

BIORREMEDIAÇÃO EM SOLOS CONTAMINADOS: ÊNFASE NO USO DA BACTÉRIA RIZÓBIOS

Rafael Gonçalves Calazans ¹

Bernadete de Souza Santos ²

RESUMO

Biorremediação é um processo no qual organismos vivos, normalmente plantas ou microrganismos, são utilizados tecnologicamente para remover ou reduzir (remediar) poluentes no ambiente. Os rizóbios são muito utilizados em processos de biorremediação para tratar principalmente solos contaminados. Sendo assim, a caracterização morfológica, bioquímica e genética de bactérias do gênero *Rhizobium* associadas a leguminosas pode trazer grandes benefícios para a formulação de tecnologia mais eficaz e econômica.

Palavras-chave: *Biorremediação, solos contaminados, Rizóbios*¹

Artigo apresentado para conclusão do curso de Engenharia Ambiental e Sanitária do Centro Universitário UNA Belo Horizonte, MG.

¹ Graduando em Engenharia Ambiental e Sanitária. UNABH, 2016, MG. E-mail: rg.calazans@gmail.com

² Graduada em Ciências Biológicas com especialização em Entomologia Médica e Veterinária. Mestre em Microbiologia, ambos pelo ICB UFMG (Instituto de Ciências Biológicas). Professora do Centro Universitário UNA. Belo Horizonte, MG. E-mail: bernadete.santos@prof.una.br

1 INTRODUÇÃO

“O intenso aumento da população mundial gera uma busca sobrevivência, fazendo com que as ações antrópicas ao meio ambiente sejam, ao longo do tempo, cada vez maiores” (ALVES, 2006). Essa busca constante de modernização de máquinas e equipamentos que viessem facilitar a vida humana, porém com isto a troca de materiais e produtos gerou uma grande quantidade de lixo doméstico e industrial devido ao consumo da população mundial (ALEXANDER, 1994) , assim então promovendo a disposição inadequada de resíduos domésticos e industriais, principalmente resíduos perniciosos, implicando na contaminação do solo, ar, recursos hídricos superficiais e subterrâneos.

Preocupações com a qualidade do ar e das águas começaram a surgir com mais intensidade ao redor do mundo, mas as preocupações com solos contaminados não surgiram de imediato, pois por não serem visualmente percebidas demoram a mostrar os efeitos aos seres humanos. Apenas no final da década de 70 alguns estudos focaram para a avaliação das condições do solo e a busca de meios de conter a contaminação. (SILVA, 2011)

Segundo a Política Nacional do Meio Ambiente (Lei 6.938/81), são considerados bens a proteger: a saúde e o bem-estar da população; a fauna e a flora; a qualidade do solo, das águas e do ar; os interesses de proteção à natureza/paisagem; a ordenação territorial e planejamento regional e urbano; a segurança e ordem pública. (CETESB, 2016)

Diante desse cenário, atualmente inúmeras pesquisas relacionadas à bioremediação de solos contaminados são realizadas, com a finalidade de restaurá-las. Vários métodos podem ser empregados, mas o presente trabalho tem como objetivo apresentar o processo de se recuperação de um solo contaminado, utilizando a técnica de biorremediação com ênfase na bactéria Rizobios.

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

Importância da Biorremediação de Áreas Contaminadas

De acordo com o Ministerio do Meio Ambiente, considera-se área contaminada como sendo área, terreno, local, instalação, edificação ou benfeitoria que contenha quantidades ou concentrações de quaisquer substâncias ou resíduos em condições que causem ou possam causar danos à saúde humana, ao meio ambiente ou a outro bem a proteger, que nela tenham sido depositados, acumulados, armazenados, enterrados ou infiltrados de forma planejada, acidental ou até mesmo natural. (MMA, 2016)

Nessa área, os poluentes ou contaminantes podem concentrar-se em subsuperfície nos diferentes compartimentos do ambiente, como por exemplo no solo, nos sedimentos, nas rochas, nos materiais utilizados para aterrar os terrenos, nas águas subterrâneas, ou de uma forma geral, nas zonas não saturada e saturada, além de poderem concentrar-se nas paredes, nos pisos e nas estruturas de construções. (MMA, 2016)

Os contaminantes podem ser transportados a partir desses meios, propagando-se por diferentes vias, como o ar, o solo, as águas subterrâneas e superficiais, alterando suas características naturais de qualidade e determinando impactos e/ou riscos sobre os bens a proteger, localizados na própria área ou em seus arredores. (MMA, 2016)

As vias de contaminação dos contaminantes para os diferentes meios podem ser a lixiviação do solo para a água subterrânea, absorção e adsorção dos contaminantes nas raízes de plantas, verduras e legumes, escoamento superficial para a água superficial, inalação de vapores, contato dermal com o solo e ingestão do mesmo por seres humanos e animais. (MMA, 2016)

Áreas contaminadas pelos mais diversos xenobióticos são uma constante nos dias de hoje, Muitas vezes, acidentes são inevitáveis e trazem como conseqüências grandes impactos ambientais que colocam em risco os recursos naturais do planeta. Entre as técnicas utilizadas para amenizar tais danos, existe a biorremediação de áreas contaminadas. (CORRÊA, 2007)

Biorremediação é um processo no qual organismos vivos, normalmente plantas ou microrganismos, são utilizados tecnologicamente para remover ou reduzir

(remediar) poluentes no ambiente e envolvem variações de tratamentos “*in situ*” (no local) e “*ex situ*” (fora do local), que podem envolver inúmeros procedimentos.

