



UNIVERSIDADE ESTADUAL DO MARANHÃO-UEMA  
CENTRO DE ESTUDOS SUPERIORES DE BALSAS-CESBA  
PROGRAMA DE PÓS GRADUAÇÃO EM AGRICULTURA E AMBIENTE

MYDILANY CARNEIRO FERNANDES

**ISOLADOS DE RIZOBACTÉRIAS (*Pseudomonas fluorescens*) NA REMOÇÃO DE  
CÁDMIO EM SOLOS AGRÍCOLAS DE SENADOR LA ROCQUE- MA**

BALSAS-MA

2021

MYDILANY CARNEIRO FERNANDES

**ISOLADOS DE RIZOBACTÉRIAS (*Pseudomonas fluorescens*) NA REMOÇÃO DE  
CÁDMIO EM SOLOS AGRÍCOLAS DE SENADOR LA ROCQUE- MA.**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Agricultura e Ambiente PPGAA/CESBA/UEMA, como requisito para obtenção do título de Mestre em Agricultura e Ambiente.

**Orientador:** Prof. Dr. José Roberto Pereira de Sousa.

**Coorientador:** Prof. Dr. Jorge Diniz de Oliveira.

BALSAS- MA

2021

Fernandes, Mydilany Carneiro.

Isolados de rizobactérias (*Pseudomonas fluorescens*) na remoção de cádmio em solos agrícolas de Senador La Rocque - MA / Mydilany Carneiro Fernandes. – Balsas, MA, 2022.

56 f

Dissertação (Mestrado) – Curso de Agricultura e Ambiente, Centro de Estudos Superiores de Balsas, Universidade Estadual do Maranhão, 2022.

Orientador: Prof. Dr. José Roberto Pereira de Sousa.

1.Biorremediação. 2.Biossorção. 3.Cádmio. 4.*Pseudomonas fluorescens*.  
I.Título.

CDU: 631.46(812.1)

**MYDILANY CARNEIRO FERNANDES**

**ISOLADOS DE RIZOBACTÉRIAS (*Pseudomonas fluorescens*) NA REMOÇÃO DE CÁDMIO EM SOLOS AGRÍCOLAS DE SENADOR LA ROCQUE- MA.**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Agricultura e Ambiente PPGAA/CESBA/UEMA, como requisito para obtenção do título de Mestre em Agricultura e Ambiente.

Linha de pesquisa: Restauração e Conservação de Ecossistemas

**Orientador:** Prof. Dr. José Roberto Pereira de Sousa.

**Coorientador:** Prof. Dr. Jorge Diniz de Oliveira.

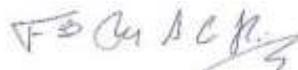
Aprovada em: 11/ 11/2021

**BANCA EXAMINADORA**



---

Prof. Dr. José Roberto Pereira de Sousa  
Orientador – UEMA



---

Prof. Dr. Francisco Eduardo A. Catunda-Junior  
Examinador interno – UEMASUL



---

Prof. Drª Teresinha de Jesus Aguiar Dos Santos Andrade  
Examinador externo – IFMA

BALSAS-MA

2021

Aos meus queridos pais, Milton e Eliane, por todo amor e amparo, e por que sempre estarem presentes em todas as etapas da minha vida. Dedico.

Não fui eu que lhe ordenei? Seja forte e corajoso! Não se apavore, nem se desanime, pois eu o senhor, o seu Deus estarei com você por onde você andar.

Josué 1.9

## AGRADECIMENTOS

Primeiramente, agradeço à Deus, por todas as bênçãos alcançadas até aqui. Por Seu cuidado em todos os momentos da minha vida, na dificuldade, e na bonança. Por ter me dado a oportunidade de concretizar a aprovação no mestrado.

Aos meus pais, por todo amor e por sempre me incentivarem nos estudos acreditando no meu potencial, e pelo apoio durante toda a minha trajetória acadêmica.

À minha irmã Thauani, minha companheira de todos os dias, que me apoia e torce pelo meu sucesso pessoal e profissional. A todos da minha família pelo incentivo e apoio de sempre.

Ao meu namorado Adailton, pelo carinho, e que mesmo de longe, sempre esteve comigo, me incentivando, e acreditando no meu potencial.

Ao meu orientador, Professor José Roberto Pereira de Sousa, por sua disponibilidade, ensinamentos e orientação.

Ao meu coorientador Professor Jorge Diniz de Oliveira, pela permissão de realizar meu trabalho em seu laboratório, pela paciência e orientação necessária.

À professora Ivaneide, por sua colaboração, disponibilidade e ensinamentos.

Aos meus colegas de laboratório, Tályta, Joyce e Nildo por toda ajuda em várias etapas do meu trabalho.

Aos meus amigos da turma de mestrado Joelson e Rayane, por toda ajuda, e disponibilidade que tiveram comigo.

À minha amiga Aline, pela amizade, e o apoio de sempre.

À FAPEMA, pela concessão da bolsa, que permitiu a conclusão deste trabalho.

À UEMASUL, pela oportunidade de desenvolver meu experimento.

## LISTA DE SIGLAS

As: Arsênio

Cd: Cádmio

Co: Cobalto

CTC: Capacidade de Troca Catiônica

Cu: Cobalto

Cu: Cobre

FAAS: Flame Atomic Absorption Spectrometry

HCl: Ácido Clorídrico

Hg: Mercúrio

IBGE: Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística

K: Potássio

KCl: Cloreto de Potássio

M.O: Matéria Orgânica

MPT: Metais Potencialmente Tóxicos

N: Nitrogênio

Ni: Níquel

P: Fósforo

PAHs: Polycyclic aromatic hydrocarbons

PCBs: Polychlorinated biphenyls

PCZ: Ponto de Carga Zero

pH: Potencial Hidrogeniônico

Zn: Zinco

## LISTA DE FIGURAS

<b>Figura 1</b> - Locais de coleta de amostras de solo, em uma área de horticultura no município de Senador La Rocque - MA.....	21
<b>Figura 2</b> - Ilustração dos dois principais mecanismos de remoção de metais pesado, a bioacumulação e a adsorção na superfície celular. Fonte: Yang, Chen e Wang (2015).....	38
<b>Figura 3</b> - Taxa de remoção (R%) de Cd <sup>2+</sup> por células vivas de <i>Pseudomonas fluorescens</i> , nos tempos 0, 2, 5, 10, 15 e 21 dias. ....	46
<b>Figura 4</b> - Comportamento da biossorção na remoção de Cd <sup>2+</sup> por células vivas de <i>Pseudomonas fluorescens</i> , nos tempos 0, 2, 5, 10, 15 e 21 dias. (Valor de q: mg do metal por g de biomassa). ....	47

## LISTA DE TABELAS

<b>Tabela 1</b> - Caracterização dos parâmetros físico-químicos do solo das áreas do município de Senador La Rocque- MA.....	24
<b>Tabela 2</b> - Caracterização da concentração inicial dos metais biodisponíveis dos solos das áreas estudadas ( $\text{mg kg}^{-1}$ ).....	26
<b>Tabela 3</b> - Análise de variância para médias da taxa de remoção por <i>Pseudomonas fluorescens</i> em diferentes dias. ....	44
<b>Tabela 4</b> - Análise de variância para médias de bio sorção de cádmio ( $\text{mg.g}^{-1}$ ) por <i>Pseudomonas fluorescens</i> em diferentes dias.....	45
<b>Tabela 5</b> - Médias de bio sorção de cádmio ( $\text{mg.g}^{-1}$ ) por <i>Pseudomonas fluorescens</i> – interação entre o tempo de residência e as áreas. ....	48
<b>Tabela 6</b> - Taxa de remoção (R%) por <i>Pseudomonas fluorescens</i> – interação entre o tempo de residência e as áreas. ....	49

## SUMÁRIO

<b>APRESENTAÇÃO</b> .....	<b>13</b>
<b>CAPÍTULO 1</b> .....	<b>15</b>
<b>CARACTERIZAÇÃO DO SOLO E DETERMINAÇÃO DOS METAIS</b> .....	<b>15</b>
<b>RESUMO</b> .....	<b>15</b>
<b>ABSTRACT</b> .....	<b>16</b>
<b>1 INTRODUÇÃO</b> .....	<b>15</b>
<b>2 METODOLOGIA</b> .....	<b>21</b>
2.1 Local de Estudo .....	21
2.2 Preparação das Amostras de Solo.....	22
2.2.1 Determinação da concentração de cádmio.....	22
2.3 Determinação de pH em H <sub>2</sub> O e KCl e Determinação do ΔpH.....	22
2.4 Predição do Ponto de Carga Zero (PCZ).....	23
2.5 Determinação da Capacidade de Troca Catiônica .....	23
2.6 Determinação da Porcentagem de Matéria Orgânica .....	23
<b>3 RESULTADOS E DISCUSSÃO</b> .....	<b>24</b>
3.1 Estudos das Variáveis Físico-químicas .....	24
3.2 Biodisponibilidade de Cádmio no Solo .....	26
<b>4 CONCLUSÃO</b> .....	<b>27</b>
<b>REFERÊNCIAS</b> .....	<b>29</b>
<b>CAPÍTULO 2</b> .....	<b>34</b>
<b>POTENCIAL BIORREMEDIADOR DA BACTÉRIA <i>Pseudomonas fluorescens</i> EM SOLOS CONTAMINADOS POR CÁDMIO</b> .....	<b>34</b>
<b>RESUMO</b> .....	<b>34</b>
<b>ABSTRACT</b> .....	<b>35</b>
<b>1 INTRODUÇÃO</b> .....	<b>36</b>
<b>2 METODOLOGIA</b> .....	<b>41</b>
2.1 Delineamento experimental.....	41
2.2 Processo de Ativação das Bactérias.....	41
2.3 Experimento de Biorremediação .....	41
2.4 Extração de Metais no Solo .....	42
2.5 Determinação dos Metais Potencialmente Tóxicos (Cd <sup>2+</sup> ).....	42
2.6 Destino do Material Contaminado.....	43

2.7 Análise Estatística .....	43
<b>3 RESULTADOS E DISCUSSÃO .....</b>	<b>44</b>
<b>4 CONCLUSÃO.....</b>	<b>51</b>
REFERÊNCIAS .....	52

## APRESENTAÇÃO

A ampla utilização de agrotóxicos na atualidade vem se intensificando a cada dia, devido ao grande avanço da urbanização e o aumento da demanda por alimentos. Sua utilização está principalmente relacionada ao uso de fertilizantes e defensivos agrícolas destinados ao aumento da produtividade dos mais diversos tipos de cultura e ao controle de pragas que acabam sendo um grande problema para o produtor. Porém, o seu uso repetitivo e indiscriminado pode ocasionar diversos problemas, que prejudica tanto o meio ambiente em seus processos biológicos, como também a saúde do homem.

