

# Elementos da Natureza e Propriedades do Solo Vol. 2

Atena Editora



Atena Editora

**ELEMENTOS DA NATUREZA E PROPRIEDADES DO  
SOLO - Vol. 2**

---

Atena Editora  
2018

2018 by Atena Editora

Copyright © da Atena Editora

**Editora Chefe:** Profª Drª Antonella Carvalho de Oliveira

**Edição de Arte e Capa:** Geraldo Alves

**Revisão:** Os autores

#### Conselho Editorial

Profª Drª Adriana Regina Redivo – Universidade do Estado de Mato Grosso  
Prof. Dr. Alan Mario Zuffo – Pesquisador da Universidade Estadual de Mato Grosso do Sul  
Prof. Dr. Álvaro Augusto de Borba Barreto – Universidade Federal de Pelotas  
Prof. Dr. Antonio Carlos Frasson – Universidade Tecnológica Federal do Paraná  
Prof. Dr. Antonio Isidro-Filho – Universidade de Brasília  
Prof. Dr. Carlos Javier Mosquera Suárez – Universidad Distrital de Bogotá-Colombia  
Prof. Dr. Constantino Ribeiro de Oliveira Junior – Universidade Estadual de Ponta Grossa  
Profª. Drª. Daiane Garabeli Trojan – Universidade Norte do Paraná  
Profª Drª. Deusilene Souza Vieira Dall’Acqua – Universidade Federal de Rondônia  
Prof. Dr. Fábio Steiner – Universidade Estadual de Mato Grosso do Sul  
Prof. Dr. Gilmei Fleck – Universidade Estadual do Oeste do Paraná  
Profª Drª Ivone Goulart Lopes – Istituto Internazionele delle Figlie de Maria Ausiliatrice  
Profª Drª Lina Maria Gonçalves – Universidade Federal do Tocantins  
Profª. Drª. Natiéli Piovesan – Instituto Federal do Rio Grande do Norte  
Profª Drª Paola Andressa Scortegagna – Universidade Estadual de Ponta Grossa  
Profª Drª Raissa Rachel Salustriano da Silva Matos – Universidade Federal do Maranhão  
Prof. Dr. Ronilson Freitas de Souza – Universidade do Estado do Pará  
Prof. Dr. Takeshy Tachizawa – Faculdade de Campo Limpo Paulista  
Prof. Dr. Urandi João Rodrigues Junior – Universidade Federal do Oeste do Pará  
Prof. Dr. Valdemar Antonio Paffaro Junior – Universidade Federal de Alfenas  
Profª Drª Vanessa Bordin Viera – Universidade Federal de Campina Grande  
Prof. Dr. Willian Douglas Guilherme – Universidade Federal do Tocantins

#### Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP) (eDOC BRASIL, Belo Horizonte/MG)

Atena Editora.  
A864e Elementos da natureza e propriedades do solo – Vol. 2 [recurso eletrônico] / Atena Editora. – Ponta Grossa (PR): Atena Editora, 2018.  
6.009 kbytes – (Ciências Agrárias; v.2)  
  
Formato: PDF  
Requisitos de sistema: Adobe Acrobat Reader  
Modo de acesso: World Wide Web  
ISBN 978-85-93243-66-0  
DOI 10.22533/at.ed.660182302  
  
1. Agricultura. 2. Ciências agrárias. 3. Solos. 4. Sustentabilidade.  
I. Título. II. Série.  
  
CDD 631.44

**Elaborado por Maurício Amormino Júnior – CRB6/2422**

O conteúdo do livro e seus dados em sua forma, correção e confiabilidade são de responsabilidade exclusiva dos respectivos autores.

2018

Permitido o download da obra e o compartilhamento desde que sejam atribuídos créditos aos autores, mas sem a possibilidade de alterá-la de nenhuma forma ou utilizá-la para fins comerciais.

[www.atenaeditora.com.br](http://www.atenaeditora.com.br)

E-mail: [contato@atenaeditora.com.br](mailto:contato@atenaeditora.com.br)

## Sumário

### **CAPÍTULO I**

ACLIMATIZAÇÃO DE MUDAS PRÉ-BROTADAS DE CANA-DE-AÇÚCAR (*Saccharum officinarum* L.) EM DIFERENTES SUBSTRATOS

Maria do Carmo Silva Barreto, André Luís de França Dias, Márcia do Vale Barreto Figueiredo, Carlos Henrique Azevedo Farias, Marta Ribeiro Barbosa, Alexandra de Andrade Santos e Arnóbio Gonçalves de Andrade..... 8

### **CAPÍTULO II**

ADUBAÇÃO COM BIOFERTILIZANTE E COMPOSTO ORGÂNICO NA PRODUÇÃO E PRODUTIVIDADE DA BATATA-DOCE

Marivaldo Vieira Gonçalves, João Paulo Ferreira de Oliveira, Jéssyca Dellinhares Lopes Martins, Marcos de Oliveira e Mácio Farias de Moura ..... 17

### **CAPÍTULO III**

ADUBAÇÃO NITROGENADA NA CULTURA DO COENTRO NO OESTE DA BAHIA

Luciano Nascimento de Almeida, Weslei dos Santos Cunha, Charles Cardoso Santana, Letícia da Silva Menezes, Erlane Souza de Jesus e Adilson Alves Costa.. 27

### **CAPÍTULO IV**

AGRICULTURA CONSERVACIONISTA NA PRODUÇÃO FAMILIAR DO JURUÁ, ACRE

Falberni de Souza Costa, Marcelo André Klein, Manoel Delson Campos Filho, Francisco de Assis Correa Silva, Nilson Gomes Bardales e Antônio Clebson Cameli Santiago ..... 36

### **CAPÍTULO V**

ANÁLISE DE ATRIBUTOS QUÍMICOS DO SOLO EM UM SISTEMA DE CULTIVO EM ALÉIAS PARA A CULTURA DO MILHO NO TRÓPICO ÚMIDO

Djanira Rubim dos Santos, Georgiana Eurides de Carvalho Marques, Jhuliana Monteiro de Matos, Andrey Luan Marques Melo e Emanuel Gomes de Moura ..... 48