Vários contaminantes podem ser tratados biologicamente com sucesso entre eles destacam-se os seguintes: petróleo bruto, hidrocarbonetos de petróleo como gasolina, óleo diesel, combustível de avião, preservativos de madeira, solventes diversos, lodo de esgoto urbano ou industrial, entre outros xenobióticos. (CLAIRE, 2005)

“De modo geral, deve-se salientar que cada técnica de tratamento é dependente de vários fatores:” (SAMARTINI, 2013)

- 1) condições físicas, químicas e biológicas do local contaminado;
- 2) concentração do contaminante e;
- 3) tempo requerido para a degradação ou a remoção do composto alvo, conforme a técnica empregada

Em todos os processos de tratamento existe uma correlação direta entre o tempo requerido para a remediação da área e o custo total, como pode ser visto na Figura 1, que mostra a faixa de valor cobrado para a descontaminação de um metro cúbico (m³) de solo, usando diferentes técnicas de remediação. (SAMARTINI, 2013)

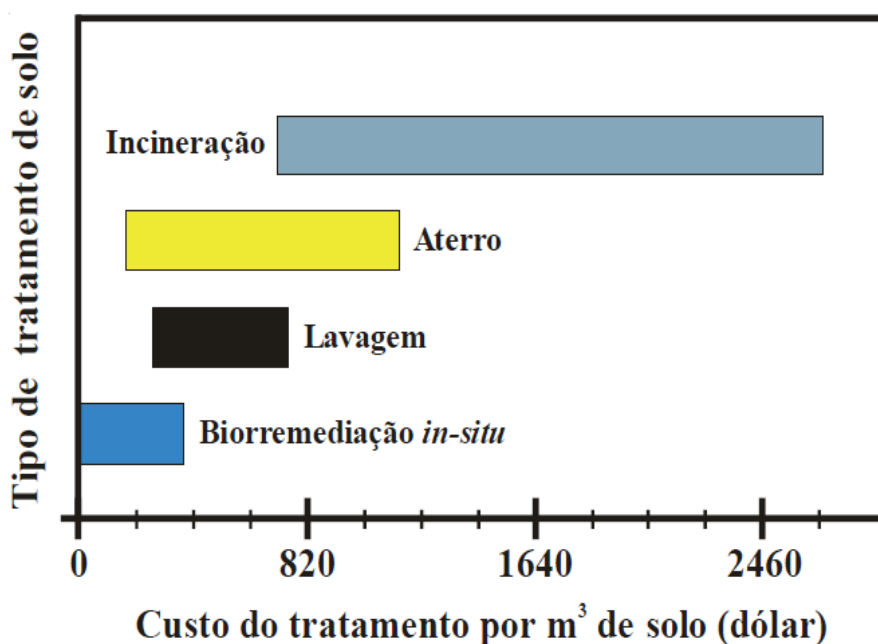


Grafico 1 – Fonte: (SAMARTINI, 2013)

Pode se notar que a biorremediação é a técnica que apresenta o custo mais baixo dentre as demais, tornando-se uma das mais populares.

Classificação da biorremediação

A biorremediação consiste na degradação bioquímica dos contaminantes por meio da atividade de microorganismos presentes ou adicionados no local de contaminação. Como as do tipo:

Ex-situ, realizado fora do local onde ocorreu a contaminação, é um tratamento que requer a escavação e a remoção do solo contaminado para outro local. A adoção deste procedimento pode resultar em um aumento considerável do custo do processo, porém é possível controlar com maior facilidade os fatores utilizados no tratamento dos solos. (FUSINATO, 2013)

In - situ, tratamento feito no próprio local da contaminação. Normalmente, essa opção de biorremediação torna o processo mais atrativo e economicamente viável, quando comparado ao tratamento citado anteriormente. Além disso, o tratamento in-situ, normalmente, acarreta em menores impactos ambientais advindos da remediação da área contaminada (FUSINATO, 2013). Além disso, a biorremediação pode se dar por via respiração, fermentação ou por co-metabolismo. As principais tecnologias empregadas na biorremediação são apresentadas a seguir : (LIMA & GOMES, 2006)

Tecnologias de tratamento in-situ:

> Bioventing: tecnologia baseada na introdução de ar na zona insaturada do solo, suprindo assim a necessidade de oxigênio requerida pelo processo da biodegradação aeróbia. (LIMA & GOMES, 2006)

> Biosparging: tecnologia semelhante ao Bioventing, porém o ar é introduzido na zona saturada, isto é, no lençol freático. A proposta é não somente suprir as necessidades de oxigênio, mas, também, transferir os poluentes voláteis para a zona insaturada na qual se encontram os microrganismos capazes de degradá-los. Além disso, a biorremediação irá ocorrer em alguma extensão no aquífero devido à introdução do oxigênio. (LIMA & GOMES, 2006)