O uso desses contaminantes em larga escala pode acabar acarretando na introdução de metais potencialmente tóxicos no solo, estes que mesmo encontrados em baixas concentrações acabam trazendo inúmeros prejuízos tanto para o solo que pode perder sua fertilidade, como para processos vitais da planta, que posteriormente são consumidas e esses metais acumulados ao longo das cadeias tróficas. O uso de microrganismos como bactérias na biorremediação de áreas contaminadas com metais pesados, vem aumentando nas últimas décadas, principalmente por apresentar inúmeros benefícios como o baixo custo, e também por utilizar organismos nativos do solo a ser remediado.

O presente estudo foi realizado em uma região periurbana localizada no município de Senador La Rocque-MA. de cultivo de hortaliças A população local vive basicamente do cultivo de hortaliças, comércio e criação de gado. A pesquisa nessa região se torna muito relevante, pois a população não possui muita informação a respeito do uso de agrotóxicos, bem como o seu risco por uso indiscriminado. Dessa forma, o objetivo geral deste trabalho foi avaliar a capacidade de remoção de cádmio em solos de horticultura por isolados de Rizobactérias: *Pseudomonas fluorescens* desenvolvendo assim estratégias que possam ser implementadas na região de Senador La Rocque-Ma, colaborando para o desenvolvimento mais sustentável das atividades agrícolas.

Para tanto, o mesmo foi dividido em dois capítulos, sendo o capítulo 1 denominado: Caracterização e Determinação de cádmio no Solo, que apresenta os aspectos físico-químicos dos solos estudados, e as concentrações iniciais do metal cádmio encontradas antes da adição da solução de bactérias no solo. O objetivo geral deste capítulo foi: avaliar a influência das mudanças dos atributos físico-químicos do solo na biodisponibilidade de cádmio em uma horticultura com diferentes tempos de cultivo

Os objetivos específicos foram:

- Estimar os parâmetros físico-químicos dos solos investigados;

- Quantificar os teores do metal cádmio presentes nos solos anteriormente cultivados e atualmente em uso;
- Verificar o efeito dos fatores ambientais na biodisponibilidade de cádmio;

O capítulo 2 intitulado: Potencial Biorremediador da Bactéria *Pseudomonas fluorescens* em Solos Contaminados por Cádmio, mostra os resultados das taxas de remoção e capacidade de bio sorção dessas bactérias ao longo de vinte e um dias após sua adição ao solo.

O objetivo geral deste capítulo foi: avaliar a capacidade de remoção e bio sorção de cádmio em solos de horticultura por isolados de rizobactérias: *Pseudomonas fluorescens* desenvolvendo assim estratégias que podem ser implementadas na região de Senador La Rocque-MA, colaborando para o desenvolvimento mais sustentável das atividades agrícolas

Os objetivos principais foram:

- Avaliar a capacidade de remoção e bio sorção de cádmio por isolados de Rizobactérias: (*Pseudomonas fluorescens*) no solo investigado;
- Avaliar o efeito no tempo na biorremediação dos solos estudados;
- Incentivar o desenvolvimento socioeconômico sem prejudicar a sustentabilidade dos recursos naturais através da biorremediação.

As hipóteses testadas foram: 1) Bactérias *Pseudomonas fluorecens* são eficientes no processo de remediação de solos contaminados por cádmio. 2) Solos atualmente cultivados e solos anteriormente cultivados, porém, não estão mais em uso, respondem de maneira diferente à ação das bactérias no processo de biorremediação.

## CAPÍTULO I

### CARACTERIZAÇÃO DO SOLO E DETERMINAÇÃO DOS METAIS

#### RESUMO

Objetivou-se com este trabalho, estimar os parâmetros físico-químicos dos solos investigados, quantificar os teores do metal cádmio presentes nos solos anteriormente cultivados e atualmente em uso, e verificar o efeito dos fatores ambientais na biodisponibilidade desses metais. Foram feitas as análises físico-químicas do solo como pH,  $pH_{KCL}$ ,  $pH_{H_2O}$ , capacidade de troca catiônica (CTC), teor de matéria orgânica, ponto de carga zero (PCZ). O delineamento utilizado foi em blocos casualizados (DBC) constituído de 6 tratamentos (tempo 0, 2, 5, 10, 15 e 21 dias), e 3 repetições (área 1, área 2, área 3), resultando em 54 unidades amostrais, em fatorial 6x3.  $pH_{H_2O}$  apresentou uma média de 5,72 e os valores mínimos foram encontrados na Área 1 e Área 2 (4,9 e 5,8, respectivamente), e o máximo de 6,2 na Área 3. O  $pH_{KCL}$  apresentou valores mínimos na Área 1 (2,03) e valores máximos na Área 3 e área natural com o valor de (5,2). A média da matéria orgânica obtida foi de 6,3. A CTC apresentou uma média de 0,4  $cmol\ c\ kg^{-1}$  com uma variação de 0,2 a 0,9  $cmol\ c\ kg^{-1}$ . O ponto de carga zero apresentou uma média de 2,75 com uma variação de -0,6 a 4,4. A variação do pH apresentou valores entre -0,2 e -0,9, com média de -0,2. A partir dos resultados obtidos, foi possível observar que os solos dos locais estudados possuem caráter ácido, ou muito ácido, retendo então cátions, presença de matéria inorgânica, baixa média de troca catiônica, A extração da espécie investigada, determinada por Espectrometria de Absorção Atômica com Chama (FAAS). As áreas, atualmente cultivada e com intervalo de tempo de cultivo, apresentaram valores elevados de cádmio quando comparados ao valor de intervenção agrícola para o cádmio que é 1,3 ( $mg\ kg^{-1}$ ), com média de (2,6) para a área 1, e (2,4) e (2,7) para as áreas 2 e 3 respectivamente. Observou-se concentrações de cádmio biodisponíveis elevadas nos solos investigados quando comparadas à área natural. O solo apresentou características de pH ácido e muito ácido, com predomínio de matérias inorgânicas, com balanço de cargas negativas, propiciando a adsorção de cátions.

**Palavras-chave:** Agrotóxicos, cádmio, solo.

## ABSTRACT

The objective of this work was to estimate the physicochemical parameters of the investigated soils, to quantify the levels of metal cadmium present in previously cultivated soils and currently in use, and to verify the effect of environmental factors on the bioavailability of these metals. The physicochemical analyzes of the soil such as pH, pHKCL, PhH<sub>2</sub>O, cation exchange capacity (CTC), organic matter content, zero charge point (PCZ) were carried out. The design used was a randomized block (DBC) consisting of 6 treatments (time 0, 2, 5, 10, 15 and 21 days) and 3 replications (area 1, area 2, area 3), resulting in 54 sampling units, in 6x3 factorial. pH H<sub>2</sub>O had an average of 5.72 and the minimum values were found in Area 1 and Area 2 (4.9 and 5.8, respectively), and the maximum of 6.2 in Area 3. The pH KCL presented minimum values in Area 1 (2.03) and maximum values in Area 3 and natural area with the value of (5.2). The average of the organic matter obtained was 6.3. The CTC had an average of 0.4 cmol c kg<sup>-1</sup> with a variation of 0.2 to 0.9 cmol c kg<sup>-1</sup>. The zero load point averaged 2.75 with a range from -0.6 to 4.4. The pH variation presented values between -0.2 and -0.9, with an average of -0.2. From the results obtained, it was possible to observe that the soils of the studied sites have an acidic or very acidic character, thus retaining cations, presence of inorganic matter, low average cation exchange, The extraction of the investigated species, determined by Atomic Absorption Spectrometry with Flame (FAAS). The areas, currently cultivated and with an interval of cultivation time, presented high values of cadmium when compared to the value of agricultural intervention for cadmium, which is 1.3 (mg kg<sup>-1</sup>), with an average of (2.6) for the area 1, and (2.4) and (2.7) for areas 2 and 3 respectively. High concentrations of bioavailable cadmium were observed in the investigated soils when compared to the natural area. The soil showed characteristics of acidic and very acidic pH, with a predominance of inorganic materials, with negative charge balance, favoring the adsorption of cations.

**Keywords:** Pesticides, cadmiun, soil

## 1 INTRODUÇÃO

O Brasil é considerado um dos maiores produtores de alimentos no mundo e um dos países que mais consome agrotóxicos nos métodos de produção de diversas culturas agrícolas. (CARVALHO et al., 2017). O crescimento populacional aliado ao consumo desenfreado de produtos, as atividades antrópicas e a intensificação dos processos industriais são responsáveis por inúmeros locais contaminados pelo mundo, acentuando os problemas da poluição dos solos e da água, pela introdução de vários contaminantes, como pesticidas, herbicidas, metais tóxicos entre outros, dentre os quais representa uma ameaça para a saúde humana e o ecossistema natural (CASTELO-GRANDE, 2003; CHEN, et al., 2015).

Os agrotóxicos são substâncias químicas ou suas misturas, que apresentam finalidade, tanto direta como indireta, de prevenir, repelir ou acabar, com agentes infecciosos, que são nocivos e prejudiciais aos cultivos e criações (PERES et al., 2003; ZIMBA; ZIMUDZI, 2016). Práticas inadequadas de manejo diminuem os estoques de matéria orgânica do solo, sendo que a mesma possui muita importância para fornecer nutrientes às plantas, retenção de cátions, complexação de elementos tóxicos e micronutrientes (ENSINAS et al., 2014).

O Brasil é considerado um dos líderes mundiais em cultivares agrícolas, que realizam algum tipo de uso de produtos químicos (SILVA; COSTA, 2012). Em 2016, cerca de 550 mil toneladas desses produtos foram vendidos no Brasil (BRASIL, 2016). A utilização de agrotóxicos na produção agrícola no país representa 30% de todo o mercado global consumidor, sendo o Brasil, o maior mercado consumidor individual (CONAB, 2019). Apesar de existir no mercado um grande número de compostos para controlar as mais diversas pragas, existe uma demanda crescente por novos produtos, pois os organismos desenvolvem resistência a tais compostos, passando a ser menos efetivos (PEREZ, 2009).

O amplo cultivo de hortaliças como a alface e outras folhosas exige manejo nutricional do solo para obtenção de produção vegetal que se adeque à comercialização. Isso envolve com muita frequência práticas culturais que beneficiem a produção de forma rápida e volumosa, como por exemplo, os mecanismos de irrigação, e a aplicação de fertilizantes, exclusivamente os formulados com N, P e K, que fornecem os principais nutrientes necessários à planta como o nitrogênio (N), fósforo (P) e potássio (K) (SOSA et al. 2010).

Os produtos químicos trouxeram muitas vantagens para o cultivo de diversas culturas. No entanto, o que se tem discutido são os prejuízos trazidos pelo seu uso decorrente e excessivo, que por consequência, poluem o solo com contaminantes (metais tóxicos como o

chumbo) comprometendo assim a qualidade do ecossistema e da saúde humana por não serem digeridos por organismos vivos (FREITAS et al., 2009; ANTONIOLLI et al., 2013).

Os metais potencialmente tóxicos, termo mais difundido para metais pesados, são aqueles que apresentam alta densidade ( $> 5 \text{ g cm}^{-3}$ ), em comparação aos demais elementos e número atômico maior que 20 ocorrem naturalmente na natureza e alguns deles desempenham papel na nutrição de plantas como o Co, Zn e Cu, enquanto o mercúrio (Hg), chumbo (Pb), cádmio (Cd) e arsênio (As) exercem efeitos deletérios e são os de maior risco ambiental em razão do seu uso intenso, toxicidade e ampla distribuição (MANZINI et al., 2010).