### **CAPÍTULO VI**

ATIVIDADE MICROBIANA EM SOLO CULTIVADO COM CANA-DE-AÇÚCAR IRRIGADO COM ESGOTO DOMÉSTICO TRATADO

Aline Azevedo Nazário, Edson Eiji Matsura, Ivo Zution Gonçalves, Eduardo Augusto Agnellos Barbosa e Leonardo Nazário Silva dos Santos ..... 57

### **CAPÍTULO VII**

ATRIBUTOS QUÍMICOS DE SOLO DEGRADADO EM FUNÇÃO DA ADOÇÃO DE BIOCHAR, CULTURAS DE COBERTURA E RESIDUAL DA APLICAÇÃO DE LODO DE ESGOTO

Eduardo Pradi Vendruscolo, Aguinaldo José Freitas Leal, Marlene Cristina Alves, Epitácio José de Souza e Sebastião Nilce Souto Filho ..... 68

### **CAPÍTULO VIII**

ATRIBUTOS QUÍMICOS DO SOLO E PRODUTIVIDADE DO ARROZ EM SUCESSÃO A CULTIVOS DE PLANTAS DE COBERTURA E DESCOMPACTAÇÃO MECÂNICA

Vagner do Nascimento, Marlene Cristina Alves, Orivaldo Arf, Epitácio José de Souza, Paulo Ricardo Teodoro da Silva, Michelle Traete Sabundjian, João Paulo Ferreira e Flávio Hiroshi Kaneko..... 83

### **CAPÍTULO IX**

AVALIAÇÃO DA QUALIDADE FÍSICA DE UM SOLO AGRICULTÁVEL DE CANA DE AÇÚCAR NO NORDESTE DO AMAZONAS

Fabíola Esquerdo de Souza e Gilvan Coimbra Martins..... 98

### **CAPÍTULO X**

AVALIAÇÃO DE ATRIBUTOS QUÍMICOS EM SOLOS COM BARRAGEM SUBTERRÂNEA EM AGROECOSSISTEMAS DO SEMIÁRIDO

Wanderson Benerval de Lucena, Gizelia Barbosa Ferreira, Maria Sonia Lopes da Silva, Márcia Moura Moreira, Maria José Sipriano da Silva e Mauricio da Silva Souza ..... 109

### **CAPÍTULO XI**

AVALIAÇÃO DOS ATRIBUTOS QUÍMICOS DE CHERNOSSOLOS DA BACIA HIDROGRÁFICA DO RIO COLÔNIA – BA

Monna Lysa Teixeira Santana, Marina Oliveira Paraíso Martins e Ana Maria Souza dos Santos Moreau ..... 117

### **CAPÍTULO XII**

BIOMASSA DE LEGUMINOSAS EM SOLO SALINO-SÓDICO SUBMETIDO A DIFERENTES CORRETIVOS

Rennan Salviano Terto, Josias Divino Silva de Lucena, Sebastiana Renata Vilela Azevedo, Geovana Gomes de Sousa, José Aminthas de Farias Júnior e Rivaldo Vital dos Santos ..... 125

### **CAPÍTULO XIII**

BIOPOLÍMEROS SINTETIZADOS POR DUAS ESTIRPES DE *Rhizobium tropici* SOB DIFERENTES TEMPERATURAS

Alexandra de Andrade Santos, Maria Vanilda dos Santos Santana, Josemir Ferreira da Silva Junior, Adália Cavalcanti do Espírito Santo Mergulhão, José de Paula Oliveira e Márcia do Vale Barreto Figueiredo ..... 132

#### **CAPÍTULO XIV**

CARACTERÍSTICAS MORFOLÓGICAS E RESISTÊNCIA À METAIS PESADOS DE BACTÉRIAS DIAZOTRÓFICAS ISOLADAS DE PLANTAS DE BRACHIARIA DECUMBENS CRESCIDAS EM SOLO CONTAMINADO

Camila Feder do Valle, Sael Sánchez Elias, Vera Lúcia Divan Baldani e Ricardo Luiz Louro Berbara ..... 140

#### **CAPÍTULO XV**

CARACTERIZAÇÃO FÍSICA E DESCRIÇÃO MORFOLÓGICA DE UM ARGISSOLO VERMELHO-AMARELO NO MUNICÍPIO DE AREIA, PARAÍBA

Ian Victor de Almeida, Roseilton Fernandes dos Santos, Diego Alves Monteiro da Silva, Galileu Medeiros da Silva e Denizard Oresca ..... 152

#### **CAPÍTULO XVI**

COMPARAÇÃO DOS ATRIBUTOS FÍSICOS DO SOLO APÓS QUINTO E SEXTO CORTES EM ÁREA CULTIVADA COM CANA-DE-AÇÚCAR

Danyllo Denner de Almeida Costa, José Luiz Rodrigues Torres, Venâncio Rodrigues e Silva, Adriano Silva Araújo, Matheus Duarte da Silva Cravo e Gabriel Valeriano Alves Borges ..... 159

#### **CAPÍTULO XVII**

COMPORTAMENTO DO CARBONO ORGÂNICO NO SOLO SOB DIFERENTES COBERTURAS VEGETAIS

Karla Nascimento Sena, Kátia Luciene Maltoni, Glaucia Amorim Faria, Adriana Avelino dos Santos, Thaís Soto Boni e Maria Júlia Betíolo Troleis..... 168

#### **CAPÍTULO XVIII**

DESENVOLVIMENTO DO CAPIM-MARANDU COM O USO DE NP

Marianne Nascimento, Rafael Renan dos Santos, Osvaldo Henrique Gunther Campos e Suzana Pereira de Melo ..... 178

#### **CAPÍTULO XIX**

DIVERSIDADE METABÓLICA DA COMUNIDADE BACTERIANA DA RIZOSFERA DE PLANTAS DE MILHO INOCULADAS COM *AZOSPIRILLUM* SP

Denise Pacheco dos Reis, Lívia Maria Ferraz da Fonseca, Talita Coeli D'Angelis de Aparecida Ramos, Christiane Abreu de Oliveira Paiva, Lauro José Moreira Guimarães e Ivanildo Evódio Marriel ..... 191