> Air Sparging: tecnologia baseada na injeção de ar na zona saturada para volatilização dos contaminantes e remoção dos mesmos no sistema coletor de gases. (LIMA & GOMES, 2006)

> Pump-and-treat: tecnologia baseada no bombeamento da água contaminada para a superfície e posterior tratamento em biorreatores semelhantes aos normalmente utilizados em sistemas de tratamento aeróbio de efluentes líquidos, como, por exemplo, o sistema de lodos ativados. (LIMA & GOMES, 2006)

> Atenuação Natural Monitorada ou Biorremediação intrínseca: processo de tratamento não assistido, sendo apenas realizado monitoramento regular da concentração do contaminante. (LIMA & GOMES, 2006)

> Fitorremediação: tecnologia que envolve a utilização de plantas superiores, diretamente ou indiretamente, resultando em uma remoção ou degradação do poluente. Esse processo pode ocorrer através da remoção do poluente pela própria planta ou pela degradação do poluente pelos microrganismos que colonizam as suas raízes ou que estão em uma porção do solo bem próxima dessas. (LIMA & GOMES, 2006)

Tecnologias de tratamento ex-situ:

> Landfarming: tecnologia normalmente utilizada para o tratamento de resíduos industriais perigosos. Os resíduos são dispostos em células de tratamento de

grandes dimensões e misturados à camada superficial do solo, na qual encontra-se uma maior atividade microbiana. O solo sofre freqüente revolvimento e aragem com objetivo de suprir o oxigênio necessário à atividade microbiana. Da mesma forma, para a manutenção da atividade microbiana, o pH, a umidade e as concentrações de nutrientes são corrigidos periodicamente. (LIMA & GOMES, 2006)

> Compostagem: tecnologia variante do landfarming, baseada no tratamento aeróbio, termofílico de resíduos e solos contaminados. O material é misturado com um agente de carga (palha, pedaços de grama, madeira, folhas, serragem, etc) com o objetivo de aumentar a permeabilidade do solo, aumentar a taxa de transferência de oxigênio e servir como fonte de carbono e energia capazes de favorecer o rápido estabelecimento de uma população microbiana numerosa e ativa. (LIMA & GOMES, 2006)

> Biopilhas: tecnologia variante do landfarming, baseando-se, no entanto, em um sistema mais complexo que permite o controle da perda de compostos voláteis durante a fase operacional e a introdução de água, nutrientes e oxigênio. Porém, esse tipo de sistema não permite a freqüente mistura do solo para suprir limitações referentes à heterogeneidade e à disponibilização de nutrientes e contaminantes. (LIMA & GOMES, 2006)

> Biorreatores: O tipo de biorreator mais comum para o tratamento de solos contaminados são os reatores de lama ou slurry reactors. Neste, após escavação e peneiramento, o solo contaminado é misturado a uma fase aquosa (que pode conter microorganismos e/ ou nutrientes e/ou surfactantes). A “lama” gerada contém mais ou menos sólidos (de 10 a 40% p/p) em função do tipo de solo, dos equipamentos de agitação e do sistema de aeração disponíveis. A lama tratada normalmente é desidratada ou, alternativamente, pode ser submetida à biorremediação em fase sólida. Uma outra opção em termos de configuração de biorreatores são os reatores de fase sólida, onde trabalha-se com teores reduzidos de umidade no solo (10 – 20%). (LIMA & GOMES, 2006)

3 METODOLOGIA

O presente estudo bibliográfico tende a demonstrar a importância e a eficiência da bactéria Rizobios nos processos de biorremediação em solos contaminados.

Simbiose e Fixação Biológica de Nitrogênio

Uma importante forma de disponibilizar o nitrogênio é a utilização de espécies vegetais capazes de efetuar simbiose com bactérias que nodulam leguminosas e fixam N^2 atmosférico (BNLFN) . A FBN em raízes de leguminosas em resposta à infecção de *Rhizobium*, *Azorhizobium*, *Bradyrhizobium* e *Sinorhizobium* entre outros gêneros. (CORRÊA, 2007)

O termo simbiose significa “viver junto”. E, em termos gerais, o mutualismo trófico normalmente envolve parceiros especializados com formas complementares para obter energia e nutrientes que é o caso destas bactérias com as raízes de plantas leguminosas. Nesta associação simbiótica, as bactérias suprem as leguminosas com nitrogênio na forma em que este pode ser usado na síntese de proteínas, e as plantas, por sua vez, suprem as bactérias com uma fonte de energia para sua atividade de fixação de nitrogênio e com moléculas que possuem carbono, as quais são necessárias para a produção de compostos nitrogenados. (RICKLEFS, 2003)