Em adição, os metais pesados diferem em sua maioria das demais substâncias tóxicas por sua alta persistência no ambiente, e por sua não degradabilidade. Sua remediação em solos contaminados se dá por meio de imobilização, contenção, separação e remoção. Conhecer a mobilidade dos metais no solo se torna importante, além de entender as técnicas mais adequadas de descontaminação, pois a distribuição de metais tóxicos em perfis de solos varia, contaminando o solo e as águas superficiais e também podem alcançar as águas subterrâneas (MUÑOZ, 2002; BAPTISTA, 2005; LI et al., 2016).

As principais fontes de poluição de metais potencialmente tóxicos do solo se dão pela aplicação de defensivos agrícolas ou de fertilizantes, despejo de resíduos sólidos, lançamento de esgotos domésticos ou industriais, resíduos resultantes do processo petroquímico e da mineração (REDDY; ADAMS, 2015; COVARRUBIAS et al., 2018). Dentre estes contaminantes, os metais tóxicos se destacam por seu comportamento ambiental e toxicológico extremamente diferenciado e específico, merecendo maior atenção quanto ao seu tratamento, evitando efeitos nocivos ao meio ambiente e à saúde humana. (TAVARES, 2013).

Baixas concentrações de metais pesados já são consideradas tóxicas e, portanto, prejudiciais aos organismos vivos, pois atraem para si proteínas e enzimas impedindo que funcionem. Em adição, as funções dos pulmões, cérebro, fígado, rim, composição do sangue e outros órgãos podem ser inibidas e os níveis de energia pode ser diminuído pela toxicidade do metal pesado. Alguns metais e seus compostos podem causar câncer devido à sua repetida exposição a longo prazo (JAISHANKAR et al., 2014).

Na dinâmica do sistema solo, ocorrem reações químicas, físicas e biológicas complexas, tanto nos seus constituintes minerais e orgânicos, quanto nos elementos que lhe são inseridos constantemente (CAMARGO, 2007). Em função de suas características e propriedades, os solos demonstram uma grande capacidade de decomposição bem como, inativação de substâncias consideradas prejudiciais ao meio ambiente. No entanto, uso

constante de agrotóxicos tem ocasionado a contaminação dos recursos naturais, com possíveis efeitos negativos na saúde humana e animal (CAMARGO, 2007).

Na solução do solo, os MPT disponíveis são absorvidos pelas raízes das plantas dependendo da concentração e posteriormente são translocados para a parte aérea das plantas, e dependendo da cultura (parte aérea comestível), esses MPT transferem-se do meio ambiente para o homem, fechando-se o ciclo de transferência para a cadeia alimentar (WELDEGEBRIEL et al., 2012).

Os metais tóxicos são transportados principalmente pelas águas, sob duas formas físicas: as espécies dissolvidas e as espécies associadas às partículas sólidas (MIRANDA et al., 2009). O excesso dos metais também pode alterar as propriedades físico-químicas dos solos, diminuir atividades microbianas, causar perdas de rendimento agrícola e redução da fertilidade dos solos (GAO et al. 2010; NOGUEIRA, 2018). O Cádmio (Cd) é considerado um dos elementos mais tóxicos nos processos biológicos tanto dos seres humanos, animais e plantas (SANDSTEAD et al, 2007, SPURGEON, 2010).

O cádmio se liga à mitocôndria e pode inibir tanto a respiração celular quanto a fosforilação oxidativa em baixa concentração (PATRICK, 2003), que resulta em aberrações cromossômicas, troca de cromátides irmãs, quebras de fitas de DNA em linhagens celulares, além de causar mutações e deleções cromossômicas (JOSEPH, 2009). Diante do conhecimento da sua toxicidade, entende-se o motivo pelo qual os solos contaminados com este elemento acabaram se tornando um grande problema em todo o mundo (FIRME et al; 2014).

O Cd está normalmente concentrado nas camadas superficiais do solo, pelo maior teor de matéria orgânica encontrado nessa região, e pode ficar fortemente adsorvido neste horizonte durante a ciclagem da vegetação e mesmo em baixas concentrações é absorvido pelas raízes das plantas e pode se acumular também em outras partes vegetais contribuindo para sua presença na cadeia alimentar (STERCKEMAN et al., 2011).

O Cd pode ser encontrado naturalmente pelo desgaste da rocha de origem, sendo as rochas sedimentares as que apresentam maior teor desse metal. Faz parte da composição dos fertilizantes fosfatos que são fontes de contaminação para solos agrícolas (RIBEIRO, 2013). Sua solubilidade dependem de fatores como, pH, matéria orgânica, e dos óxidos de ferro e manganês (STERCKEMAN et al., 2011). O excesso de cádmio (Cd) biodisponível é um problema global pela sua alta toxicidade para os seres vivos em quantidades baixas, e por ser

solúvel em água, sendo assim considerado um dos metais pesados que causam mais danos para os seres vivos (DAS et al., 2014, KHAN, et al., 2017, LI et al., 2018, SHI et al., 2020).

Plantas que crescem em solos contaminados por Cd podem manifestar algumas características de toxicidade, como também desenvolverem mecanismos de resistência que viabilizem seu funcionamento e sobrevivência. O acúmulo de Cd, entretanto, não é nocivo apenas às plantas, mas também para os organismos ocasionando efeitos adversos nos diferentes processos biológicos do solo, seres humanos e outros animais (MEHARG, 2011).

As fontes de contaminação por cádmio como por exemplo, a aplicação de fertilizantes nas lavouras, podem levar à contaminação dos solos e o aumento da captação de cádmio por culturas e produtos hortícolas, cultivadas para o consumo humano (KHOSHGOFTARMANESH & CHANEY, 2007).

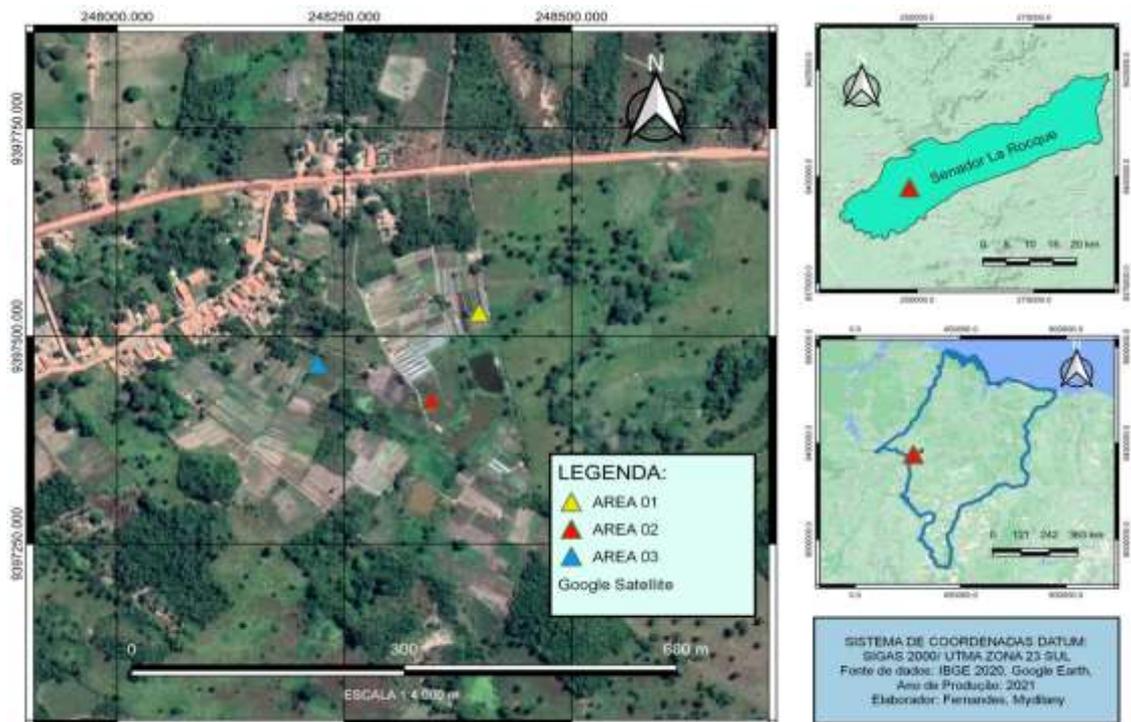
A restauração de ecossistemas contaminados por Cd faz-se necessária, devido a sua bioacumulação, biomagnificação e não biodegradabilidade na cadeia trófica (HUANG et al. 2014; FERNÁNDEZ et al., 2018; SU et al., 2020). Dessa forma, abordagens de remediação biológica e de baixo custo empregando-se o uso de microrganismos são promissoras, uma vez que algumas bactérias e fungos podem remover Cd do meio (SHI et al., 2020).

Diante do exposto, os objetivos desse capítulo foram estimar os parâmetros físico-químicos dos solos investigados, quantificar os teores do metal cádmio presente nos solos anteriormente cultivados e atualmente em uso, bem como verificar o efeito dos fatores ambientais na biodisponibilidade desse metal.

## 2 METODOLOGIA

### 2.1 Local de Estudo

As amostras de solo oriundas de horticultura, foram coletadas no município de Senador La Rocque-MA, onde são cultivados couve, alface, dentre outras hortaliças, e possui as seguintes coordenadas: área 1: Latitude S 5°26'46,6836", Longitude: W 47°16'14,44692", área 2: Latitude S 5°26'50,07732", Longitude: W 47°16'16,14432" e área 3: Latitude S 5°26'48,67908", Longitude: W 47°16'20,21952". O município possui população estimada em 2019 de 14.293 habitantes, com área territorial de 738,548 km<sup>2</sup>, possui densidade demográfica de 14,55 hab/km<sup>2</sup>, segundo o censo demográfico de 2019 do IBGE.



**Figura 1** - Locais de coleta de amostras de solo, em uma área de horticultura no município de Senador La Rocque – MA.

As amostras dos solos investigados foram coletadas com trado de aço inoxidável em camada de solo nas profundidades de 0- 20 cm, tornando-se 5 pontos com 4 metros de distância entre eles totalizando 15 pontos amostrais (Figura 1). Após as coletas, as amostras de solo foram identificadas e acondicionadas em sacos plásticos e transportadas para o laboratório sob refrigeração. Para a estimativa da influência do tempo de uso dos solos em

teores da espécie metálica investigada, utilizou-se o critério de coleta em três áreas, área 1 (atualmente em uso), área 2 (dois anos sem cultivo) e área 3 (quatro anos sem cultivo).

## **2.2 Preparação das Amostras de Solo.**

No laboratório de Química Ambiental as amostras foram transferidas para bandeja plástica e secas em temperatura ambiente ao ar por 72 h. Após a secagem, as amostras foram descompactadas e trituradas em gral de porcelana, em seguida, fracionadas utilizando-se peneiras de 2 mm. O material fracionado foi acondicionado em frasco de polietileno de cor escura e submetido à refrigeração até o momento das análises. As amostras para determinação do metal potencialmente tóxico foram transferidas para cápsulas de porcelana e submetidas à secagem em estufa a  $60^{\circ} \pm 1$  C, por 24 horas. A essa temperatura, os metais não são arrastados pelo vapor d'água, podendo-se fazer outras determinações, como, por exemplo, teor de matéria orgânica e carbono orgânico (LACERDA et al., 1990).