#### **CAPÍTULO XX**

EFEITO DA COMPACTAÇÃO NA QUALIDADE FÍSICA DO SOLO APÓS O DESENVOLVIMENTO DE CULTURAS DE COBERTURA NO SUL DO AMAZONAS

Romário Pimenta Gomes, Anderson Cristian Bergamin, Milton César Costa Campos, Laércio Santos Silva, Vinicius Augusto Filla e Anderson Prates Coelho ..... 201

## **CAPÍTULO XXI**

EFEITO DO MANEJO CONSERVACIONISTA DO SOLO SOBRE A RIQUEZA E COMPOSIÇÃO DE COLEÓPTEROS SCARABAEIDAE NA CULTURA DO EUCALIPTO

Milany Cristina Barbosa Alencar, Isabel Carolina de Lima Santos, Vanesca Korasaki e Alexandre dos Santos ..... 220

## **CAPÍTULO XXII**

ESTABILIDADE DE AGREGADOS E TEOR DE MATÉRIA ORGÂNICA EM UM LATOSSOLO VERMELHO SOB *UROCHLOA BRIZANTHA* APÓS A APLICAÇÃO DE CAMA DE PERU

Maria Julia Betiolo Troleis, Cassiano Garcia Roque, Monica Cristina Rezende Zuffo Borges, Kenio Batista Nogueira, Andrisley Joaquim da Silva e Karla Nascimento Sena..... 235

## **CAPÍTULO XXIII**

FRACIONAMENTO DA MATÉRIA ORGÂNICA DE UM ARGISSOLO VERMELHO-AMARELO EM ÁREA DE RESERVA LEGAL LOCALIZADO NO BREJO PARAIBANO

Kalline de Almeida Alves Carneiro, Auriléia Pereira da Silva, Lucina Rocha Sousa, Roseilton Fernandes dos Santos, Vânia da Silva Fraga e Vegner Hizau dos Santos Utuni ..... 244

## **CAPÍTULO XXIV**

INFLUÊNCIA DE RENQUES DE MOGNO AFRICANO NOS ATRIBUTOS FÍSICOS DE UM LATOSSOLO AMARELO NO SISTEMA INTEGRAÇÃO LAVOURA-PECUÁRIA-FLORESTA

Arystides Resende Silva, Agust Sales, Carlos Alberto Costa Veloso, Eduardo Jorge Maklouf Carvalho, Austrelino Silveira Filho e Bárbara Maia Miranda ..... 255

## **CAPÍTULO XXV**

PRODUÇÃO DE VERMICOMPOSTO ASSOCIADO A *Trichoderma* spp

Marília Boff de Oliveira, Cleudson José Michelin, Emanuele Junges, Lethícia Rosa Neto, Pâmela Oruoski e Caroline Castilhos Vieira..... 2656

## **CAPÍTULO XXVI**

SISTEMA DE ABASTECIMENTO DE ABASTECIMENTO E TRATAMENTO DE ÁGUA: RELAÇÃO OFERTA/DEMANDA, QUALIDADE E CAMPANHA DE CONSCIENTIZAÇÃO NO MUNICÍPIO DE CARANGOLA, MINAS GERAIS

Michel Barros Faria e Marianna Catta Preta Tona Gomes Cardoso.....282

## **CAPÍTULO XXVII**

TEORES DE FÓSFORO E POTÁSSIO EM DIFERENTES SISTEMAS DE MANEJO DO SOLO E VEGETAÇÃO NATIVA NO CERRADO PIAUIENSE

Wesley dos Santos Souza, Jenilton Gomes da Cunha, Manoel Ribeiro Holanda Neto, Taiwan Carlos Alves Menezes, Patricia Carvalho da Silva, Ericka Paloma Viana Maia,

Mireia Ferreira Alves e Jessica da Rocha Alencar Bezerra de Holanda ..... 2954

**CAPÍTULO XXVIII**

UTILIZAÇÃO DO SISTEMA DE INFORMAÇÃO DE SOLOS BRASILEIROS PARA  
VALIDAÇÃO DOS ATRIBUTOS DA ORDEM DOS LATOSSOLOS

Eliane de Paula Clemente, Humberto Gonçalves dos Santos e Jeronimo Guedes  
Pares..... 303

**Sobre os autores.....311**

## **CAPÍTULO XIV**

### **CARACTERÍSTICAS MORFOLÓGICAS E RESISTÊNCIA À METAIS PESADOS DE BACTÉRIAS DIAZOTRÓFICAS ISOLADAS DE PLANTAS DE BRACHIARIA DECUMBENS CRESCIDAS EM SOLO CONTAMINADO**

---

**Camila Feder do Valle  
Sael Sánchez Elias  
Vera Lúcia Divan Baldani  
Ricardo Luiz Louro Berbara**

# CARACTERÍSTICAS MORFOLÓGICAS E RESISTÊNCIA À METAIS PESADOS DE BACTÉRIAS DIAZOTRÓFICAS ISOLADAS DE PLANTAS DE *BRACHIARIA DECUMBENS* CRESCIDAS EM SOLO CONTAMINADO.

## **Camila Feder do Valle**

Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Faculdade de Agronomia  
Seropédica – RJ

## **Sael Sánchez Elias**

Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Departamento de Solos Seropédica – RJ

## **Vera Lúcia Divan Baldani**

EMBRAPA Agrobiologia, Laboratório de Gramíneas  
Seropédica – RJ

## **Ricardo Luiz Louro Berbara**

Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Departamento de Solos  
Seropédica – RJ

**RESUMO:** Bactérias Diazotróficas promovem o crescimento vegetal das plantas e podem auxiliar na fitorremediação de solos contaminados. Essas bactérias se associam preferencialmente com as poaceas, que a exemplo da *Brachiaria decumbens* podem ser utilizadas na recuperação de áreas contaminadas por metais pesados. Este trabalho teve como objetivo avaliar “in vitro” a capacidade de fixar nitrogênio em diferentes concentrações dos metais chumbo, cobalto e zinco de bactérias isoladas de solo contaminado por indústria e a resistência intrínseca dos isolados bacterianos à presença de altas concentrações de metais pesados. Foram utilizados 8 isolados mais promissores dos 45 testados para FBN inoculados em meio líquido JNFb puro e nas concentrações 100, 200 e 300 ppm dos metais chumbo, cobalto e zinco. Em chumbo houve formação de precipitado que desqualifica a metodologia para esta análise. As bactérias demonstraram resistência a alta concentração de zinco, com exceção do isolado 17. Os isolados 14, 15, e 19 demonstraram não resistir a concentração utilizada de cobalto, os isolados restantes foram bem-sucedidos.