Bactérias Diazotróficas Noduladoras de Leguminosas

“Uma importante forma de disponibilizar o nitrogênio é a utilização de espécies vegetais capazes de efetuar simbiose com bactérias que fazem pequenos nódulos leguminosos e fixam N^2 atmosférico (BNLFN)”(CORRÊA, 2007). Essas bactérias apresentam elevada diversidade e ampla variabilidade quanto a eficiência simbiótica e formam estruturas específicas denominadas, os nódulos, onde ocorre conversão de N^2 atmosférico a amônia. Atualmente, têm-se conhecidos as seguintes

as bactérias de fixação de nitrogênio em raízes de leguminosas: *Rhizobium*, *Azorhizobium*, *Bradyrhizobium* e *Sinorhizobium* entre outros gêneros. Almeida *et al.* 1988, afirmaram que a família Leguminosae possui espécies cultivadas que podem ser autossuficientes em nitrogênio, podendo enriquecer o solo com os restos de cultura, após a colheita. (CORRÊA, 2007)

A autossuficiência em nitrogênio, dessas plantas vêm da capacidade que as mesmas têm de permitir que a infecção das raízes por bactérias do gênero *Rhizobium* e formar uma estrutura especializada denominada nódulo onde o rizóbio sofre modificações em sua estrutura e no seu metabolismo, estabelecendo assim, uma das mais perfeitas associações conhecidas, onde a planta e a bactéria são mutuamente favorecidas: a denominada simbiose das leguminosas. (CORRÊA, 2007)

Importância da Caracterização Fenotípica

A biodiversidade do solo é responsável pela estabilidade e resiliência do ecossistema, haja vista estar ligada, direta ou indiretamente, a processos de formação do solo, ciclagem e armazenamento de nutrientes.

A melhor compreensão da diversidade da microbiota do solo pode propiciar desenvolvimento de estratégias que permitam a otimização dos processos biológicos que, por sua vez, visem aumentar a sustentabilidade dos agrossistemas (MOREIRA, 2013).

De acordo com Stralio 1999, os estudos taxonômicos e filogenéticos estruturam a biodiversidade de rizóbio no solo, facilitam a comunicação entre os cientistas e buscam o maior entendimento da biologia e evolução da simbiose entre rizóbio bactérias e plantas, resultando em importantes aplicações práticas. (CORRÊA, 2007)

Rizóbios e a biorremediação de solos

As bactérias do gênero *Rhizobium* têm importante função no ciclo do nitrogênio. A função delas é converter o nitrogênio presente na atmosfera em formas

que possam ser absorvidas pela planta, essas bactérias só podem realizá-lo em associação com leguminosas (Soja, feijão, ervilha, alfafa, entre outras). (FUSINATO, 2013)

Esse gênero de bactérias está presente principalmente nas raízes de leguminosas, formando os nódulos radiculares, provenientes da associação simbiótica (associação entre duas espécies diferentes que lhes permite viver com vantagens recíprocas e os caracteriza como um só organismo) entre a planta e bactéria (PEREIRA, 2015).

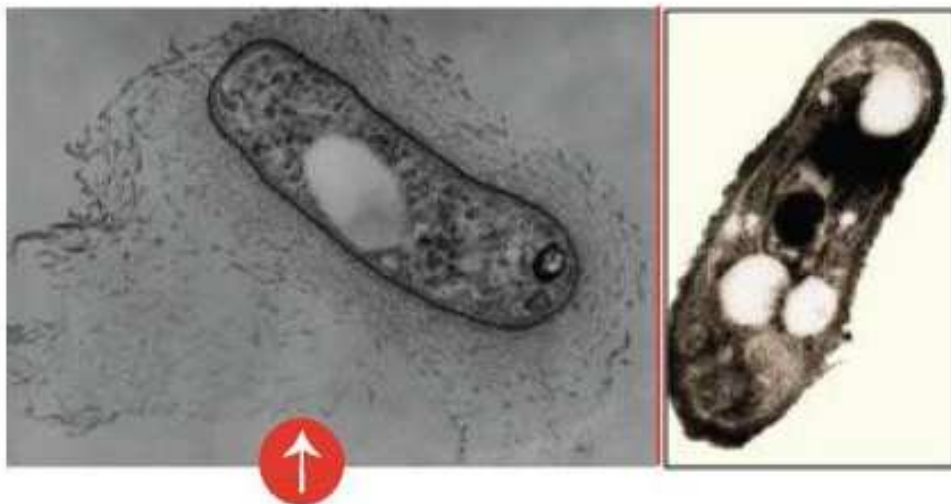


Figura 1 - Rhizobium

Fonte: FERNANDES, 2014



Figura 2 - Nodulo

Fonte: FERNANDES, 2014

Tem-se o início do processo de nodulação quando ocorre a combinação adequada por parte da planta e da bactéria, dando-se em seguida a adesão da bactéria aos pêlos radiculares e a proliferação dos mesmo. (FERNANDES, 2014)

