le capacità motorie o la risposta immunitaria, influire sull'apparato riproduttivo o mentale, sul sistema cardiovascolare, polmonare e renale e, non ultimo, portare a coma e morte (Pinto *et al.*, 2020; Takahashi *et al.*, 2017; Balcom *et al.*, 2008; Bernhoft, 2012; Karagas *et al.*, 2012; Park & Zheng 2012; Genchi *et al.*, 2017; Batten, & Scow, 2003). Il metilmercurio è anche tossico per piante e animali, con un impatto negativo sulla loro crescita, riproduzione e sopravvivenza e quindi sulla biodiversità (EEA, 2018).

Il metilmercurio viene prodotto nel sedimento profondo da batteri solfato-riduttori e rilasciato nell'ipolimnio alla fine dell'estate/inizio autunno, quando si impoverisce di ossigeno e nitrati. Il mercurio, nonostante sia legato stabilmente al sedimento come Hg²⁺, può essere convertito da batteri anaerobi presenti nel suolo in metilmercurio, che deassorbendosi rapidamente dalle particelle del sedimento, si scioglie nella fase acquosa.

Attraverso il meccanismo di detossificazione i microrganismi sono in grado di convertire le specie chimiche tossiche in specie che lo sono meno.

Il metilmercurio è tossico per i microrganismi stessi, inibisce la loro crescita a basse concentrazioni [$<0,05 \mu\text{g/L}$] piuttosto che il Hg²⁺ ($<1,0 \mu\text{g/L}$). Tuttavia, si ritiene che la conversione di Hg²⁺ in CH₃Hg⁺ è il meccanismo di disintossicazione per i batteri poiché quest'ultimo è leggermente più volatile (Batten *et al.*, 2003).

Sebbene i livelli di metilmercurio nella colonna d'acqua siano bassi dell'ordine di 0,1 ppt essi tendono con il meccanismo del bioaccumulo a magnificarsi nelle catene alimentari acquatiche, specialmente nei pesci di grandi dimensioni, crostacei e molluschi e, in tal modo, viene amplificato anche il suo effetto di tossico in molti taxa differenti (EEA, 2018).

Tale processo di trasformazione del mercurio in metilmercurio è restato per molti anni sconosciuto.

La prima osservazione dell'attività batterica sulla superficie dei sedimenti è risultata essere responsabile della metilazione del mercurio che causa la malattia di Minamata (Bravo & Cosio, 2020; Jensen & Jernelöv, 1969). Successive ricerche valutarono la capacità di metilazione a opera di *Pseudomonas fluorescens*, *Mycobacterium phlei*, *Escherichia coli*, *Aerobacter aerogenes* e *Bacillus megaterium* e i risultati riportarono che la maggiore produzione si verificava in condizioni aerobiche (Bravo & Cosio, 2020; Vonk & Sijpesteijn, 1973). Solo dieci anni dopo furono identificati come i principali metilatori i batteri che riducono i solfati (*Sulfate Reducing Bacteria*, SRB) attraverso l'isolamento del *Desulfovibrio desulfuricans* in sedimenti di palude (Bravo & Cosio, 2020; Compeau & Bartha, 1985). Studi successivi confermarono che la riduzione

dei solfati è la principale via metabolica correlata alla metilazione del mercurio (Bravo & Cosio, 2020). Nel 2010, furono identificati i metanogeni come i più importanti metilatori del mercurio nel periphyton lacustre e tali risultati furono confermati con studi successivi (Yu *et al.* 2013; Gilmour *et al.*, 2018).

La sua trasformazione è principalmente mediata da batteri solfati-riduttori implicati come metilatori chiave del mercurio nei sedimenti di laghi, lagune ed estuari (Battern *et al.*, 2003).

Studi hanno mostrato la presenza di *Provisional tolerable weekly intake* per due generi SRB (*Desulfobacter* e *Desulfovibrio*) relativamente a quella del metilmercurio, “desulfobacter-like organism” sembrano essere importanti metilatori del mercurio in diversi siti inquinati da mercurio. In sintesi la metilazione di mercurio è stata principalmente attribuita all’azione di SRB, in alcuni casi a FeRB (*Fe Reducing Bacteria*) e metanogeni (Bravo & Cosio, 2020).