**PALAVRAS-CHAVE:** Fitorremediação, Elementos-Traço, Fixação Biológica de Nitrogênio.

## **1-INTRODUÇÃO**

Na atualidade, a crescente e devastadora degradação do meio ambiente tem como base o uso intenso e inadequado de fertilizantes e pesticidas nos solos que aliado ao aumento das atividades industriais e de mineração, têm sido apontados como os principais responsáveis pela contaminação destes, ainda dos cursos de água e lençóis freáticos por metais pesados (MALAVOLTA, 1994). A incorporação e a mobilização de diversos metais, tais como: Cadmio, Cd, Cr, Cu, Hg,

Pb e Zn no solo pelas diferentes atividades antrópicas excedem, em mais de 10 vezes aos processos naturais (Singh & Steinnes, 1994), exercendo efeitos deletérios em diversas formas de vida, causando frequentemente, de modo irreversível, poluição e contaminação dos ecossistemas (Ansorena et al., 1995; Leyval et al., 1997). Desta forma também é gerada a contaminação da cadeia trófica quando íons se tornam disponíveis às plantas (MENDES et al., 2010). O chumbo, por exemplo, é um metal que possui baixo ponto de fusão, alta resistência à corrosão e alta densidade. É ingrediente de soldas, de tintas, vernizes, vitrificados, esmaltes e vidros, está presente na manufatura de borrachas, baterias, revestimento da indústria automotiva e também é utilizado como antidetonante na gasolina entre outros. A toxidez por chumbo nos seres humanos é denominada Saturnismo, que é uma doença ocupacional e de maior risco de vida em crianças e de grande prejuízo em adultos. A intoxicação por chumbo pode ocorrer por vias aéreas, alimentares ou cutâneas, sendo mais comum pelas duas primeiras, principalmente por trabalhadores de indústria que utilizam o metal ou por alimentos e água de regiões onde estas indústrias estão instaladas. É um metal presente na crosta em baixas quantidades e que demonstra a necessidade de reciclagem e de busca de substitutos. (ARAUJO et al, 1999 e ABREU et al, 1998).

O zinco, não é considerado um metal tóxico, pois atua como fator catalítico, co-catalítico e estrutural, de modo geral a deficiência de zinco preocupa mais do que o excesso. Porém em áreas industriais é encontrado em quantidades acima do devido, e pode vir a ser inalado ou ingerido trazendo prejuízos à saúde humana e animal causando desde náuseas e diarreia até letargia. É utilizado na indústria como aditivo para borrachas e tintas, está presente na indústria têxtil e de cerâmica, na galvanização de estruturas de aço e na produção de ligas como o bronze. (SANTOS e FONSECA, 2012).

O cobalto ainda não é considerado um metal tóxico no Brasil, mas nos Estados Unidos já foi incluído em programas com indicadores biológicos no intuito de informar a população de que o cobalto causa toxidez ocupacional. Pesquisas comprovam que a exposição a concentrações elevadas o cobalto pode levar a asma, fibrose e bronquite. É um elemento essencial presente na vitamina B12. Utilizado na indústria metalúrgica, química e de óleos e na cerâmica, como pigmentos (ALVES e ROSA, 2003).

A ampla utilização destes metais gera poluição do solo, de canais de passagem de água e em alguns casos do lençol freático, as formas tradicionais de remoção destes compostos são por meio de estações de tratamento de água e de remoção mecânica de camadas do solo. A Biorremediação e a Fitorremediação são alternativas viáveis em que plantas e microrganismos atuam como descontaminantes, incorporando esses compostos em sua estrutura, apresentando algumas vantagens em relação a outras opções, tais como a incorporação de forma que o composto não seja mais nocivo à saúde humana e animal ou podendo armazená-lo para receber posterior tratamento. De qualquer forma é economicamente viável e não acarreta novos danos ao meio ambiente tratado, tornando o solo agricultável (PIRES, 2003).

No mundo, os solos contaminados por metais pesados precisam ser remediados existindo diversas estratégias e programas que perseguem essa finalidade Segundo Ribeiro Filho et al.2001 os programas de recuperação de solos incluem estratégias de mitigação da fitotoxicidade e a seleção de plantas ou de microrganismos tolerantes ao excesso de metais como opções para promover a destoxificação ou a remoção dos elementos contaminados (ACCIOLY e SIQUEIRA, 2000). Nessa seleção de plantas o potencial de absorção é o principal fator específico e geneticamente fixado para os diferentes nutrientes e diferentes espécies vegetais (MENGEL & KIRKBY, 1987).

A falta de gestão dos dejetos residuais desde a revolução industrial tem-se convertido num problema de contaminação dos solos e águas. O acréscimo de considerável volume de rejeitos tem elevado os níveis de metais pesados no solo, em suas formas disponíveis e totais, contribuindo para o distúrbio do local, o que causa grandes impactos sobre os microrganismos, a vegetação e os processos funcionais do ecossistema (Sisti, 2002). Vários estudos têm concluído que os metais influenciam os microrganismos por afetarem seu crescimento, morfologia e atividades bioquímicas. Apesar desses efeitos tóxicos, os microrganismos que habitam em ambientes contaminados, têm desenvolvido mecanismos de resistência para conviver com a toxicidade desses metais (Gadd 2000). Bactérias diazotróficas isoladas destes ambientes podem auxiliar na fitorremediação de solos contaminados através de diferentes mecanismos. A fitorremediação mediada pelo uso de microrganismos para estimular o crescimento vegetativo da planta com capacidade para acumular em seus tecidos os metais é um dos processos mais utilizados. O objetivo deste trabalho foi avaliar a capacidade de isolados bacterianos de *Brachiaria decumbens* crescidas em solo com altas concentrações de metais pesados para sobreviver e fixar nitrogênio em diferentes concentrações de elementos-traço, assim como a resistência de bactérias diazotróficas à altas concentrações de Pb, Co e Zn para seu posterior uso na fitorremediação de áreas contaminadas.