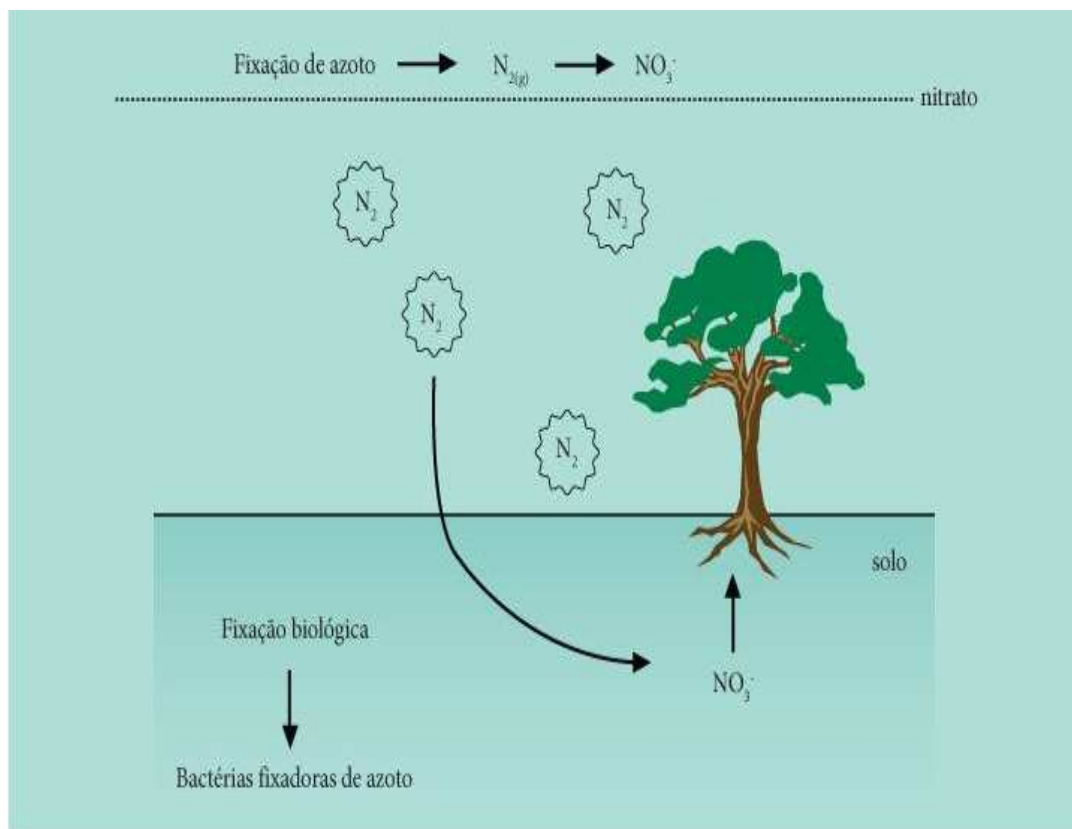
Após a proliferação no pêlo radicular irá ocorrer o deslocamento da bactéria para a raiz principal através do canal de infecção (hilo). Ao chegar à raiz principal inicia-se a fixação do nitrogênio. O processo de divisão das células bacterianas e vegetais é contínua e resulta na formação de um nódulo maduro. (FERNANDES, 2014)

Funcionamento do Processo de Fixação Biológica de Nitrogênio

A reação de fixação do nitrogênio caracteriza-se pela redução do N_2 (gasoso) em formas mais absorvíveis e assimiláveis pelas plantas como o NH_3 (amônia solúvel em água) e NO_3^- (nitratos), que depois entram no processo de fotossíntese da planta para a produção da cadeia de proteínas necessárias, para a planta e para o rizóbio. Portanto, para que a reação ocorra, é necessário que haja um transporte de elétrons. A enzima nitrogenase presente no rizóbio é formada por duas unidades

proteicas, a Ferro-proteína (Fe-proteína) e a Molibdénio-Ferro-proteína (MoFe-proteína), ambas capazes de transportar eletrons. Durante a reação de redução do N_2 a nitrogenase é auxiliada por uma terceira molécula transportadora de eletrons, a ferridoxina (FERNANDES, 2014).

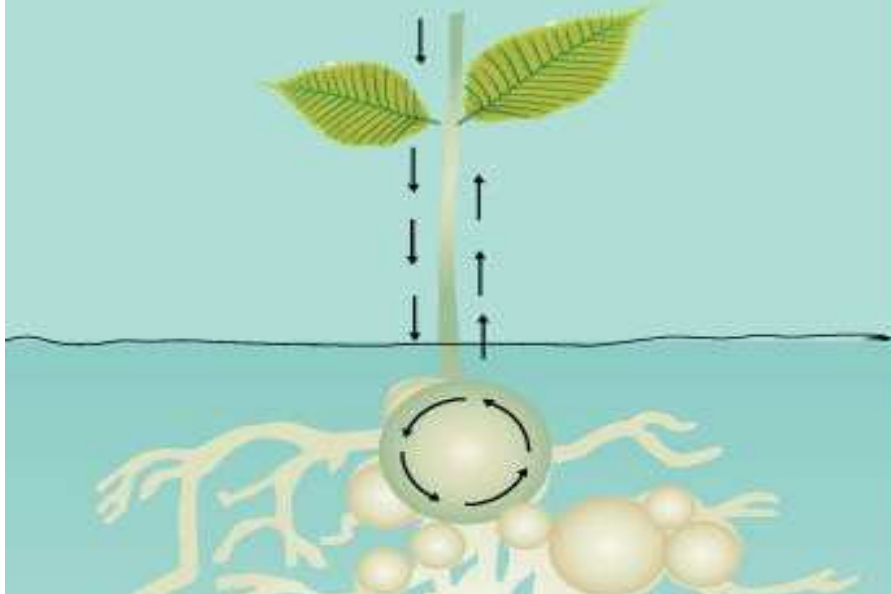
As bactérias utilizam parte dos fotoassimilados da planta hospedeira para gerar a energia necessária para promover o processo de fixação biológica do nitrogenio. Portanto, a planta beneficia de nitrogenio fixado pela bactéria para síntese das suas proteínas.