### **2.2.1 Determinação da concentração de cádmio**

Para a extração do metal, utilizou-se o método Mellich-1 ( $\text{HCL } 0,05 \text{ mol.L}^{-1}$  +  $\text{H}_2\text{SO}_4 \text{ } 0,0125 \text{ L}^{-1}$ ) (Mellich, 1953) Foram pesadas 5 g de cada amostra de solo em erlenmeyer de 250 ml, e adicionadas 30 ml dessa solução, mistura foi posteriormente agitada por 5 minutos a 220 rpm em agitador mecânico orbital. As análises foram feitas em triplicata. em chama (FAAS), com corretor de fundo com lâmpada de deutério. Foram utilizadas soluções padrão para a calibração do instrumento, as mesmas foram preparadas com base em alíquotas de solução estoque de  $1000 \text{ mg L}^{-1}$ .

### **2.3 Determinação de pH em H<sub>2</sub>O e KCl e Determinação do ΔpH.**

As amostras dos solos secas ao ar, e passadas em peneira de 2 mm homogêneas foram submetidas à análise de pH em água e KCl  $1 \text{ mol L}^{-1}$ , e determinadas potenciométricamente em suspensão, empregando 10,0 gramas de cada amostra, logo após foram acrescentados 25 mL de água e solo: KCl  $1 \text{ mol L}^{-1}$  e solo (relação 1:2,5) e agitando-se por 40 min. Após agitação a suspensão foi deixada em repouso por 1h. Em seguida, feitas as medições do pH nas amostras segundo Raij et al., (2001). A determinação do ΔpH foi obtida pela equação (01). Todas as análises foram feitas em triplicata.

$$\Delta\text{pH} = \text{pH}_{\text{KCl}} - \text{pH}_{\text{H}_2\text{O}} \quad (\text{Equação 01})$$

#### 2.4 Predição do Ponto de Carga Zero (PCZ)

De posse dos dados de pH em KCl e em H<sub>2</sub>O, foi realizada a predição do PCZ a partir da equação (02) proposta por Uehara (1979).

$$\text{PCZ} = 2\text{pHKCl} - \text{pHH}_2\text{O} \quad \text{Equação 02}$$

#### 2.5 Determinação da Capacidade de Troca Catiônica

Para a determinação dos cátions totais trocáveis (CTC), foram pesados 2,50 g das amostras, adicionando-se 25 mL da solução de ácido acético 1,00 mol L<sup>-1</sup>. Em seguida a suspensão foi agitada por 1 h em incubadora com agitação orbital shaker, sendo posteriormente então determinado o pH tanto da solução de ácido acético quanto da suspensão contendo a amostra conforme o método utilizado por Cotta et al. (2006). As determinações foram feitas em três repetições. A quantificação da CTC das amostras foi feita de acordo com a equação abaixo:

$$\text{CTC (cmol c kg}^{-1}\text{)} = [\text{pH1} - \text{pH2}] \times \text{Kctc}$$

Onde:

pH1= pH da suspensão contendo a amostra; pH2 = pH da solução de ácido acético; Kctc = Soma das cargas dos cátions presentes na CTC do solo.

#### 2.6 Determinação da Percentagem de Matéria Orgânica

Em cadinho de porcelana previamente calcinado a 550° C e aferido. As amostras secas e peneiradas a 2 mm foram submetidas à calcinação por 4 horas, em forno mufla a 550° C. Decorrido o tempo de calcinação, o cadinho foi resfriado em dessecador. A percentagem de matéria orgânica foi obtida por meio da diferença entre o peso inicial da amostra e o peso após a calcinação (EMBRAPA, 2011). As análises foram feitas em triplicata.

### 3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

#### 3.1 Estudo das Variáveis Físico-Químicas

Os dados apresentados na tabela 1, são referentes ao pH em água (pH H<sub>2</sub>O) pH em cloreto de potássio (pH KCl) Matéria Orgânica (M.O), Capacidade de Troca Catiônica (C.T.C); Ponto de Carga Zero (PCZ), e variação entre pH da água e KCl ( $\Delta$ pH) dos solos coletados em três áreas de uma horticultura na região periurbana do Município de Senador La Rocque- MA.

**Tabela 1** - Caracterização dos parâmetros físico-químicos do solo das áreas do município de Senador La Rocque- MA.

	<b>pH<sub>H2O</sub></b>	<b>pH<sub>HKCL</sub></b>	<b>M.O</b>	<b>CTC</b>	<b>PCZ</b>	<b><math>\Delta</math>pH</b>
ÁREA 1	4,9	2,03	6,8	0,5	-0,6	-0,2
ÁREA 2	5,8	4,4	5	0,3	3	-0,5
ÁREA 3	6,2	5,2	7,8	0,9	4,2	-0,9
A. N	6	5,2	5,6	0,2	4,4	-0,8

Área 1= atualmente cultivada; área 2= 2 anos sem cultivo, área 3= 4 anos sem cultivo. A. N= Área Natural; pH<sub>H2O</sub>= pH em água; pH<sub>KCl</sub> = pH em cloreto de potássio; M.O%= Matéria Orgânica; CTC= Capacidade de Troca Catiônica (cmol c dm<sup>-1</sup>); PCZ= Ponto de Carga Zero;  $\Delta$ pH: Variação do pH.

Segundo a classificação proposta por Gastalho et al. (2009), solos com valores de pH em água entre 3,5 a 5,0 são considerados muito ácido, valores entre 5,0 a 6,5 confere ao solo um caráter ácido, valores entre 6,5 e 7,5 são classificados como neutros, entre 7,5 e 8,7 recebem a classificação de alcalinos e superior a 8,7 são considerados muito alcalinos,

De acordo com os dados da tabela 1, os valores de pH dos solos investigados, foram de 4,9, para a área 1, caracterizada como muito ácido, (área 2) 5,8, ácido, (área 3) 6,2 e (área natural) 6, considerados ácidos. As variações de pH podem ser devidas ao uso frequente de herbicidas e outros produtos químicos como fertilizantes.

Os valores de pH encontrados nas áreas investigadas proporcionam a disponibilidade, a solubilidade e a possível lixiviação dos metais potencialmente tóxicos, tornando-os disponíveis em quantidades tóxicas para as raízes dos vegetais (AWKUMMI et al., 2015).

Foi possível observar que os valores de pH em KCl de todas as áreas foram menores que pH em água, com médias de (2,03) para a área 1, (4,4) para a área 2, (5,2) para a área 3 e (5,2) para a área natural. Ebeling (2008), discorre que esses resultados são geralmente atribuídos ao efeito da solução de KCl, que em contato com a amostra de solo, induz a troca de cátions devido a maior concentração de íons K<sup>+</sup>, liberando íons H<sup>+</sup> e Al<sup>3+</sup> para a solução,

umentando assim sua acidez. A área natural, apresentou uma média tanto de pH em H<sub>2</sub>O quanto KCl com características que correspondem à uma área de solo antropizado, sendo classificada de caráter ácido. Essa acidez no solo em áreas naturais pode ocorrer devido ao material de origem de determinado solo (GASTALHO et al., 2009).

Segundo Leite (2004), a matéria orgânica do solo apresenta maiores concentrações nas camadas superficiais e diminui com o aumento da profundidade. É importante ressaltar que todas as amostras de solo do presente estudo, foram coletadas na profundidade de 0-20 cm. De acordo com Alcântara e Pierangeli (2011), valores de matéria orgânica acima de 10 %, indicam predominância de compostos orgânicos, e abaixo de 10 %, de compostos inorgânicos ou minerais.

A tabela 1 mostra valores de matéria orgânica nas áreas correspondentes bem abaixo dos valores de referência que se espera encontrar nas camadas superficiais. Esses teores de M.O demonstram o predomínio de compostos inorgânicos, tendo maior valor médio na área 3 correspondendo à 7,8 %, as áreas 1 e 2 apresentaram médias de 6,8 % e 5% respectivamente. Em contrapartida, onde se esperava encontrar maior teor de matéria orgânica, a área natural, obteve-se a média 5,6 % quando comparado com as demais áreas (predomínio de material inorgânico).

Essa discrepância no valor de M.O na área natural em relação às demais, provavelmente está associada à adubação orgânica realizadas nessas áreas de cultivo. Muitas vezes no cultivo de hortaliças, ocorre a aplicação frequente de adubos e fertilizantes, que tem a função de fornecer os principais nutrientes necessários para o desenvolvimento da planta.

Os dados da tabela para os valores de CTC apresentam valores médios de (0,5) para a área 1, (0,3) para a área 2, (0,9) para a área 3, e (0,2) para a área natural. A CTC representa a graduação da capacidade de liberação de íons e/ou de vários nutrientes. Solos que apresentam uma CTC menor que 5 cmolc/dm<sup>3</sup> são classificados solos com baixo índice de CTC. Verifica-se, portanto, que os valores da CTC para todas as áreas estão abaixo do estabelecido por (COTTA, 2006). A baixa capacidade de adsorção de cátions das áreas pode ser um fator que contribui para o aumento da mobilidade dos metais na fase líquida do solo.

PCZ é um ponto de referência para se avaliar o sinal da carga líquida da superfície, no pH atual do solo, ou seja, se ela está carregada positivamente (pH < PCZ), ou negativamente (pH > PCZ) (UEHARA & GILLMAN, 1980). De acordo com os valores de PCZ demonstrados na tabela, foi possível observar médias discrepantes entre as áreas, onde obteve-se um valor de (-0,6) para a área 1, (3) para a área 2, (4,2) para a área 3, e (4,4) para a área natural, corroborando com os resultados de M.O e pH.

Segundo a EMBRAPA (2017), valores de PCZ de solos inferiores aos valores de  $pH_{H_2O}$  proporcionam a formação de cargas negativas nas superfícies das partículas dos solos apresentando então, capacidade de troca catiônica (EMBRAPA, 2017). Em todas as áreas investigadas, os valores de PCZ foram inferiores aos de  $pH_{H_2O}$  do solo, sendo assim, o solo apresentou balanço de cargas negativas. Fernandes et al. (2008), mencionam que neste caso a capacidade de troca catiônica (CTC) do solo superou a capacidade de troca aniônica (CTA) em condições de pH natural.

Valor negativo ou positivo de  $\Delta pH$  é indicativo de predominância de cargas líquidas negativas ou positivas nos coloides, respectivamente. De acordo com Uehara & Gilman (1980), em relação aos valores de  $\Delta PH$ , observou-se, valores negativos sendo -0,2 para a área 1, média de -0,5 para a área 2, e nas áreas 3 e 4, -0,9 e -0,8 respectivamente. Constatou-se então que todas as áreas dos solos investigados apresentaram cargas líquidas negativas. Assim, quando  $\Delta pH$  é negativo há predominância de cargas negativas, e nesses casos o solo retém mais cátions do que ânions.