## 2-MATERIAL E MÉTODOS

Os trabalhos foram desenvolvidos no laboratório de gramíneas da Embrapa Agrobiologia situada no Município de Seropédica, Estado do Rio de Janeiro. As bactérias foram isoladas de raízes e parte aérea de plantas de *Brachiaria decumbens* crescidas em solo com altas concentrações de Chumbo, Cobalto e Zinco. O procedimento para o isolamento das bactérias foi o seguinte: Em vasos com 30 mL de solo, amostrados do ecossistema contaminado, foram cultivadas mudas de *Brachiaria decumbens* como isca. Após 30 dias, foram selecionados ao acaso 3 amostras com as suas repetições que tivessem diferenças nos teores de Pb, Zn e Co, para proceder ao isolamento das bactérias a partir de tecidos vegetais (raízes e folhas). Foram trituradas amostras de 10 g de tecido vegetal (raízes e folhas) em solução de sacarose a 5%, e maceradas, e submetidas a diluições

sucessivas em solução de sacarose a 5% nas concentrações de  $10^{-2}$  a  $10^{-6}$  e calculado o NMP mediante consulta da tabela de McCrady (Döbereiner et al., 1995). Destas diluições, alíquotas de 0,1 mL foram transferidas para frascos de 10 mL com 5 mL dos seguintes meios semi-sólidos e isentos de nitrogênio: NFb-malato (Döbereiner, 1980) e os sais do NFb, tendo glicose, amido ou a mistura 3 g de glicose + 1 g de oxalato + 1 g de citrato por litro (JNFb) como fonte de carbono, em três repetições.

Nessas condições foram obtidos 66 isolados que foram reativados em meio Dyg's líquido. Após o crescimento, uma alíquota de 20µL foi inoculada em meio semissólido semi-seletivo NFb e JNFb para observação da película característica de bactérias fixadores de N e pureza de acordo com Döbereiner et al., (1995) e Baldani et al., (2014). Os testes de resistência aos metais pesados foram realizados tanto em meio NFb quanto no JNFb, acrescidos com concentrações de 0, 10, 25 e 50 ppm de cada um dos metais. O teste de fixação de N foi feito pela atividade da enzima nitrogenase medido através da atividade de redução de acetileno (ARA), realizado em cromatógrafo de gás com ionização de chama, Perkin Elmer, modelo F11. Foram inoculados 50 µl de cultura (com densidade ótica ajustada para 0,5) em frascos com volume de 10 mL contendo 5 mL dos meios de cultivo (JNFb para *Herbaspirillum*; NFb para *Azospirillum*) incubados a 30°C. As análises foram realizadas 48hrs 72h após a inoculação seguindo os seguintes passos. Os frascos foram vedados com uma rolha de borracha perfurável e 1mL de acetileno foi introduzido com o auxílio de uma seringa e incubados por 1h a 30°C. Posteriormente, 0,5 mL da atmosfera foram retirados e injetados no cromatógrafo de gás para determinar a concentração de etileno na amostra. Foram utilizadas três repetições de cada estirpe, além de meio de cultura estéril como controle de acordo com a metodologia de Videira, 2008.

Dos 66 isolados, 45 formaram película e foram escolhidos oito isolados (10, 13, 14, 15, 16, 17, 18 e 19), que tinham a mesma velocidade de crescimento, características morfológicas semelhantes e resistência a maiores concentrações dos metais. Esses isolados foram crescidos em meio Dyg's líquido por 96 hrs a 30°C sob agitação de 150 rpm, após crescimento, 20µL de cada isolado foram transferidos para o meio de cultura semi-sólido JNFb e posteriormente incubados a 30°C até formação da película característica. Após confirmação de formação de película característica de bactérias diazotróficas em meio semissólido uma alíquota de 26,66µL foi inoculada em 8mL de meio líquido JNFb com os tratamentos de 100, 200 e 300ppm de chumbo, zinco e cobalto, como controle foi utilizado o meio livre de metal. Os tubos foram agitados a 150 rpm por 4 dias à 30°C no intuito de manter o inoculado em contato com o contaminante. Após 4 dias amostras dos tubos foram riscadas em placas de petri do mesmo meio de cultura contendo os metais chumbo, cobalto e zinco à 20 ppm e livre de metal. O crescimento bacteriano foi comparado com a origem de cada tudo após 4 dias de incubação em estufa à 30°C. Características morfológicas foram descritas para separar os diferentes isolados e posteriormente agrupados por similaridade utilizando o

programa PAST.exe ver. 2.17c. A similaridade foi calculada pela equação de Jaccard em gráfico gerado através do pareamento de grupos.

### 3-RESULTADOS E DISCUSSÃO

Dos 66 isolados testados, 25 foram capazes de fixar nitrogênio comprovado pelo teste de ARA, como se mostra na tabela 1, e apresentaram tolerância a todos os metais testados, com exceção do Cobalto na concentração de 50 ppm, em que apenas 5 isolados foram resistentes (Tabela 2). Sugere-se que esses isolados são promissores para a utilização em fitoremediação com gramíneas acumuladoras de metais pesados em processos de despoluição de solos contaminados com Pb, Co e Zn.