Successivamente, sulla base della conoscenza delle proteine coinvolte in altri processi di metilazione batterica, un nuovo studio è stato in grado di identificare i tipi di proteine coinvolte nella metilazione del mercurio. I risultati di uno studio pubblicato su Science ha fornito le basi genetiche di questo processo di metilazione microbica del mercurio (Parks *et al.*, 2013).

La sfida era trovare come i batteri convertivano il mercurio da processi naturali e industriali in metilmercurio le proteine che possono trasferire alcuni tipi di gruppi metilici e identificare geni responsabili. Sono stati identificati due geni chiamati *hgcA* e *hgcB*. I ricercatori hanno sperimentalmente fatto una delezione di questi geni in due ceppi batterici e la mutazione risultante causa la perdita dell’abilità di produrre metil mercurio. Reinserendo questi geni la capacità veniva ripristinata. Inoltre i ricercatori hanno trovato che questi due geni cluster sono presenti nei microrganismi metilatori e che vi sono più di 50 altri microrganismi che possiedono coppie di geni simili in grado di metilare il mercurio.

In conclusione la metilazione microbica del mercurio nei sedimenti può provocare il bioaccumulo del metilmercurio nelle reti alimentari acquatiche. La scoperta del gene *hgcA*, necessario per la metilazione del Hg, ha rivelato che la diversità dei metilatori di mercurio è molto più ampia di quanto si pensasse in precedenza.

Grazie a questa scoperta, si è compiuto un passo significativo nella valutazione dei rischi per la salute associati all’esposizione a siti contaminanti poiché si è avuto evidenza del ruolo chiave dei microrganismi nella mobilizzazione del mercurio dagli ecosistemi acquatici e quindi *intake* attraverso la catena alimentare. In un’ottica di prevenzione *Planetary health* per la salute umana dovuto a esposizione a contaminanti attraverso gli ecosistemi acquatici non si può prescindere dalla biochimica dei microrganismi.

Bibliografia

- Balcom PH, Hammerschmidt CR, Fitzgerald, WF, Lamborg CH, O’Connor JS. Seasonal distributions and cycling of mercury and methylmercury in the waters of New York/New Jersey Harbor Estuary. *Marine Chemistry* 2008;109(1-2):1-17.
- Batten K, Scow K. Sediment microbial community composition and methylmercury pollution at four mercury mine-impacted sites. *Microb Ecol* 2003;46:429-41.
- Bernhoft RA. Mercury toxicity and treatment: a review of the literature. *J Environ Public Health* 2012;460508.
- Bravo AG, Cosio C. Biotic formation of methylmercury: a bio-physico-chemical conundrum. *Limnology and Oceanography* 2020;65(5):1010-27.
- Carere M, Marcheggiani S, Miniero R, Pillozzi A, Mancini L. Risk assessment elements for the management of contaminated sediment. Research and methodologies. *Ann Ist Super Sanità* 2008;44(3):217.

