



## CARACTERIZAÇÃO MICROBIANA DE SOLOS EM RECUPERAÇÃO APÓS MINERAÇÃO DE BAUXITA.

Bolsista: Caroline Santos Resplandes – FEMMA, curso de Engenharia Química

Caroline.resplandes@unifesspa.edu.br

Orientador: Prof. Ulisses Brigatto Albino - faculdade de Química, curso de Ciências Naturais.

**Agência Financiadora:** UNIFESSPA/FAPESPA.

**Eixo Temático/Área de Conhecimento:** Biologia/microbiologia.

### 1. INTRODUÇÃO

A mineração se tornou uma das principais atividades econômicas do Brasil. Com os solos ricos em minérios variados, empresas se instalaram em várias regiões, sobretudo no norte. Apesar da grande importância econômica e social que passaram a desempenhar, as atividades mineradoras trazem danos ao ambiente, sobretudo ao solo. Neste trabalho foi estudado amostras de solo colhidas em uma área de mineração em Paragominas – PA. A análise de microrganismos que participam dos ciclos dos elementos químicos permite comparar áreas e indicar métodos de restauração ambiental mais eficazes. Um grupo de microrganismos do solo, os fungos micorrízicos arbusculares é fundamental para o estabelecimento e desenvolvimento de plantas em áreas de baixa fertilidade ou degradadas. Este grupo de microrganismos conta com o apoio de bactérias chamadas Micorriza Helper. Além das análises realizadas, foi montado neste trabalho, uma coleção de bactérias fixadoras biológicas de nitrogênio do ar, solubilizadoras de rochas fosfáticas, degradadoras de compostos orgânicos como amido, celulose e proteínas. Estas bactérias serão agora aplicadas em plantas juntamente com fungos micorrízicos arbusculares e, as mais promissoras na ação de “incentivar” os fungos, serão selecionadas pra compor um biofertilizante com potencial de acelerar a recuperação de áreas degradadas por mineração de bauxita, o minério gerador do alumínio, uma das principais hoje no estado do Pará.

### 2. MATERIAS E MÉTODOS

Foram feitas duas coletas de amostras de solo nas dependências da empresa mineradora instalada no município de Paragominas-PA, uma no período seco (setembro de 2018) e outra no período chuvoso (abril de 2019). Em cada uma foram coletadas amostras de oito áreas diferentes, que apresentam os três métodos de recuperação: plantio, regeneração e nucleação, sempre uma antiga e uma recente, e contempla ainda uma área de floresta como referência e uma área somente desmatada, a supressão. Em cada área de estudo foram traçadas nove parcelas de 5.0 × 20.0 m, e as amostras de cada parcela foram coletadas na profundidade de 20 cm, totalizando 9 amostras de solo por área. As amostras foram acondicionadas em sacos plásticos e levadas ao laboratório da Faculdade de Química da Unifesspa em Marabá-PA e mantidas a temperatura ambiente até as análises. Análise de grupos funcionais de bactérias e fungos do solo - A primeira etapa foi a diluição do solo, onde foram autoclavados frascos de erlemeyer contendo 180 mL de solução fisiológica (NaCl 0,85%). Em seguida, em uma câmara de fluxo laminar, o volume dos frascos foi completado para 200 mL com a adição das amostras de solo. Utilizou-se 1 mL retirado de cada frasco e diluiu-se (mais 4 vezes) em tubos de ensaio com 9 mL de solução fisiológica, até a diluição 10-5. Para as diluições de 10-3, 10-4, 10-5 foram inoculados 50 µL da amostra diluída em placas de Petri contendo os meios de cultivo amilolítico, proteolítico, celulolítico, sabouraud, LB (Luria Bertani), actíno, NFB (Nitrogen Fixing Bacteria) e SF (Solubilizadoras de Fosfato), e foram cuidadosamente espalhadas superficialmente com alça de Drigalsky devidamente flambada. Após o crescimento dos microrganismos na placa de Petri, foi feita a contagem da diversidade e quantidade de bactérias e fungos presentes. Foi feito em seguida o processo de revelação, para identificar o halo de ação enzimática das bactérias celulolíticas, proteolíticas e amilolíticas. Utilizou-se o iodo para revelar as bactérias celulolíticas e amilolíticas, e o ácido clorídrico para revelar as bactérias proteolíticas. Em seguida as bactérias foram isoladas e congeladas em glicerol para posteriores análises.