Processo de fixação biológica do nitrogenio

Fonte: FERNANDES, 2014

Relação de simbiose entre o rizóbio e a planta hospedeira



Fonte: FERNANDES, 2014

Portanto, a associação de plantas, leguminosas, com bactérias do gênero *Rhizobium* é capaz de fixar o nitrogênio atmosférico e fornecê-lo à cultura, mecanismo capaz de substituir, ao menos parcialmente, a adubação nitrogenada resultando numa diminuição dos custos de adubação além de aumentar a produtividade e evitar a lixiviação de nitrato para águas subterrâneas (PEREIRA, 2015).

Devido à capacidade de interação com bactérias do gênero *Rhizobium*, as leguminosas são frequentemente escolhidas para a adubação verde que são plantas utilizadas para melhoria das condições físicas, químicas e biológicas do solo. (EMBRAPA, 2016)

Os rizóbios são muito utilizados em processos de biorremediação para tratar principalmente solos contaminados. Sendo assim, a caracterização morfológica, bioquímica e genética de bactérias do gênero *Rhizobium* associadas a leguminosas pode trazer grandes benefícios para a formulação de tecnologia mais eficaz e econômica nos sistemas agrícolas brasileiro além de proporcionar sustentabilidade ecológica (PEREIRA, 2015).

Tratamento de solos contaminados com petróleo

“No mundo atual a sociedade ainda é muito dependente do petróleo e seus derivados como fonte de energia. Devido a grande exploração, acidentes podem ocorrer causando vazamentos no meio ambiente”. (FUSINATO, 2013)

O petróleo é uma mistura complexa que contém vários compostos, sendo que os hidrocarbonetos representam a fração majoritária. De acordo com a sua origem, as suas composições químicas e as suas propriedades físicas variam de um campo petrolífero para outro. Devido, principalmente, à complexidade dessa mistura, normalmente o tratamento de áreas contaminadas por essas substâncias é bastante difícil e problemático. (ALMEIDA, 2010)

O processo de biorremediação realizado por microrganismos não patogênicos é indicado como o mais adequado quando se visa o seu uso em ambientes naturais. Os rizóbios são bactérias não patogênicas que tornam o nitrogênio atmosférico disponível para as plantas e para os ecossistemas. A identificação de rizóbios com a capacidade de crescer em petróleo bruto é o ponto de partida para a seleção daqueles, que em presença de petróleo bruto conseguem eliminá-lo ou transformá-lo em alguma substância não tóxica ao ambiente para fins de biorremediação. (FUSINATO, 2013)

No solo rizosférico ocorre uma diversidade elevada de microrganismos, capazes de usar diferentes fontes de carbono para crescerem nesse ambiente, podendo assim ser usados para a biorremediação de ambientes contaminados com petróleo. (FUSINATO, 2013)

Tratamento de solos contaminados com metais pesados

“Como o crescimento das indústrias, os resíduos industriais também aumentam, e muitos desses resíduos contêm metais pesados como mercúrio e a Arsênio”. (FUSINATO, 2013)

Devido a algum acidente pode ocorrer vazamento desse material, que vem a contaminar o solo. Uma alternativa eficiente para tratar esse tipo de poluição é a

biorremediação com rizóbios. A presença de compostos inorgânicos tóxicos em solos poluídos, tais como metais pesados, têm um impacto importante na microflora residente, que de um modo geral parece ser menos variada em áreas sujeitas à poluição. Nos solos poluídos por atividades industriais, a vegetação contribui de forma importante para a sua regeneração. (FUSINATO, 2013)

As plantas leguminosas têm um papel importante, devido ao seu interessante potencial agrícola e à sua capacidade de fixar o nitrogênio atmosférico. Algumas espécies estão presentes em condições ambientais extremas, semelhantes às que existem em solos contaminados.

Alguns rizóbios crescem em solos contaminados principalmente com mercúrio (Hg) e Arsênio (As), que são áreas afetadas particularmente pela libertação de efluentes líquidos das indústrias químicas e de fertilizantes. (FUSINATO, 2013)

Tratamento de solos contaminados pela agricultura

A agricultura é uma das principais fontes de contaminação ambiental devido ao uso intensivo de agroquímicos e fertilizantes minerais, especialmente os nitrogenados, que coloca em risco o meio ambiente devido ao seu potencial de contaminação do solo, lençóis e espelho de água.