### 3.2 Biodisponibilidade de cádmio no solo

Diversos trabalhos têm demonstrado que o uso intensivo de resíduos orgânicos na agricultura pode ocasionar o aumento da biodisponibilidade de metais no solo, e conseqüentemente, acarretar na sua translocação para as plantas (ROVEDA et al., 2014; SILVA, 2019). De acordo com a CETESB, o valor de prevenção para o metal cádmio é 1,3 ( $mg\ kg^{-1}$ ).

**Tabela 2** - Caracterização da concentração inicial de Cd biodisponível dos solos das áreas estudadas ( $mg\ kg^{-1}$ ).

C. I	NATURAL	ÁREA 1	ÁREA 2	ÁREA 3
Análise I	$9,60 \times 10^{-5}$	2,90352	2,7342	2,66832
Análise II	$9,1 \times 10^{-5}$	2,5986	2,1882	2,78628
Análise III	$1,19 \times 10^{-4}$	2,51604	2,40588	2,71584
MÉDIA	$1,02 \times 10^{-4}$	2,67272	2,44276	2,72348

C.I= Concentração inicial, área 1= atualmente cultivada; área 2= dois anos sem cultivo, área 3= quatro anos sem cultivo, A.N= Área natural.

Na Tabela 2, encontram-se os valores da concentração inicial biodisponível inicial de cádmio em cada área de estudo. Como se pode observar, a área natural, como se espera, apresentou concentrações muito baixas do metal. Isso se deve ao fato de que, o cádmio é

encontrado naturalmente em baixas concentrações nos solos pelo desgaste da rocha de origem, sendo as rochas sedimentares as que apresentam o maior teor deste metal (RIBEIRO, 2013).

As demais áreas (atualmente cultivada e com intervalo de tempo de cultivo), apresentaram valores elevados de cádmio quando comparados à área natural. É importante ressaltar que nessas áreas, há tanto a adição de adubo orgânico, como também de fertilizantes. De acordo com McBride (2003), o esterco animal utilizado em práticas de adubação, e até mesmo fertilizantes minerais, quando aplicados sucessivamente no solo, podem contaminá-lo com metais pesados.

Vários trabalhos apontam que as práticas de cultivos intensivos, realizadas em sequência ou intercalados por curtos períodos, e uso desenfreado de agroquímicos, levam ao acúmulo de elementos e/ou de compostos tóxicos a níveis indesejáveis nos solos agrícolas, causando a degradação química do solo e por consequência contribuindo para a contaminação dos corpos d'água, do solo e das espécies produzidas (CHEN et al., 2015).

Relacionando a variável físico-química matéria orgânica e concentração inicial de cádmio, pode-se observar que dentre todas as áreas analisadas, a área 3 obteve a maior média de M.O, como também a maior concentração inicial de cádmio, sendo esta interação explicada pela capacidade complexante da MO, que pode afetar a solubilidade, a biodisponibilidade e a mobilidade dos metais, retendo-os e diminuindo assim a mobilidade do poluente.

Xiaorong et al. (2007), em seu estudo, observaram que solos intensamente cultivados e afetados pelas práticas de fertilização mineral, apresentam teores mais elevados de metais pesados nos horizontes superficiais, resultados que corroboram com o presente estudo, onde todas as coletas de solo foram realizadas em profundidades de 0-20 cm considerada camada superficial.

#### 4 CONCLUSÃO

Observou-se elevadas concentrações de cádmio biodisponível nos solos investigados quando comparadas à área natural, fato que provavelmente pode ter sido um dos fatores que ocasionaram as alterações nas propriedades químicas e físicas do solo devido à intensa atividade antrópica no local. Esse comportamento pode ter ocorrido possivelmente pela aplicação de agrotóxicos para o controle de pragas, fertilizantes e adubação orgânica para suprir a demanda nutricional das plantas.

O solo apresentou características de pH ácido e muito ácido, fato que contribui na mobilidade do metal. Observou-se também o predomínio de matérias inorgânicas, que exerce influência na retenção de metais pesados no solo. Apresentou baixa capacidade de troca catiônica, balanço de cargas negativas, o que propicia a adsorção de cátions.

O estudo das variáveis físico-químicas é importante para avaliar a contaminação de metais no solo, pois possuem relação com a mobilidade dos mesmos. Embora o presente estudo demonstre a relação entre a existência de cádmio e a qualidade dos atributos físico-químicos do solo, estes não podem ser considerados os únicos fatores de alteração dessas características. Assim, é necessário que haja mais estudos a respeito de outras causas que contribuem para essas mudanças.

## REFERÊNCIAS

- ALCÂNTARA, A. J. O., PIERANGELI, M. A. P.; SOUZA, C. A.; SOUZA, J. B. Teores de As, Cd, Pb, Cr e Ni e atributos de fertilidade de Argissolo Amarelo distrófico usado como lixão no município de Cáceres, estado de Mato Grosso. **Revista Brasileira de Geociências**, v. 41, n.3, p. 539-548, 2011.
- ANTONIOLLI, Z. I.; REDIN, M.; SOUZA, E. L.; POCOJESK, E. Metais pesados, agrotóxicos e combustíveis: efeito na população de colêmbolos no solo. **Ciência Rural**, v. 43, n. 6, 2013.
- AWKUMMI, E. E., IBIGBAMI, O. A., ASAOLU, S. S., ADEFEMI, O. S., GBOLAGADE, A. Y. (Sequential Extraction of Heavy Metals from Soil Samples Collected from Selected Cocoa Farmland in Erijiyan, Ekiti State, Nigeria. **International Journal of Environmental Protection**, v. 5, p.1, p. 52-56, 2015.
- BAPTISTA, A. **Avaliação do potencial de recuperação de metais de catalisadores equilibrados através da técnica de remediação eletrocinética**. 2005. 151f. Dissertação (Mestrado em Engenharia de Materiais e Processos) - Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2005.
- BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Departamento de Vigilância em Saúde Ambiental e Saúde do Trabalhador. Relatório Nacional de Vigilância em Saúde de Populações Expostas a Agrotóxicos. Brasília; 2016.
- CAMARGO, O. A. **Uma visão política sobre contaminação de solos com metais pesados**. 2007.
- CARVALHO, M. M. X.; NODARI, E. S.; NODARI, R. O. “Defensives” or “pesticides”? A history of the use and perception of pesticides in the state of Santa Catarina, Brazil, 1950-2002. **História, Ciências, Saúde - Manguinhos**, v. 24, n. 1, p. 75-91, 2017.
- CASTELO-GRANDE, T.; BARBOSA, D. “Soil decontamination by supercritical extraction”. **Electronic Journal of Environmental, Agricultural and Food Chemistry**, v. 2, n. 2, 2003.
- CHEN, M.; XU, P.; ZENG, G.; YANG, C.; HUANG, D.; ZHANG, J. Bioremediation of soils contaminated with polycyclic aromatic hydrocarbons, petroleum, pesticides, chlorophenols and heavymetals by composting: Applications, microbes and future research needs. **Biotechnology Advances**, v. 33, n. 6, p 745–755, 2015.
- CONAB - **Companhia Nacional de Abastecimento; Acompanhamento da Safra Brasileira. V. 2 – Safra 2018/2019 – N4**, 2019.
- COTTA, J. A. P. O.; REZENDE, M. O. O.; PIOVANI, M.R Avaliação do teor de metais em sedimentos do rio Betari no Parque Estadual Turístico do Alto Ribeira-PETAR, São Paulo, Barsil. **Química Nova**, v. 29, n, 1, p. 20-40-45, 2006.

COVARRUBIAS, S. A.; de la TORRE, J. A. F.; VEGA, M. M.; GONZÁLEZ, F. J. A.; CABRIALES, J. J. P. Spatial Variability of Heavy Metals in Soils and Sediments of “La Zacatecana” Lagoon, Mexico. **Applied and Environmental Soil Science**, v. 2018.

DADVAR, S. et al. A study on the kinetics of 2-chloroethyl ethyl sulfide adsorption onto nanocomposite activated carbon nanofibers containing metal oxide nanoparticles. **Separation and Purification Technology**, v. 114, p. 24-30, 2013.

DAS, D; SALGAONKAR, B. B; MAMI, K; Braganca, J. M. Cadmium resistance in extremely halophilic archaeon *Haloferax* strain BBK2. **Chemosphere**, v. 112, p. 385-392, 2014.

EBELING, A. G., DOS ANJOS, L. H. C. PEREZ, D. V., PEREIRA, M. G., VALLADARES, G. S. Relação entre acidez e outros atributos químicos em solos com teores elevados de matéria orgânica. **Bragantia**, v.67, n.2, p.429-439, 2008.

EMBRAPA - Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária. Manual de análises químicas de solos, plantas e fertilizantes, 3° ed. **rev. ampl. Brasília**: Embrapa Informação tecnológica, 627 P. 2011.

EMBRAPA - Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária. Manual de análises químicas de solos, plantas e fertilizantes. 3° ed. Brasília: Embrapa Informação tecnológica, 2010. 627p.

EMBRAPA-Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária. Manual de análises químicas de solos. 3° ed. Brasília: Embrapa Solos, 2017. 574p.

ENSINAS, S. C.; MARCHETTI, M. E.; da SILVA, E. F.; POTRICH, D. C.; MARTINEZ, M. A. Atributos químicos, carbono e nitrogênio total em Latossolo submetido a diferentes sistemas de uso do solo. **Global Science and Technology**, v.7, n.7, p.24-36, 2014.

FERNÁNDEZ, P. M; Viñarta, S. C; Bernal, A. R; Cruz, E. L; Figueroa, L. I. Bioremediation strategies for chromium removal: current research, scale-up approach and future perspectives. **Chemosphere**, v. 208, p. 139-148, 2018.

FIRME, L. P., VILLANUEVA, F. C. A., & RODELA, A. A. Cadmium-contaminated soil: metal extractability and chemical kinetics of filter cake organic matter degradation. **Química Nova**, v. 37, n. 6, p. 956-963, 2014.

FREITAS, E. V. S.; NASCIMENTO, C. W. A.; GOULART, D. F.; SILVA, J. P. S. Disponibilidade de cádmio e chumbo para milho em solo adubado com fertilizantes fosfatados. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v. 33, n. 6, p. 1899-1907, 2009.

GAO, S. OU-YANG, C., TANG, L., ZHU, J. Q., XU, Y., WANG, S. H., & CHEN, F. . Growth and antioxidant responses in *Jatropha curcas* seedling exposed to mercury toxicity. **Journal of Hazardous Materials**, v. 182, n. 1, p. 591-597, 2010.

GASTALHO, C.; BARREIRO, I.; RIBEIRO, V. **Determinação do pH e acidez de uma amostra de solo**. Coimbra: Universidade de Coimbra, Faculdade de Farmácia, 20 e 27 de Nov. 2009.

HUANG, F; GUO, C. L; LU, G. N; YI, X. Y; ZHU, L. D; DANG, Z. Bioaccumulation characterization of cadmium by growing *Bacillus cereus* RC-1 and its mechanism. **Chemosphere**, v. 109, p. 134-142, 2014.