Os microrganismos isolados são mantidos em laboratório em frascos contendo meio de cultivo inclinado, o que proporciona uma sobrevivência das bactérias por cerca de 6 meses. E em frascos contendo solução de glicerol a 30%



em freezer a  $-20^{\circ}\text{C}$ . Com sobrevivência nestas condições de aproximadamente 12 meses. Durante o período de quarentena, devido à pandemia do novo coronavírus a equipe precisou realizar a manutenção da coleção. Foi preparado meio de cultivo e esterilizado em frascos de penicilina. E solução de glicerol esterilizada em microtubos de centrifuga e, cada linhagem bacteriana foi cultivada em placas de petri com meio de cultivo Luria Bertani, e, em seguida transferidas porções para os frascos contendo meio inclinado e para os tubos com glicerol. Os frascos permaneceram em incubadora B.O.D. por 48 horas até o pleno crescimento das culturas bacterianas e depois foram acondicionados em caixas de papelão em estante à temperatura ambiente. Os tubos de glicerol foram congelados em freezer a  $-20^{\circ}\text{C}$ . Desta forma a coleção microbiana permanece viável para a continuidade da pesquisa ao se restabelecer as condições de trabalho presencial nas dependências da Unifesspa.

### 3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os microrganismos que estão sendo analisados quanto aos grupos funcionais (Albino et al. 2006) nas áreas em recuperação ambiental, vêm sendo organizados em uma coleção criopreservada (Glicerol 30% a  $-20^{\circ}\text{C}$ ). Nesta etapa do trabalho eles deverão ser submetidos a testes com plantas axênicas em casa de vegetação. Plantas controle (milho representando monocotiledôneas e Feijão representando dicotiledôneas) receberão fungos micorrízicos arbusculares e as linhagens bacterianas. A avaliação dos parâmetros biométricos das plantas (altura da parte aérea, Peso seco, comprimento de raízes), indicarão os microrganismos com potencial para a utilização como biofertilizantes nas áreas degradadas da empresa.

Quando chegaram no laboratório as amostras de solo colhidas em abril de 2019 nas dependências da mineradora Hydro em Paragominas, foram recrutados estudantes para auxiliar na contagem e isolamento de microrganismos de cada grupo funcional de bactérias. Ai então iniciou-se a participação neste trabalho. A análise de grupos funcionais e o isolamento dos microrganismos estendeu-se de abril de 2019 a fevereiro de 2020, quando então deveriam ter iniciado testes com plantas em casa de vegetação. Neste ponto, em 19 de março os trabalhos foram suspensos, e mantivemos somente a pesquisa teórica e o trabalho de manutenção das culturas microbianas.

### 4. CONSIDERAÇÕES FINAIS

As espécies microbianas deverão ser reveladas por análise de sequências de DNA, permitindo assim a compreensão de quais microrganismos atuam em cada grupo funcional e se o mesmo microrganismo desempenha vários papéis ou se são específicos. Pretende-se ao final da primeira fase do projeto, indicar qual dos métodos de restauração ambiental traz mais vantagens à comunidade microbiana e, se é possível a utilização de alguns dos microrganismos isolados como biofertilizantes aceleradores da restauração ambiental nas áreas de mineração.

A varias pesquisas com esses grupos funcionais, tendo resultados bem promissores, como os actinomicetos que tem em seu DNA citosina e guanina como filamentos predominantes, esses compostos conseguem degradar compostos de difícil decomposição, a estudos que dizem que os actino tem capacidade de decompor ate compostos químicos ambientalmente prejudiciais. Seria de extrema importância realizar tais estudos.

### REFERÊNCIAS (Conforme ABNT)

ALBINO, U. B., SARIDAKIS, D. P., FERREIRA, M. C., HUNGRIA, M., VINUESA, P., ANDRADE, G. High Diversity of Diazotrophic Bacteria Associated With the Carnivorous Plant *Drosera villosa* var. *Villosa* Growing in Oligotrophic Habitats in Brazil. *Plant and Soil*, 287: 199-207, 2006.

GARBAYE, J. Helper bacteria: a new dimension to the mycorrhizal symbiosis. *New Phytologist* 128: 197-210, 1994.

SILVEIRA, Érico Leandro da. Inoculações de bactérias promotoras de crescimento no cultivo de arroz em solução nutritiva. 2008. xiii, 83 f. Tese (doutorado) - Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, 2008. Disponível em: <<http://hdl.handle.net/11449/103886>>. Acesso em: 04 maio 2016.