- Compeau GC, Bartha R. Sulfate-reducing bacteria: principal methylators of mercury in anoxic estuarine sediment. *Appl Environ Microbiol* 1985;50:498-502.
- EEA (European Environment Agency). *Mercury in Europe's environment. A priority for European and global action*. Luxembourg: Publications Office of the European Union; 2018. (EEA Report n. 11; 2018). DOI: 10.2800/558803.
- Fuhrman JA. Microbial community structure and its functional implications *Nature* 2009;459:193-99.
- Genchi G, Sinicropi MS, Carocci A, Lauria G, Catalano A. Mercury exposure and heart diseases. *Int J Environ Res Public Health* 2017;14(1):74.
- Gilmour CC, Bullock AL, Mcburney A, Podar M. Robust mercury methylation across diverse methanogenic rchaea. *ASM Journal mBio* 2018;9(2):e02403-17. DOI: 10.1128/mBio.02403-17
- Gustin MS, Bank MS, Bishop K, Bowman K, Branfireun B, Chételat J, Chételat J, Eckley CS, Hammerschmidt CR, Lamborg C, Lyman S, Martínez-Cortizas A, Sommar J, Tsui MT, Zhang T. Mercury biogeochemical cycling: a synthesis of recent scientific advances. *Sci Total Environ* 2020;737:139619.
- Hoshino HT, Doi H, Uramoto GI, Wörmer L, Adhikari RR, Xiao N, Morono Y, D'Hondt S, Hinrichs KU, Inagaki F. Global diversity of microbial communities in marine sediment. *Proc Natl Acad Sci USA* 2020;117(44):27587-97.
- Jensen S, Jernelöv A. Biological methylation of mercury in aquatic organisms. *Nature* 1969;223:753-54.
- Jing L, Keyun W, Rui D, Zhouqing X, Pengfei Z. Concentrations and species of mercury in municipal sludge of selected chinese cities and potential mercury emissions from sludge treatment and disposal. *Frontiers in Environmental Science* 2022;10:895075.
- Karagas MR, Choi AL, Oken E, Horvat M, Schoeny R, Kamai E, Cowell W, Grandjean P, Korrick S. Evidence on the human health effects of low-level methylmercury exposure. *Environ Health Perspect* 2012;120(6):799-806.
- Laforest-Lapointe I, Paquette A, Messier C, Kembel SW. Leaf bacterial diversity mediates plant diversity and ecosystem function relationships. *Nature* 2017;546:145-7.
- Liang XY, Wang Y, Zhang Y, Zhuang J, Radosevich M. Viral abundance, community structure and correlation with bacterial community in soils of different cover plants. *Appl Soil Ecol* 2021;168: 104138.
- Mancini L, Rosermann S, Aulicino AF, Carere M, Miniero R, Marcheggiani S. Clostridium perfringens vitality as an ecotoxicity test for measuring the lead concentration in the sediment. In: *sixth international conference on remediation of contaminated sediments*. Proceedings. Columbus, USA; 2011.
- Marcheggiani S, Iaconelli M, D'Angelo A, Mancini L. *Health of river ecosystems: sulphite reducing clostridia as indicators of the state of sediments*. Roma: Istituto Superiore di Sanità; 2004 (Rapporti ISTISAN 04/37).
- Marcheggiani S, Mancini L. Microbiological quality of river sediments and primary prevention. In: Grillo O (Ed.). *Ecosystems Biodiversity*. Rijeka (HR): Intech Open; 2011. p. 117-38.
- Park JD, Zheng W. Human exposure and health effects of inorganic and elemental mercury. *Journal of Preventive Medicine & Public Health* 2012;45(6):344-52.
- Parks JM, Johs A, Podar M, Bridou R, Hurt RA, Smith SD, Tomanicek SJ, Qian Y, Brown ST, Brandt CC, Palumbo AV, Smith JC, Wall JD, Elias DA, Liang L. The genetic basis for bacterial mercury methylation. *Science* 2013;339(6125):1332-5.
- Pinto DV, Raposo RS, Matos GA, Alvarez-Leite JJ, Malva JO, Oriá RB. Methylmercury interactions with gut microbiota and potential modulation of neurogenic niches in the brain. *Front Neurosci* 2020;14:576543.

- Takahashi T, Fujimura M, Koyama M, Kanazawa M, Usuki F, Nishizawa M, Shimohata T. Methylmercury causes blood-brain barrier damage in rats via upregulation of vascular endothelial growth factor expression. *PLoS ONE* 2017;12:e0170623. DOI: 10.1371/journal.pone.0170623.
- Torsvik V, Øvreås L. Microbial diversity and function in soil: from genes to ecosystems *Cur Opin Microbiol* 2002;5:240-45.
- Turnbaugh PJ, Ley RE, Hamady M, Fraser-Liggett CM, Knight R, Gordon JI. The human microbiome project. *Nature* 2007;449:804-10.
- Vonk, JW, Sijpesteijn AK. Studies on the methylation of mercuric chloride by pure cultures of bacteria and fungi. In studies on the methylation of mercuric chloride by pure cultures of bacteria and fungi. *Antonie Van Leeuwenhoek* 1973;39:505-13. <https://doi.org/10.1007/BF02578894>.
- Yu RQ, Reinfelder JR, Hines ME, Barkay T. Mercury methylation by the methanogen *Methanospirillum hungatei*. *Appl Environ Microbiol* 2013;79:6325-30.