JAISHANKAAR, M., TSETEN, T., ANBALAGAN, N., MATHEW, B.B., BEEREGOWDA, K.N. Toxicity, mechanism and health effects of some heavy metals. **Interdisciplinary toxicology**, v. 7, n. 2, p. 60-72, 2014.

JOSEPH, PIUS. Mechanisms of cadmium carcinogenesis. **Toxicology and applied pharmacology**, v. 238, n. 3, p. 272-279, 2009.

KHAN, M. A; KHAN, S; KHAM, A; ALAM, M. Soil contamination with cadmium, consequences and remediation using organic amendments. **Science of the Total Environment**, v. 601, p. 1591-1605, 2017.

KHOSHGOFTARMANESH, A. H. e CHANEY, R. L. Preceding Crop Affects Grain Cadmium and Zinc of Wheat Grown in Saline Soils of Central Iran. **Journal of Environmental Quality**, v. 36, n. 4, p. 1132-1136, 2007.

LACERDA, L. D.; PAUL, F. C. E.; OVALLE, A. R. C.; PFEIFER, W. C.; MALA, O. Trace metal in fluvial sediments of the Madeira River watershed, amazon, Brazil. **Science of the Total Environmental**, v. 97/98, p. 525-530, 1990.

LEITE, C.M.B. Método Walkley Black na determinação da matéria orgânica em solos contaminados por chorume. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**. Campina Grande –PB, v. 8, n. 1, p. 111-115, 2004.

LI, X.; PENG, W.; JIA, Y.; LU, L.; FAN, W. Bioremediation of lead contaminated soil with *Rhodobactersphaeroides*. **Chemosphere**, v. 156, p. 228-235, 2016.

LI, Y; LIU, K; WANG, Y; ZHOU, Z.; CHEN, C; Ye, P; Yu, F. Improvement of cadmium phytoremediation by *Centella asiatica* L. after soil inoculation with cadmium-resistant *Enterobacter* sp. FM-1. **Chemosphere**, v. 202, p. 280-288, 2018.

MANZINI, F. F; DE SÁ, K. B; DE ALMEIDA PLICAS, L. M. Metais pesados: fonte e ação toxicológica. **Periódico Eletrônico Fórum Ambiental da Alta Paulista**, v. 6, n. 12, 2010.

McBRIDE, M.B. Toxic metals in sewage sludge-amended soils: has promotion of beneficial use discounted the risks. New York: Advances in Environmental Research, **Elsevier Science**, 2003.

MEHARG, A. A. Trace Elements in Soils and Plants. 4th edition. By A. Kabata Pendias. Boca Raton, FL, USA: CRC Press/Taylor & Francis Group (2010), pp. 548, US\$159.95. ISBN 9781420093681. **Experimental Agriculture** v. 47, n. 4, p. 739-739, 2011.

MIRANDA, R.G.; PEREIRA, S.F.P.; ALVES, D.T.V.; OLIVEIRA, G.R.F. Qualidade dos recursos hídricos da Amazônia - Rio Tapajós: avaliação de caso em relação aos elementos químicos e parâmetros físico-químicos. **Revista Ambiente & Água - An Interdisciplinary Journal of Applied Science** v. 4, n. 2, p. 75-92. 2009.

MUÑOZ, S. I. S. **Impacto ambiental na área do aterro sanitário e incinerador de resíduos sólidos de Ribeirão Preto**, SP: avaliação dos níveis de metais pesados. 2002. 158f. Tese (Doutorado em Enfermagem em Saúde Pública) - Escola de Enfermagem de Ribeirão Preto/Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, 2002.

NOGUEIRA, G. A. dos S. **Trocas Gasosas, Crescimento e Comportamento Bioquímico em Plantas Jovens de Paricá (*Schizolobium Amazonicum* Huber ex Ducke) em Diferentes Concentrações de Cádmio**. 68f. Tese (Doutorado em Ciências Florestais) – Universidade Federal Rural da Amazônia, UFRA, 2018.

PATRICK, L. Toxic metals and antioxidants: Part II. The role of antioxidants in arsenic and cadmium toxicity. **Alternative medicine review**, v. 8, n. 2, 2003.

PERES, F.; MOREIRA, J. C.; DUBOIS, G. S. Agrotóxicos, saúde e ambiente: uma introdução ao tema. **É veneno ou é remédio**, p. 21-41, 2003.

PERES, F. Saúde, trabalho e ambiente no meio rural brasileiro. **Ciência & Saúde coletiva**, v. 14, n. 6, p. 1995-2004, 2009.

RAIJ, B. V.; ANDRADE, J. C.; CANTARELLA, H.; QUAGGIO, J. A. Análise química para avaliação da fertilidade de solos tropicais. Campinas: Instituto Agrônomo, 285 p, 2001.

REDDY, K. R.; ADAMS, J. A. **Sustainable Remediation of Contaminated Sites**. New York: Momentum Press, LLC, 268 p, 2015.

RIBEIRO, M. A. do C. **Contaminação do solo por metais pesados**. Dissertação (Mestrado em Engenharia do Ambiente) - Faculdade de Engenharia, Universidade Lusófona de Humanidades e Tecnologias, Lisboa, 2013.

ROVEDA, L. F. et al. Composto orgânico com altos teores de níquel e sua biodisponibilidade no sistema solo planta. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental-Agriambi**, v. 18, n. 8, 2014.

SANDSTEAD, H. H.; AU, W. Em *Handbook on the toxicology of metals*; Nordberg, G. F.; Fowler, B. A.; Nordberg, M.; Friberg, L., eds.; 3<sup>rd</sup> ed., **Academic Press**, Elsevier Inc.: California, cap. 47, 2007.

SHI, Z; ZHANG, Z; YUAN, M; WANG, S; YANG, M; YAO, Q; BA, W; ZHAO, J; XIE, B Characterization of a high cadmium accumulating soil bacterium, *Cupriavidus* sp. WS2. **Chemosphere**, v. 247, p. 125834, 2020.

SILVA, J. A. M. **Evolução da Matéria Orgânica, Metais Pesados e Fósforo em Nitossolo Vermelho Distrófico Tratado com Dejetos Líquidos de Suínos**. Tese (doutorado) – Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Curso de Pós-Graduação em Agronomia – Ciência do Solo. —[s.l.] Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, 2019.

SILVA, M. F. O.; COSTA, L. M. A indústria de defensivos agrícolas. Biblioteca Digital. **BNDES Setorial** v. 35, p. 233-276, 2012.

SOSA, A, SOSA, A., PADILLA, J., ORTIZ, J., & ETCHEVERS, J. D. Spurgeon, D. J. Em *Trace elements in soil*; Hooda, P. S., ed.; John Wiley and Sons: London, cap. 8, 2010.

SPURGEON, D. J. Em *Trace elements in soil*; Hooda, P. S., ed.; John Wiley and Sons: London, cap. 8, 2010.

STERCKEMAN, T.; REDJALA, T.; MOREL, J. L. Influence of exposure solution composition and of plant cadmium content on root cadmium short-term uptake. **Environmental and Experimental Botany**, v. 74, p. 131–139, 2011.

TAVARES, S. R. de L. **Remediação de solos e águas contaminadas por metais pesados: Conceitos básicos e fundamentos**. Rio de Janeiro, ed. 1, 147 p., 2013.

UEHARA G & GILLMAN G. P. Charge characteristics of soils with variable and permanent charge minerals: I. Theory. **Soil Science Society America Journal**, 44:250-255, 1980.

UEHARA, G. Mineralo-chemical properties of Oxisols. In: **Proceedings... International Soil Classification Workshop**. 1979.

WELDEGEBRIEL, Y.; CHANDRAVANSI, B. S.; WONDIMU, T. Concentration levels of metals in vegetables grown in soils irrigated with river water in Addis Ababa, Ethiopia. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 77, p.57–63, 2012.

XIAORONG, W.; MINGDE, H.; MINGAN, S. Copper fertilizer effects on copper distribution and vertical transport in soils. **Geoderma**, Amsterdam, v.138, p. 213–220, 2007.

ZIMBA, M.; ZIMUDZI, C. Pesticide management practices among rural market gardening farmers near Harare, Zimbabwe. **South African Journal of Science**, v. 112, n. 9-10, p. 1-5, 2016.

## CAPÍTULO II

### POTENCIAL BIORREMEDIADOR DA BACTÉRIA *Pseudomonas fluorescens* EM SOLOS CONTAMINADOS POR CÁDMIO

#### RESUMO

A biorremediação consiste na utilização de metabolismo de microrganismos vivos ou seus componentes para eliminação ou redução, a níveis aceitáveis, de poluentes presentes no ambiente. Este processo tem sido intensamente pesquisado e recomendado pela comunidade científica como uma alternativa viável para o tratamento de ambientes contaminados, como águas superficiais, solos e resíduos industriais. O objetivo deste trabalho foi avaliar a capacidade de remoção e biossorção de cádmio por isolados de Rizobactérias: (*Pseudomonas fluorescens*) no solo investigado, avaliar o efeito do tempo na biorremediação, bem como incentivar o desenvolvimento socioeconômico sem prejudicar a sustentabilidade dos recursos naturais através da biorremediação. O trabalho foi conduzido no laboratório de química ambiental da Uemasul, no delineamento em blocos casualizados (DBC) com três repetições e esquema fatorial 6x3: constituído de 6 períodos de tempo (0, 2, 5, 10, 15 e 21 dias) e áreas (I, II, III), resultando em 54 unidades experimentais. Decorrido a fase experimental, foi realizada a extração da espécie investigada, determinada por Espectrometria de Absorção Atômica com Chama (FAAS), e posteriormente feitos os cálculos da taxa de remoção e capacidade de biossorção. As médias observadas foram submetidas à análise de variância em fatorial. Os dados foram analisados pelo Programa SISVAR®, utilizando-se o teste de t de student a 5% de probabilidade (LSD) para comparação de médias obtidas. Dentre as áreas investigadas, as áreas 1 e 2 obtiveram a maior diminuição das concentrações de cádmio pela bactéria *Pseudomonas fluorescens*, quando comparadas à área 3 durante o período de 21 dias. A área 1 obteve uma taxa de remoção máxima de 61,3% de cádmio com um tempo de equilíbrio de 21 dias. Na área 2 a taxa de remoção foi de 65,52% com 15 dias e a área 3 teve a menor taxa de remoção com um valor máximo de 27,42% de remoção aos 21 dias. A espécie da bactéria utilizada no estudo *P. fluorescens* possui potencial biorremediador para o cádmio, e pode ser utilizada em técnicas de processos de biorremediação, levando em consideração que quanto maior o tempo de exposição ao metal, maior a capacidade de biossorção do poluente.