O íon nitrato é um dos principais poluentes. Tendo em vista a preservação dos recursos naturais, através do uso sustentável do agro-sistema, uma alternativa ao cultivo com adubos químicos é o uso de microrganismos com a finalidade de melhorar a disponibilidade de nutrientes às plantas. (FUSINATO, 2013)

Entre os microrganismos mais utilizados, destaca-se a importância da simbiose formada pelas bactérias do grupo dos rizóbios, pertencentes aos gêneros *Rhizobium*, *Bradyrhizobium*, *Azorhizobium*, *Sinorhizobium*, *Mesorhizobium*, entre outros. Estas se associam às raízes das plantas formando estruturas denominadas nódulos, nas quais realizam a Fixação Biológica de Nitrogênio - FBN, em troca dos carboidratos fornecidos pelas hospedeiras. A FBN se caracteriza pelas reações químicas que transformam o N₂, que constitui 78% dos gases da atmosfera, em compostos nitrogenados assimiláveis pelas plantas. (FUSINATO, 2013)

Existem muitas famílias botânicas na natureza, porém poucas são as famílias capazes de estabelecer simbiose com as bactérias do grupo dos rizóbios, como a família Leguminosae. A família Leguminosae é uma das maiores famílias botânicas, com aproximadamente 20000 espécies, e essas são, em sua maior parte, árvores tropicais . (CORRÊA, 2007)

Espécies da família Leguminosae, que estabelecem simbiose eficiente com bactérias fixadoras de N₂ atmosférico apresentam uma vantagem adicional para plantios de reabilitação de áreas degradadas, considerando-se que em condições tropicais o nitrogênio é em geral, extremamente limitante. Um número considerável de leguminosas conhecidas é capaz de formar nódulos com bactérias fixadoras de nitrogênio e tem potencial para uso em sistemas agro florestais, para reabilitação de áreas degradadas e para ajudar a manutenção da sustentabilidade dos solos. (CORRÊA, 2007)

4 ANÁLISE DOS RESULTADOS

Foi adotada para este trabalho uma pesquisa bibliográfica referente a resultados obtidos em laboratório pelo INPA (Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia), que apresentam rizóbios testados que manifestam a capacidade em usar o petróleo como fonte de carbono, indicando que possuem potencial para degradarem o petróleo caso ocorra uma contaminação por esse produto. (LIMA, 2012)

De acordo com o estudo as estipes de *Rhizobium* foram obtidos junto ao banco de microrganismo do Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia, setor de Microbiologia do solo. Para avaliação, foi usado o meio de cultura com manitol como fonte de carbono, como testemunha e, como fonte alternativa, o petróleo para verificar suas habilidades em usar esse composto para seu crescimento. (LIMA, 2012)

Foram avaliados 53 isolados com capacidade de utilizar o petróleo como fonte de carbono. A Tabela 1 mostra as melhores estirpes (9 rizóbios) que apresentaram pontuações superiores a 3,0 até o nono dia de crescimento em meio

contendo petróleo (P) como fonte de carbono. Porém aos 15 dias totais da avaliação 9 rizóbios apresentaram notas satisfatórias. As estirpes INPA BP1CUPU 2 e INPA CV 912, apresentaram pontuação máxima (4,0) desde a primeira avaliação (3º dia), apresentando crescimento acelerado em meio contendo petróleo como fonte de carbono. Segundo Souza et al. (2010) o conhecimento da capacidade de biodegradação por microrganismos da gasolina é uma estratégia essencial para a aplicação de processos biológicos na restauração de áreas contaminadas com hidrocarbonetos derivados do petróleo. (LIMA, 2012)

Rizóbio	3 ^o . Dia		6 ^o . Dia		9 ^o .Dia	
	M	P	M	P	M	P
INPA						
INPA 558	2,25	1,88	2,45	3,6	3,5	3,82
INPA BP1CUPU 2	3,3	4,0	3,5	4,0	3,5	4,0
INPA CP3	1,5	3,93	2,1	4,0	2,1	4,0
INPA CV 912	3,25	4,0	3,5	4,0	3,5	4,0
INPA CA1522	4,0	2,93	4,0	2,93	4,0	3,25
INPA 507-8	4,0	2,75	4,0	3,87	4,0	3,87
INPA TP1031	4,0	3,25	4,0	3,75	4,0	4,0
INPA 42-7	3,87	3,0	4,0	3,25	4,0	3,25
INPA 821	3,93	3,5	3,93	4,0	3,93	4,0

M – Crescimento em Meio YMA (Controle); P – Crescimento em Meio com Petróleo.

Tabela 1 – Teste de degradação do Petróleo

Fonte: (LIMA, 2012)

Quadro 1 – Notas do teste com o DCPIP. Manitol (controle) e Petróleo (Teste).

Estirpes	24 horas		48 horas		72 horas	
	Manitol	Petróleo	Manitol	Petróleo	Manitol	Petróleo
INPA BP1 Cupu 2	3	2	3	2	3	2
INPA 507 – 8	2	1	2	1	4	1
INPATP1131	1	1	1	1	1	1
INPA CP3	1	1	1	1	1	1
INPA CA1522	1	1	1	1	2	1
INPA 558	1	1	1	1	1	1
INPA CV912	1	1	1	1	1	1
INPA 43 – 7	2	1	1	1	2	1
INPA 821	2	2	2	3	2	3

Fonte: (LIMA, 2012)

Dos isolados que foram testados 9 apresentaram médias suficientes (acima de 3) para o teste de degradação de hidrocarbonetos (Quadro 1). [20] Após o fim dos 3 dias dois isolados apresentam capacidade de degradação de hidrocarbonetos – INPA BP1 cupu-2 e INPA 821. (LIMA, 2012)

Conclui-se que dos 53 microrganismos da coleção do INPA testados, 9 estirpes de rizóbios se mostraram promissoras no uso de petróleo como fonte de carbono. O isolado INPA 821 obteve a maior nota em 72 horas de avaliação com o indicador DCPIP, sendo uma potencial estirpe para futuro estudo de processos de biorremediação em solos contaminados por petróleo.