Na presença de zinco apenas o isolado 17 não cresceu, determinando desta forma a capacidade de crescimento dos outros isolados nas concentrações observadas. O aumento da concentração do metal torna o crescimento bacteriano mais lento, através da comparação dos tubos de ensaio com mesmo tempo de crescimento, que apresentaram maior alteração do pH quanto menor era a concentração do metal. Na presença do cobalto não houve crescimento dos isolados 14, 15 e 19. Os isolados restantes tiveram seu crescimento comprovado em placa, uma vez que no tubo de ensaio não houve alteração do pH. Nas placas foi possível observar o mesmo evento que ocorreu na presença do zinco, uma redução do número de células viáveis à medida que a concentração do metal aumenta.

A caracterização morfológica separou os isolados em dois grupos principais pela característica de resistência ao metal cobalto (Figura 1) onde é possível ver que o grupo dos isolados não resistentes ao cobalto são separados entre si pela cor, uma vez que o isolado 19 apresentou cor creme/amarelo e os isolados 14 e 15 colônias de borda branca com centro azul/verde. O segundo grupo foi dividido em dois, onde o isolado 16 se destacou dos restantes pelo elevado número de colônias formadas em placa, 70. O isolado 17 se difere por não crescer em meio contaminado por zinco. O isolado 18 se diferencia dos isolados 10 e 13 pelo número de colônias crescidas em placa, sendo 30 para o isolado 18, 54 para o isolado 10 e 50 para o isolado 13.

Não foi possível avaliar a capacidade de crescimento e resistência ao aumento da concentração para o caso do chumbo porque houve precipitação do metal no tubo de ensaio nas três concentrações testadas: 100, 200 e 300 ppm (Tabela 3). Na concentração de 50 ppm (Tabela 2), nos primeiros testes realizados, não ocorreu precipitação do metal no meio, ficando determinado que a mesma acontece em valores por cima dos 50 ppm neste meio, líquido ou semi-sólido. BOSSO et al, (2008) descreve diversos ensaios para a determinação da biodisponibilidade do Pb, e demonstra a dificuldade de realizar análises eficientes e diretas uma vez que este metal pode formar diversos compostos menos solúveis já que possui afinidade química com diversos átomos abundantes tanto na natureza

quanto nos meios utilizados para o crescimento microbiano “in vitro”. Ficando aqui a necessidade de aprofundar o estudo sobre as possíveis interações do Pb com o meio utilizado.

Dado de extrema importância considerando que em trabalhos como o de DIASJÚNIOR et al., (1998) não foi verificada a presença de bactérias diazotróficas em solos contaminados pela mineração de zinco, mas a presença dessas bactérias foi confirmada pelo autor em áreas próximas à região degradada. O isolamento de bactérias diazotróficas a partir de solos contaminados tem sido descritos também por Moreira et al., (2008).

Em solos tratados com resíduos siderúrgicos e biossólido industrial (Melloni et al., 2000) e em áreas sob reabilitação de bauxita (Melloni et al., 2004; Nóbrega et al. 2004) Segundo Baldani e Baladani (2005) nos meios seletivos para diazotróficos, não só crescem as bactérias para os quais foi desenvolvido, outras bactérias podem crescer também. Por tal motivo são necessários outros testes até a seleção final de cada estirpe fixadora.

Os microorganismos isolados de um ambiente poluído com metais pesados podem ser caracterizados como tolerantes aos níveis de contaminação perto deles, bem como as plantas, o fato de estar nesses solos onde até agora altos níveis de contaminação por Pb, Zn e Co foram determinados poderia significar que eles possuem mecanismos adaptativos que lhes permitem sobreviver nessas condições de estresse. Segundo Atlas e Bartha (2002) dentro da complexidade dos ecossistemas e suas respostas aos poluentes, as comunidades microbianas pelo seu metabolismo diverso são capazes de usar esses compostos como fontes de energia. Outros tipos de análises são necessários para comprovar ou entender tais mecanismos adaptativos envolvidos.

	Isolados	NMP n° de cel/mg de peso fresco	ARA nmol/mL/h
1	3	4,65	4,01
2	6	4,3	2,03
3	13	4,65	5,28
4	14	4,97	3,9
5	15	4,97	3,9
6	19	4,97	3,9
7	20	4,97	3,51
8	28	4,97	3,9
9	29	4,97	3,9
10	30	4,97	3,9
11	31	4,65	5,28
12	32	3,39	4,88
13	33	4,65	4,01
14	37	4,65	5,28
15	39	4,97	3,51
16	40	4,97	3,9

'7	41	4,97	3,9
18	44	4,65	5,28
19	45	4,97	3,51
20	46	4,65	5,28
21	47	3,97	4,94
22	48	4,97	3,51
23	49	4,65	5,28
24	50	4,65	5,28
25	51	4,65	5,28

Tabela 1: Resultado de teste de atividade de redução de acetileno e número mais provável.

Isolados	Capacidade de resistência em meio contendo metais pesados								
	10ppm Pb	25ppm Pb	50ppm Pb	10ppm Co	25ppm Co	50ppm Co	10ppm Zn	25ppm Zn	50ppm Zn
31	+	+	+	+	+	+	+	+	+
44	+	+	+	+	+	+	+	+	+
49	+	+	+	+	+	+	+	+	+
50	+	+	+	+	+	+	+	+	+
51	+	+	+	+	+	+	+	+	+

Tabela 2: Resultado de resistência aos metais testados dos 5 isolados mais promissores.