**Palavras-chave:** Solo, biorremediação, biossorção, cádmio, *Pseudomonas fluorescens*.

## ABSTRACT

Bioremediation consists of using the metabolism of live microorganisms or their components to eliminate or reduce, to acceptable levels, pollutants present in the environment. This process has been intensively researched and recommended by the scientific community as a viable alternative for the treatment of contaminated environments, such as surface water, soils and industrial waste. The objective of this work was to evaluate the capacity of cadmium removal and biosorption by Rizobacterias: (*Pseudomonas fluorescens*) isolates in the investigated soil, to evaluate the effect over time on the bioremediation of the studied soils, as well as to encourage socioeconomic development without harming the sustainability of the resources through bioremediation. The work was carried out in the environmental chemistry laboratory of UEMASUL, in a randomized block design (DBC) with three replications and a 6x3 factorial scheme consisting of 6 time periods (0, 2, 5, 10, 15 and 21 days) and areas (1, 2, 3), resulting in 54 experimental units. After the experimental phase, the extraction of the investigated species was carried out, determined by Flame Atomic Absorption Spectrometry (FAAS), after which the removal rate and biosorption capacity were calculated, the observed averages were submitted to factorial analysis of variance. Data were analyzed using the SISVAR® Program, using the Student's t test at 5% probability (LSD) to compare the obtained means. Among the investigated areas, areas 1 and 2 had the greatest decrease in cadmium concentrations by the bacterium *Pseudomonas fluorescens*, when compared to area 3 during the 21-day period. Area 1 achieved a maximum removal rate of 61.3% of cadmium with an equilibrium time of 21 days. In area 2 the removal rate was 65.52% at 15 days and area 3 had the lowest removal rate with a maximum value of 27.42% removal at 21 days. The bacterium species used in the *P. fluorescens* study has bioremediator potential for cadmium, and can be used in bioremediation process techniques, taking into account that the longer the exposure time to the metal, the greater the biosorption capacity of the pollutant.

Keywords: Soil, biorremediation, biosorption, cadmiun, *Pseudomonas fluorescens*.

## 1 INTRODUÇÃO

Os agrotóxicos são produtos utilizados na agricultura para o controle de insetos, microrganismos e plantas daninhas, visando o aumento da produtividade e garantia da produção de alimentos para a humanidade. Contudo, é necessário considerar os riscos desses compostos químicos para o ambiente (ARAÚJO, 2002). Esses produtos têm sido amplamente utilizados na agricultura, no entanto, mesmo com sua vasta aplicação, representam ameaça para a saúde humana e para o meio ambiente. Entre os diversos impactos negativos pode-se citar os riscos à saúde das plantas, a diminuição da diversidade biológica em ecossistemas agrícolas e naturais, além do aumento da resistência de pragas agrícolas (MORAES, 2019).

Os metais cádmio, chumbo, arsênio e cromo mesmo distribuídos no ambiente em concentrações muito baixas, tornam-se contaminantes pela sua grande toxicidade, pois podem acumular no solo e ocasionalmente entrarem na cadeia alimentar humana, o que gera acumulação desses metais no corpo (ZHAO et al., 2021; HOU et al., 2017; ADEDEJI et al., 2020). Dentre os metais mais comumente encontrados em casos de contaminação de solo e que apresentam sérios riscos à saúde humana e ao ambiente destacam-se o cádmio (Cd), chumbo (Pb), cobalto (Co), cobre (Cu), mercúrio (Hg), níquel (Ni) e zinco (Zn).

O poder contaminante desses elementos pode ser caracterizado pelo potencial de caminamento no solo e sua mobilidade pode ser acelerada em condições de campo pelo fluxo na solução do solo (ACHIBA et al., 2009). A contaminação por esses metais decorrentes da ação antropogênica, propicia um teor elevado de toxicidade e o acúmulo desses elementos na camada superficial do solo, comprometendo a microbiota natural responsável pela ciclagem de nutrientes (FRANCO et al, 2004).

Os métodos convencionais para remover os metais tóxicos do ambiente incluem precipitação, floculação e membranas filtrantes. Todavia, são processos que implicam maiores gastos. Assim, novas tecnologias têm sido desenvolvidas objetivando a redução ou a recuperação de ambientes contaminados por metais tóxicos, como por exemplo a biorremediação feita por intermédio de microrganismos, como bactérias (HALTTUNEN et al., 2007). A busca por alternativas que promovem a remediação e descontaminação do ambiente tem se tornado cada vez mais frequente nos últimos anos, objetivando a melhoria dos ecossistemas (GERHARDT et al., 2009).

Uma alternativa para minimizar os transtornos ocasionados pela utilização em larga escala de pesticidas é a biorremediação, que utiliza o metabolismo de microrganismos para eliminação ou redução, a níveis aceitáveis, de poluentes presentes no ambiente (POLÔNIO et

al., 2014). Este processo tem sido intensamente pesquisado e recomendado pela comunidade científica como uma alternativa viável para o tratamento de ambientes contaminados, como águas superficiais, solos e resíduos industriais (GAYLARDE et al., 2005).

As principais vantagens desta técnica, se comparada a outras técnicas de remediação estão associadas à sua eficiência em meios homogêneos e de textura arenosa, o baixo custo, o uso de equipamentos de fácil obtenção, instalação e operação, além de que pode ser combinada com outras técnicas, acelerando o processo de descontaminação (ANDRADE et al., 2010; SILVA et al., 2014).

O mecanismo de biorremediação para metais pesados é baseado em microrganismos ativamente metabolizadores. O sistema metabólico que se tem mostrado mais eficiente para biodegradar contaminantes é o microbiano, uma vez que os microrganismos desempenham a tarefa de reciclar a maior parte das moléculas da biosfera, participando ativamente dos principais ciclos biogeoquímicos e, representando, portanto, o suporte de manutenção da vida na Terra (GAYLARDE et al., 2005).

A degradação de substâncias xenobióticas por microrganismos presentes no solo depende da presença de enzimas que realizam metabolismo para seu crescimento, assim conseguem remediar os compostos químicos, reduzir as concentrações presentes no ambiente ou torná-los menos tóxicos (COLLA et al., 2008).

Existe uma diversidade de microrganismos viáveis a serem aplicados em processos de biorremediação, dentre eles destacam-se as bactérias, em decorrência da sua maior velocidade de crescimento em comparação a de fungos e leveduras, quando em condições favoráveis (OLIVEIRA et al., 2008). Microrganismos isolados de ambientes contaminados com metais apresentam estratégias para sobreviver e combater ao estresse através de diferentes mecanismos como, por exemplo, sistema de proteínas de efluxo, que retiram o excesso de metal das células (ABBAS et al., 2018).

As bactérias têm sido bastante utilizadas neste procedimento, pois adaptam-se e crescem em temperaturas negativas, assim como em calor extremo, no deserto, na água, com excesso de oxigênio e em condições anaeróbicas ou na presença de componentes perigosos. Os principais requisitos são uma fonte de energia e uma fonte de carbono. Devido a adaptabilidade dos microrganismos e outros sistemas biológicos, estes podem ser usados para degradar ou remediar ambientes contaminados (VIDALI, 2001).

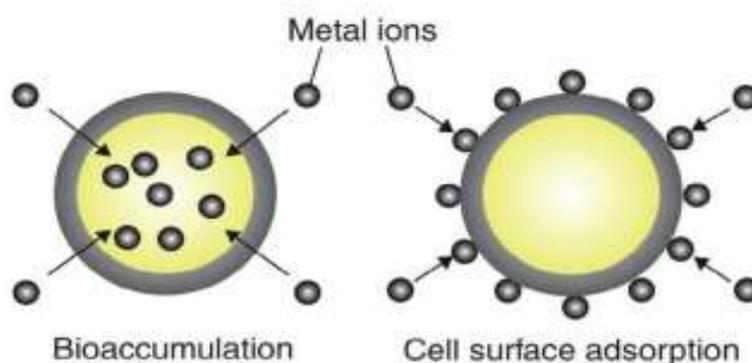
É necessário que as condições do meio sejam as ideais para os processos ocorrerem, pois, as características físico-químicas e nutricionais do meio externo estão estritamente

relacionadas. Se essas características não condizem com as necessidades metabólicas do microrganismo, a biodegradação não ocorrerá. (GAYLARDE et al., 2005)

Os microrganismos como bactérias dos gêneros *Nocardia* e *Pseudomonas* ou fungos filamentosos, como *Aspergillus fumigatus* e *Rhizopus stolonifer* têm sido utilizados na degradação de pesticidas em solos ou efluentes. Logo, estas espécies possuem potencial remediador reconhecido e podem ser adicionadas ao local poluído. (PEREIRA; FREITAS, 2012). As bactérias podem desintoxicar metais pesados de diferentes modos. Muitas bactérias adsorvem metais pesados na sua parede celular ou ligam íons metálicos a proteínas (SINHA, 2009).

A biossorção pode ser definida como a remoção de compostos metálicos de uma solução por meio de um material biológico (biossorvente), que pode ocorrer tanto em biomassa viva com células ativas, quanto biomassa morta. Há diversos mecanismos por meio em que os metais podem ser removidos de uma solução e incorporados à superfície de um biossorvente. Esses mecanismos se devem principalmente à química complexa das superfícies dos diversos biossorventes. Na adsorção ocorre a captura de metais por meio da associação extracelular passiva com a exposição a superfícies de biomassa (CALFA; TOREM, 2007).

Dentre os materiais biossorventes, se destacam a utilização de microrganismos como bactérias (PALLU, 2006). Na literatura, existem alguns trabalhos com utilização de bactérias com alta capacidade de remoção, realizada através da adsorção (ligação fraca entre metal e a face externa da biomassa bacteriana) e incorporação do metal na célula bacteriana (bioacumulação) conforme demonstrado na figura 3.



**Figura 2** - Ilustração dos dois principais mecanismos de remoção de metais pesado, a bioacumulação e a adsorção na superfície celular. Fonte: Yang, Chen e Wang (2015).

Em experimentos de isotermas de bioissorção, a biomassa bacteriana é submetida a soluções com concentrações conhecidas de metais pesados e, após determinado tempo de incubação avalia-se a quantidade de metais que foram removidos da solução, processo que pode ser tanto por adsorção com a utilização de células vivas e mortas, como por bioacumulação (células vivas). A bioissorção é um processo que depende de fatores como concentração do íon e do bioissorvente na solução, tipo de metal e de material bioissorvente, tempo de bioissorção, pH, volume, presença de outras substâncias e outros ligantes, (FERREIRA et al., 2007).

Atualmente há vários estudos de bioissorção que utilizam espectrofotometria de absorção atômica na detecção da quantidade de metal residual na solução (IQBAL, SCHIEWERB; CAMERON, 2009). A quantidade de metal bioissorvido é obtida por meio da diferença entre a concentração de metal contido na solução antes do contato com o bioissorvente e após o contato (PALLU, 2006).

Alguns microrganismos possuem capacidade para serem empregados na conversão de substâncias tóxicas para compostos menos nocivos, como também podem contribuir para auxiliar na remoção dos mesmos de um determinado local, à base de um processo conhecido como biorremediação. Logo, esse mecanismo corresponde à utilização de agentes biológicos que são responsáveis pela transformação ou remoção de resíduos tóxicos responsáveis pela contaminação do ambiente em questão inseridos. As rizobactérias são microrganismos, que atuam como fixadores simbióticos primários de nitrogênio. Essas bactérias podem infectar raízes de plantas leguminosas, formando nódulos onde ocorre a fixação do nitrogênio (AL-MUJAHIBY et al., 2013, CAWENBERGHE et al., 2015).

