

## RIZÓBIOS COM POTENCIAL PARA BIORREMEDIAÇÃO DE SOLOS AMAZÔNICOS CONTAMINADOS POR PETRÓLEO

Natalia Sarmanho Monteiro LIMA<sup>1</sup>; Bianca Galúcio PEREIRA<sup>2</sup>; Luis Antonio de OLIVEIRA<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Bolsista PIBIC/CNPq; <sup>2</sup>Orientadora INPA/CSAS; <sup>3</sup>Co-orientador INPA/CSAS

### 1.Introdução

Rizóbios são bactérias do solo que possuem a habilidade de converter o nitrogênio atmosférico em formas utilizáveis pela planta hospedeira num processo chamado de Fixação Biológica de Nitrogênio–FBN. O emprego de microrganismos conhecidos no tratamento de rejeitos potencialmente tóxicos, incluindo hidrocarbonetos de petróleo, é uma prática habitual em alguns países desenvolvidos. Não há ainda, no Estado do Amazonas, estudos sobre o impacto negativo da contaminação dos solos regionais com petróleo e derivados na microbiota dos mesmos, bem como as características da população microbiana tolerante e possivelmente responsável pelo processo de biorremediação natural. O objetivo deste trabalho foi encontrar estirpes de rhizobia da coleção de Microrganismos do INPA – Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia capazes de degradar petróleo.

### 2.Material e Métodos

As estirpes 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 (Vincent, 1970) como testemunha e, como fonte alternativa, o petróleo para verificar suas habilidades em usar esse composto para seu crescimento. Nos testes com petróleo, foram adicionados 0,1mL de petróleo bruto em cima do meio em cada placa de Petri. Foram feitas quatro repetições de cada meio para cada isolado. A avaliação de tolerância foi feita pelo método citado por Oliveira & Magalhães (1999). Os isolados que apresentaram as maiores notas na avaliação de tolerância foram testados quanto ao potencial de degradação de hidrocarbonetos com o indicador DCPIP.

### 3.Resultados e Discussão

Inicialmente foram avaliados 53 isolados conforme o método Oliveira & Magalhães (1999) que foi importante para determinação dos 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.

Tabela 1 - Teste de Degradação de Petróleo

Rizóbio	3 <sup>o</sup> . Dia		6 <sup>o</sup> . Dia		9 <sup>o</sup> .Dia	
	M	P	M	P	M	P
INPA	M	P	M	P	M	P
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.

Ron e Rosenberg (2002) demonstraram a capacidade de certos microrganismos utilizarem hidrocarbonetos como fonte de carbono, demonstrando também que estes microrganismos eram amplamente distribuídos na natureza, e que a utilização de hidrocarbonetos era altamente variável de acordo com a natureza química do composto na mistura do petróleo, e com as condições ambientais.

Dos isolados que foram testados 9 apresentaram médias suficientes (acima de 3) para o teste de degradação de hidrocarbonetos (Quadro 1).

Após o termino dos 3 dias( 72 horas) dois isolados apresentaram capacidade de degradação de

hidrocarbonetos – INPA BP1 cupu-2 e INPA 821. O mesmo ocorreu com Mariano (2006), que em 3 dias obteve descoloração para os óleos testados.

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

#### 4. Conclusão

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.

#### 5. Referências Bibliográficas

Acosta, M.; Oliva, L.; Abril, A. Colección de rhizobios de Proposis arboreos en la zona semiarida da la provincia de Cordoba (Argentina). *Ciencia del Suelo*, v12, p. 38-40. 1994. Andrade, J.A.; Augusto, F. Jardim, I.C.S.F. Biorremediação de solos contaminados por petróleo e seus derivados. *Eclética Química*. v, 35, n. 3, p.17-43. 2010. Buer, W.D. 1981. Infection of legumes by rhizobia. *Plant Physiol*. 32: 407-49. *Biotechnology*, v. 3, p. 249-252, 2002. Chagas Junior, A.F. 2007. Características agrônômicas e ecológicas de rizóbios isolados de solos ácidos e de baixa fertilidade da Amazônia. Tese( Doutorado em Biotecnologia) - Programa Multi-institucional de Pós-graduação em Biotecnologia/ Universidade Federal do Amazonas, Manaus, Amazonas, Brasil. Chagas Junior, A.F.; Oliveira, L.A.; Oliveira, A.N.; Willerding, A.L. Efetividade de rizóbios e caracterização fenotípica dos isolados que nodulam feijão-caupi em solos da Amazônia Central. *Acta Amazonica*. v. 39, p. 489-494. 2009. Hara, F.A.S.; Oliveira, L.A. Características fisiológicas e ecológicas de isolados de rizóbios oriundos de solos ácidos e alcalinos de Presidente Figueiredo, Amazonas. *Acta Amazonica*. v. 32, p. 343-357. 2004. Milani, E. J.; Brandão, J. A. S. L.; Zalán, P. V. & Gamboa, L. A. P. Petróleo na margem continental brasileira: geologia, exploração, resultados e perspectivas. *Brazilian Journal of Geophysics*. v. 18, p. 351-396. 2000. Oliveira, L.A.; Magalhães, H.P. Quantitative evaluation of acidity tolerance of root nodule bacteria. *Rev. Microbiologia*, v. 30, p.203-208. 1999. RON, Eliora Z.; ROSENBERG, Eugene. Biosurfactants and oil bioremediation. *Current opinion in biotechnology*, v. 13, n. 3, p. 249-252, 2002. Silveira, A.P.D.; Freitas, S.S. Microbiota do solo e qualidade ambiental. Instituto Agronômico. Campinas, São Paulo. 312 pp. 2007. Souza, D.B; Brito, G.C.B; Vasconcelos, F.C.W; Braga, L.C. Estudos de microrganismos presentes em uma área contaminada por gasolina comercial. *Revista de Estudos Ambientais*(online), v. 12, p. 38-46. 2010. Suominen, L.; Jussila, M.M.; Makelainen, K.; Romantuschuk, M.; Lindstrom, K. Evaluation os the Galega-Rhizobiumgalegae

system for the bioremediation of oil-contaminated soil. *Environmental Pollution*. v. 107, p. 239-244. 2000. Wetler - Tonini, R.M.C.; Rezende, C.E.; Grativol, A.D. Degradação e biorremediação de compostos de petróleo por bactérias: Revisão. *Oecologia Australis*, v. 14, p. 1025-1035. 2010. Vincent, J. M. A *Manual for the Practical Study of Root Nodule Bacteria*. Oxford: Blackwell Scientific. 1970.