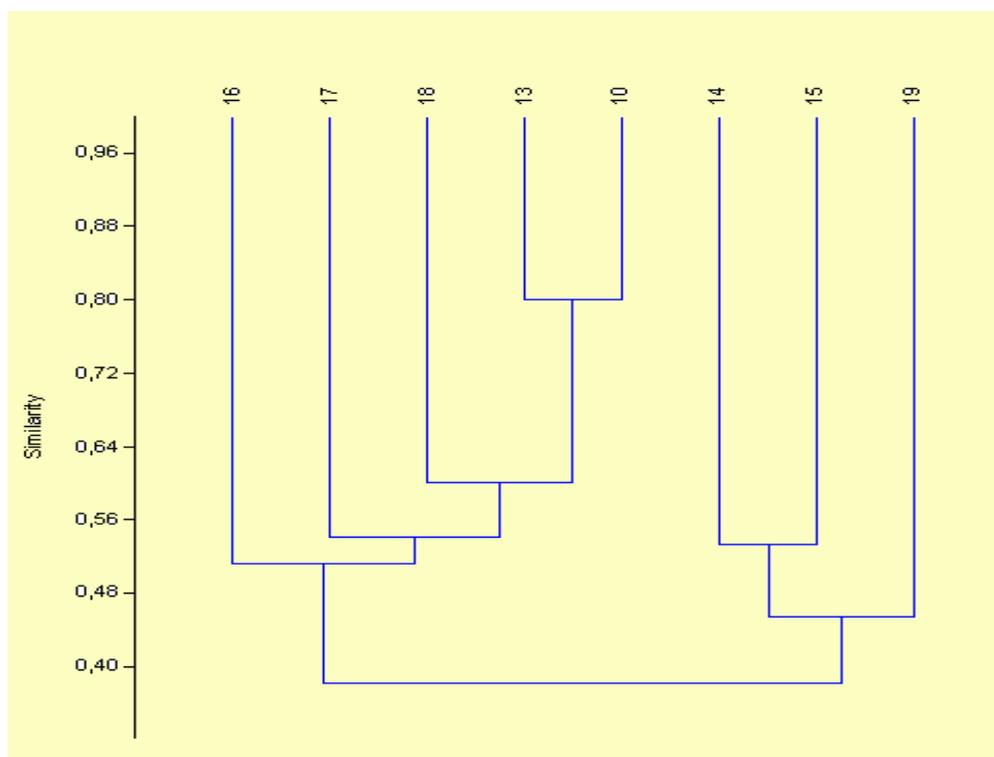


Figura 1: Árvore dos isolados agrupados por similaridade morfológica pela equação de Jaccard.

Isolado	Puro	100ppm Pb	200ppm Pb	300ppm Pb	100ppm Co	200ppm Co	300ppm Co	100ppm Zn	200ppm Zn	300ppm Zn
10	s	s	s	s	s	s	s	s	s	s

13	s	s	s	s	s	s	s	s	s	s
14	s	s	s	s	s	s	s	s	s	s
15	s	s	s	s	n	n	n	s	s	s
16	s	s	s	s	n	n	n	s	s	s
17	s	s	s	s	s	s	s	n	n	n
18	s	s	s	s	s	s	s	s	s	s
19	s	s	s	s	n	n	n	s	s	s

Tabela 3: Crescimento microbiano em placas de petri dos oito isolados avaliados.

#### 4. CONCLUSÕES

Os isolados 10, 13, 16 e 18 de *Braquiaria decumbens* crescida em solos contaminados com Pb, Zn e Co apresentam a maior resistência aos metais. O isolado 17 não é recomendado para ser utilizado na fitorremediação de solos contaminados por zinco. No caso dos isolados 14, 15 e 19 estes não são promissores para solos com elevadas concentrações de cobalto. A resistência e capacidade de crescimento de bactérias diazotróficas em chumbo ainda podem ser estudados com novos métodos.

#### REFERÊNCIAS

ABREU, C. A.; ABREU, M. F.; ANDRADE, J. C. **Distribuição de chumbo pelo perfil do solo avaliada pelas soluções de DTPA e mehlich-3.** Nota., Scielo, Bragantia vol. 57 n.1 Campinas 1998.

ACCIOLY, A.M.A.; SIQUEIRA, J.O. **Contaminação química e biorremediação do solo. Tópicos em Ciência do Solo,** Viçosa, v.1, p.299-351, 2000.

ALVES, A. N.L.; ROSA, H. V. D.; **Exposição ocupacional ao cobalto: aspectos toxicológicos.** *Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas.* Vol.39, n.2, abr./jun. 2003.

ALVES, A. N.L.; ROSA, H. V. D.; **Exposição ocupacional ao cobalto: aspectos toxicológicos.** *Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas.* Vol.39, n.2, abr./jun. 2003.

ANSORENA, J.; MARINO, N. & LEGORBURU, I. **Agriculture use of metal polluted soil near an old lead-zinc mine in Oiartzun (Basque Country, Spain).** *Environ. Technol.,* 16:213-222, 1995

ARAUJO, U.C.; PIVETTA, F. R.; MOREIRA, J. C. **Avaliação da exposição ocupacional ao chumbo: proposta de uma estratégia de monitoramento para a prevenção dos efeitos clínicos e subclínicos.** Caderno de Saúde Pública. Scielo vol. 15 n. 1, Rio de Janeiro. Jan/Mar. 1999.

ARAUJO, U.C.; PIVETTA, F. R.; MOREIRA, J. C. **Avaliação da exposição ocupacional ao chumbo: proposta de uma estratégia de monitoramento para a prevenção dos efeitos clínicos e subclínicos.** Caderno de Saúde Pública., Scielo vol. 15 n. 1, Rio de Janeiro. Jan/Mar. 1999.

ATLAS, R.; BARTHA, R. **Ecología microbiana y Microbiología ambiental, Capítulo 9. Los microorganismos en su habitat naturales.** Edición española, 2002, 370p.

BALDANI, V.L.D.; BALDANI, J.I. **History on the biological nitrogen fixation research in graminaceous plants: special emphasis on the Brazilian experience.** Anais da Academia Brasileira de Ciência, v. 77, n.3, 2005.

BOSSO, S. T.; ENZWEILER, J. **Ensaio para Determinar a (Bio)disponibilidade de Chumbo em Solos Contaminados.** Revisão. Artigo, Química Nova, vol. 31nº2, São Paulo, 2008.

BOSSO, S. T.; ENZWEILER, J. **Ensaio para Determinar a (Bio)disponibilidade de Chumbo em Solos Contaminados: Revisão.** Artigo, Química Nova, vol. 31nº2, São Paulo, 2008.

DIAS-JÚNIOR, H. E.; MOREIRA, F. M. S.; SIQUEIRA, J. O.; SILVA, R. **Metais Pesados, Densidade e Atividade Microbiana em Solo Contaminado por Rejeitos de Indústria de Zinco.** Tese, DCS - Universidade Federal de Lavras – UFLA, 1998.