O isolado INPA BPI cupu-2 apresentou início de descoloração até as 72 horas de observação, podendo ser utilizado em consórcio com outros microrganismos para melhores resultados em degradação de petróleo e seus derivados. (LIMA, 2012)

5 CONCLUSÃO

Diante desse cenário, podemos concluir que atualmente existem inúmeras pesquisas relacionadas à remediação de Áreas contaminadas. Vários métodos podem ser empregados. Não há uma regra geral que determine o melhor tratamento de uma área contaminada específica. Cada caso deve ser analisado individualmente, avaliando suas particularidades.

A biorremediação vem se destacando como uma ferramenta que pode ser utilizada tanto no solo, na água e no ar, pois os vários meios de aplicação desta técnica favorecem o seu uso devido a utilização de determinados micro-organismos, apesar de no momento as técnicas biorremediadoras não serem a resposta definitiva na limpeza de ambientes contaminados por acidentes com petróleo, ou contaminantes de outras origens. Espera-se que após muitos estudos e pesquisas nesta área em particular, a biorremediação deverá ser a ferramenta mais utilizada..

De modo geral, a biorremediação de solos com rizóbios apresenta-se como uma técnica bastante eficiente na degradação de petróleo e seus derivados, bem como pesados e químicos agrícolas, mesmo em condições ambientais extremas.

6 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALVES, M.C. "Recuperação dos solos degradados pela agricultura. In: ENCONTRO NACIONAL SOBRE EDUCAÇÃO AMBIENTAL NA AGRICULTURA", 5., 2006, Campinas. Anais. Campinas: Instituto Agrônomo, 2006. 1-CD-ROM.

ALEXANDER, M. "Biodegradation and Bioremediation", 302 p, Academic Press, 1994.

Rogério R. R. da Silva , – "O Processo de biorremediação na recuperação de solos contaminados", 2011.

CETESB – COMPANHIA DE TECNOLOGIA DE SANEAMENTO AMBIENTAL -
Disponível em: <<http://www.cetesb.sp.gov.br>> Acesso em: Abril. 2016.

Ministerio do Meio Ambiente - http://www.mma.gov.br/cidadessustentaveis/residuos_perigosos/areas-contaminadas - Acesso em: Junho,2016.

CORRÊA, T. "Caracterização e seleção de Rizóbios noduladores de leguminosas florestais para recuperação de áreas contaminadas por petróleo", 2007.

CLAIRE, CHRISTINE. Biorremediação – "Aspectos biológicos e técnicos da biorremediação de xenobióticos", 2005.

SAMARTINI, Barbara. – "Levantamento de informações sobre técnicas de biorremediação da contaminação de solos e aquíferos por derramamentos de gasolina", 2013.

FUSINATO. Emanuel – "Rizóbios na qualidade do solo", 2013.

LIMA. Andreia, GOMES. Selma, "Biorremediação de solos contaminados por petróleo: ênfase no uso de biorreatores", 2006.

RICKLEFS, E.R. "A Economia da Natureza. Editora: Guanabara Koogan", 2003. Rio de Janeiro, p.361.

F. T. A. MOREIRA. "Ocorrência de bactérias do gênero azospirillum spp. Associadas a gramíneas forrageiras no semiárido nordestino", 2013.

PEREIRA. Bruna – "caracterização e seleção de rizóbios noduladores de leguminosas florestais para recuperação de áreas contaminadas por petróleo", 2015.

MILIARIUM, 2004. "Fases del ciclo del nitrógeno".

DENARDIN, N. D., 2007. "Inoculação: por quê, quando e onde. Revista Plantio Direto", edição 100. Aldeia Norte Editora.

FERNANDES. Joana, RODRIGUES. Paulo – “Importância da inoculação com bactérias Rhizobium e Bradyrhizobium na produção de leguminosas e o uso do azoto”, 2014.

EMBRAPA – ADUBAÇÃO VERDE - Disponível em:<<https://www.embrapa.br/documents/1355054/1527012/4a++folder+Aduba%C3%A7%C3%A3o+verde.pdf/6a472dad-6782-491b-8393-61fc6510bf7d>> Acesso em: Junho. 2016.

ALMEIDA. Juliano¹; AUGUSTO. Fabio - “Biorremediação de solos contaminados por petróleo e seus derivados”, 2010.

LIMA. Natalia; PEREIRA. Bianca; OLIVEIRA. Luis – “Rizóbios com potencial para biorremediação de solos amazônicos contaminados por petróleo”, 2012.