DÖBEREINER, J. **Speciation of dissolved copper and nickel in South San Francisco Bay: a multi method approach.** Analytica Chimica Acta, v.284, p.547-571, 1980.

DÖBEREINER, J. V. L. D. BALDANI Y J. L. BALDANI. **Como isolar e identificar bacterias diazotróficas de plantas nao-leguminosas.** MAARA-EMBRAPA-CNPAB. Brasilia, Brazil.1995. 60p.

GADD, G. M. 2000. **Bioremedial potential of microbial mechanisms of metal mobilization and immobilization.** Curr. Opin. Biotechnol.11: 272-279.

LEYVAL, C.; TURNAU, K. & HASELWANDTER, K. **Effect of heavy metal pollution on mycorrhizal colonization and function: physiological, ecological and applied aspects.** Mycorrhiza., 7:139-153, 1997

MALAVOLTA, E. **Fertilizantes e seu impacto ambiental: micronutrientes e metais pesados: mitos, mistificação e fatos.** São Paulo: Petroquímica, 1994.153p.

MELLONI, R.; ABRAHÃO, R.S.; MOREIRA, F.M.S.; NETO, A.E.F. **Impacto de resíduo de siderurgia na microbiota do solo e no crescimento de eucalipto.** Revista *Árvore*, v.24, p.309-315, 2000.

MELLONI, R.; NÓBREGA, R.S.A.; MOREIRA, F.M.S.; SIQUEIRA, J.O. **Densidade e diversidade fenotípica de bactérias diazotróficas endofíticas em solos de mineração de bauxita, em reabilitação.** Revista Brasileira de Ciência do Solo, v.28, p85-93, 2004.

MENDES, A., M. S., DUDA, G. P., NASCIMENTO, C. W. A., LIMA, J. A. G., & Medeiros, A. D. L (2010). **Acúmulo de metais pesados e alterações químicas em Cambissolo cultivado com meloeiro.** Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental, 14(8), 791-796.

MENGEL, K.; KIRKBY, E.A. Principles of plant nutrition. 4.ed. Bern: International Potash Institute, 1987. 687p. Sisti, M. (2002). (En línea) 28 de Septiembre 2002. **La Industria cerámica como generadora de Contaminación.** Disponible en: <http://www.mariosisti.negociosolavarria.com.ar/notas-m.htm> (Consulta: 24 de Abril 2005).

MOREIRA, F.M.S., LANGE, A., KLAUBERG-FILHO, O., SIQUEIRA, J.O., NÓBREGA, R. S. A., LIMA, A. S. 2008. **Associative diazotrophic bacteria in grass roots and soils from heavy metal contaminated sites.** Anais da Academia Brasileira de Ciências 80: 749-781.

NÓBREGA, R.S.A., MOREIRA, F.M.S., SIQUEIRA, J.O., LIMA, A.S. 2004. **Caracterização fenotípica e diversidade de bactérias diazotróficas associativas isoladas de solos em reabilitação após mineração de Bauxita.** Revista Brasileira de Ciencia do Solo 28:269-279

PIRES, F.R.; SOUZA, C.M.; SILVA, A.A.; PROCÓPIO, S.O.; FERREIRA, L.R. **Fitorremediação de solos contaminados com herbicidas.** Scielo. Planta Daninha, Viçosa MG, vol.21, n.2, p.335-341, 2003.

PIRES, F.R.; SOUZA, C.M.; SILVA, A.A.; PROCÓPIO, S.O.; FERREIRA, L.R. **Fitorremediação de solos contaminados com herbicidas.** Scielo. Planta Daninha, Viçosa MG, vol.21, n.2, p.335-341, 2003.

SANTOS, C.; FONSECA, J.; **Zinco: fisiopatologia, clínica e nutrição.** Artigo. Revista APNEP. Portugal julho 2012.

SINGH, B. R.; STEINNES, E. **Soil and water contamination by heavy metals.** In: LAI, R.; STEWART, B. A. (Ed.) *Advances in soil science: soil process and water quality.* Lewis, p. 233-237, 1994

SINGH, B. R.; STEINNES, E. **Soil and water contamination by heavy metals.** In: LAI, R.; STEWART, B. A. (Ed.) *Advances in soil science: soil process and water quality.* Lewis, p. 233-237, 1994

SILVA, M. L. S.; VITTI, G. C.; TREVIZAM, A. R. **Concentração de Metais Pesados em Grãos de Plantas Cultivadas em Solo com Diferentes Níveis de Contaminação.** Escola Superior Luiz de Queiroz, *Pesq. agropec. Brás.*, Brasília, vol.42, n.4, p.527-535, abr. 2007.

VIDEIRA, S.S. **Taxonomia Polifásica de Bactérias Diazotróficas do Gênero *Sphingomonas* spp. e Efeito da Inoculação em Plantas de Arroz.** Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Dissertação, Seropédica – RJ, fev. 2008.

**ABSTRACT:** Diazotrophic bacteria promote the plant growth of plants and can aid in the phytoremediation of contaminated soils. These bacteria preferentially associate with poaceae, which like *Brachiaria decumbens* can be used to recover areas contaminated by heavy metals. The aim of this work was to evaluate the in vitro ability to fix nitrogen in different concentrations of lead, cobalt and zinc metals isolated from contaminated soil by industry and the intrinsic resistance of bacterial isolates to the presence of high concentrations of heavy metals. Eight more promising isolates of the 45 tested for FBN inoculated in pure JNFb liquid medium and in the 100, 200 and 300 ppm concentrations of the lead, cobalt and zinc metals were used. In lead, precipitate formed that disqualifies the methodology for this analysis. Bacteria demonstrated resistance to high zinc concentration, except for isolate 17. Isolates 14, 15, and 19 were found to not resist the concentration of cobalt used, the remaining isolates were successful.

**KEY WORDS:** Phytoremediation, Trace Elements, Biological Fixation of Nitrogen.

Agência Brasileira do ISBN  
ISBN 978-85-93243-66-0



9 788593 243660