Por ser um processo que depende da ação de diversas enzimas, a maioria dos microrganismos presentes no solo não conseguem degradar esses xenobióticos, devido a isso, existe a necessidade de se inocular microrganismos isolados e selecionados, que apresentem as características necessárias às condições do ambiente (JACQUES et al., 2007).

O gênero *Pseudomonas* tem sido referenciado de forma ampla como bactérias que apresentam tolerância a concentrações de metais pesados (MORAGA et al., 2003; ECHAVEZ, LEAL, 2018). As *Pseudomonas*, *Klebsiella*, *Bacillus*, e *Enterobacter*, são um dos principais gêneros bacterianos que tem sido apontados com capacidade de resistência e bioacumulação de Cd (KAMRAN et al., 2015; AHMAD et al., 2016; ABBAS et al., 2014).

A espécie *Pseudomonas fluorescens* tem mostrado a capacidade de degradar compostos xenobióticos além de mobilizar de íons metálicos, em decorrência de sua diversidade metabólica e capacidade de se adaptar a diversos ambientes, tornando-a um

potencial agente biorremediador além de possuir tolerância à concentrações de metais pesados, como o Pb, Cu e Zn (ECHAVEZ; LEAL, 2018). Esses microrganismos podem atuar diretamente sobre os resíduos, assim, utilizando-os como fonte de alimento e para seu metabolismo, além de produzirem enzimas e metabólitos secundários, que degradam estes compostos residuais. (TRÖGL et al., 2012).

Os métodos convencionais para remover os metais tóxicos do ambiente incluem precipitação, floculação e membranas filtrantes. Todavia, são processos que implicam maiores gastos. Sendo assim, surgiram novas tecnologias que têm sido desenvolvidas objetivando a redução ou a recuperação de ambientes contaminados por metais tóxicos, como por exemplo a biorremediação feita por intermédio de microrganismos, como bactérias. Nesse processo inclui a degradação do poluente por reações bioquímicas (HALTTUNEN et al., 2007).

As bactérias têm habilidade de fazer ligações com metais e são capazes não somente de tolerar concentrações de metais, mas também a desintoxicação de ambientes contaminados. Em elevadas concentrações de metais tóxicos, a propriedade de crescimento bacteriano pode se mostrar uma alternativa para tratamento desses poluentes no meio ambiente (BRAVO, 2018). A procura por novas tecnologias economicamente viáveis para a remoção de metais tóxicos do ambiente direciona-se para processos de biorremediação por microrganismos, devido ao grande potencial como agentes de bioissorção, imobilização e transformação dos metais (GAUTAM et al., 2016).

O presente estudo teve como objetivo avaliar a capacidade de remoção de cádmio por isolados de rizobactérias: *Pseudomonas fluorescens* no solo investigado e capacidade de bioissorção, bem como avaliar o efeito no tempo na biorremediação dos solos estudados, incentivar o desenvolvimento socioeconômico sem prejudicar a sustentabilidade dos recursos naturais através da biorremediação. As hipóteses testadas para este capítulo foram: 1) Bactérias *Pseudomonas fluorescens* são eficientes no processo de remediação de solos contaminados por cádmio; 2) Solos atualmente cultivados e solos anteriormente cultivados, porém, não estão mais em uso, respondem de maneira diferente à ação das bactérias no processo de biorremediação.

## 2 METODOLOGIA

### 2.1 Delineamento experimental

Para o experimento, foi utilizado o delineamento em blocos casualizados (DBC) em fatorial 6x3, constituído de 6 períodos de tempo (0, 2, 5, 10, 15 e 21 dias) e 3 áreas (área 1= atualmente cultivada, área 2= dois anos sem cultivo, e área 3= quatro anos sem cultivo), localizadas no município de Senador La Rocque- MA, em uma área de horticultura (Figura 1) que possuem as seguintes coordenadas: área 1, Latitude S 5°26'46,6836", Longitude: W 47°16'14,44692", área 2, Latitude S 5°26'50,07732", Longitude W 47°16'16,14432", e área 3, Longitude: S 5°26'48,67908 W 47°16'20,21952. Com 3 repetições, resultando em 54 unidades amostrais.

### 2.2 Processo de Ativação das Bactérias

Os microrganismos a serem adicionados ao solo da horticultura contaminado com metais potencialmente tóxicos são os isolados de rizobactérias: *P. fluorescens* pertencentes à coleção de microrganismos multifuncionais da Micoteca Gilson Soares da Silva da Universidade Estadual do Maranhão.

As bactérias foram cultivadas em meio Kado 523 (KADO; HESKETT, 1970), com 10g de sacarose, 8g de caseína ácida hidrolisada, 4g de extrato de levedura, 2g de  $K_2HPO_4$ , 0,3 g de  $MgSO_4$ , 15 gramas de ágar, e 1000 mL de água destilada, e mantidas em câmaras tipo B.O.D para crescimento por 48h, a aproximadamente 28°, e fotoperíodo de 12 horas, em seguida, foram preparadas suspensões bacterianas do isolado, e as concentrações ajustadas para  $10^8$  UFC mL<sup>-1</sup>, em espectrofotômetro com comprimento de onda de 540nm e absorvância de 0.5.

### 2.3 Experimento de Biorremediação

Para avaliação do potencial de biodegradação das bactérias foi implantado um experimento onde foram pesadas 3 amostras com 100g de solo (área 1, área 2, área 3), em recipiente de vidro, em seguida o solo foi autoclavado, para garantir sua total esterilização. Em cada amostra do solo autoclavado foram adicionados 10 mL da solução da bactéria. Para controle do experimento foi utilizada mais uma amostra com 100 g de solo natural.

Todos os ensaios foram realizados em escala de bancada. Com o intuito de avaliar as concentrações e o potencial de biodegradação dos metais no decorrer do experimento, no qual

foram realizadas seis coletas para avaliação das concentrações de metais, no tempo zero, após o período de 2, 5, 10, 15 e 21 dias.

## 2.4 Extração de metais no solo

Após o tempo previsto para cada condição ensaiada, foram pesadas 10 gramas de solo, de cada área, e realizada lavagens com 40 mL de solução tampão fosfato de sódio (8 mM de  $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$ ; 1,9 mM de  $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ ; 8 gramas de NaCl; pH 7,3), por duas vezes e filtradas em papel filtro quantitativo (Whatman 44), de modo a separar a biomassa, conforme Moreira et al. (1993) e Pot et al. (1993). Após a filtração, a biomassa foi seca ao ar por 24 horas, descompactada e colocada em frascos de plástico, após foram refrigeradas para posterior determinação da espécie metálica investigada.

Para a extração do metal, utilizou-se o método Mellich<sup>-1</sup> ( $\text{HCL } 0,05 \text{ mol L}^{-1} + \text{H}_2\text{SO}_4 0,0125 \text{ L}^{-1}$ ) (Mehlich, 1953). Foram pesadas 3 g de biomassa bacteriana em erlenmeyer de 250 mL, e adicionadas 30 mL dessa solução, mistura foi posteriormente agitada por 5 minutos a 220 rpm em agitador mecânico orbital. As análises foram feitas em triplicata.

## 2.5 Determinação dos Metais Potencialmente Tóxicos ( $\text{Cd}^{2+}$ )

As determinações das concentrações do metal foram feitas por espectrometria de absorção atômica em chama (FAAS), com corretor de fundo com lâmpada de deutério. Foram utilizadas soluções padrão para a calibração do instrumento, as mesmas foram preparadas com base em alíquotas de solução estoque de  $1000 \text{ mg L}^{-1}$ . A partir desta determinação, foram calculados a taxa de remoção de metal do meio de cultura ( $\text{mg L}^{-1}$ ) e o teor do metal na biomassa ( $\text{mg g}^{-1}$ ).

A biomassa retida na membrana foi quantificada pela técnica de peso seco. Com os dados obtidos, pode-se calcular o valor de “q”, ou seja, a quantidade de metal adsorvido por grama de biomassa, através da equação 1 (MOREIRA, 2007; CALFA; TOREM, 2004). Assim, foi possível comparar a remoção do metal em relação ao percentual e a remoção em mg/g.

$$q = (C_i - C_f)$$

Onde: q – Quantidade de metal adsorvido por grama de biomassa (mg/g);

$C_i$  – Concentração inicial de metal (mg/L);

$C_f$  – Concentração final de metal (mg/L);

A taxa de remoção foi obtida pelo cálculo da equação abaixo:

$$\%E = \left[ \frac{C_i - C_f}{C_i} \right] * 100$$

$C_i$ : concentração inicial de íons metálicos

$C_f$ : concentração final de íons metálicos

## **2.6 Destino do material contaminado**

O material contaminado foi estocado em um recipiente de vidro com tampa e submetido à autoclave por 18 minutos, para sua devida esterilização. Em seguida o recipiente foi encaminhado para um descarte apropriado.

## **2.7 Análise Estatística**

A relação entre as áreas e tempo, bem como os valores taxa de remoção e capacidade de bioadsorção de cádmio foram submetidos à análise de variância em fatorial. Os dados foram analisados pelo Programa SISVAR® (FERREIRA, 2019), utilizando-se o teste de  $t$  de student (LSD) para comparação de médias obtidas.

### 3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

A bioacumulação foi estudada pela avaliação da taxa de remoção do íon  $\text{Cd}^{2+}$  e da capacidade de bioissorção deste íon metálico pelas células de *Pseudomonas fluorescens*. Nos experimentos realizados, foram testados os efeitos dos fatores: dias (tempo de residência da *Pseudomonas fluorescens*), áreas (contaminadas com cádmio) e sua interação sobre a taxa de remoção apresentados na tabela 3.

Todos os fatores individualmente (Tabela 3) tiveram efeito significativo sobre a taxa de remoção de cádmio (Prob.>F=0,0000) para áreas e (Prob.>F=0,0031) para os dias. A interação Dias\*Áreas não foi significativo ao nível de 5% de probabilidade de erro.

**Tabela 3** - Análise de variância para médias da taxa de remoção de  $\text{Cd}^{2+}$  por *Pseudomonas fluorescens* em diferentes dias.

Fontes de Variação	GL	QM	Prob. >F
Bloco	2	0,0181	0,0369
Áreas	2	0,5920	0,0000
Dias	5	0,2220	0,0031
Dias*Área	10	0,0105	0,0516
Resíduo	34	0,0049	
Total	53		
Média Geral: 0,4441		CV (%): 15,90	

A avaliação da bioissorção de  $\text{Cd}^{2+}$  pelos isolados *Pseudomonas fluorescens* foram feitas após 0, 2, 5, 10, 15, 21 dias de contato com solo contendo  $\text{Cd}^{2+}$ . As concentrações de  $\text{Cd}^{2+}$  na solução foram determinadas por espectroscopia de absorção atômica com chama e os resultados obtidos foram comparados com a concentração inicial, para cálculo da taxa de remoção e da capacidade de bioissorção de  $\text{Cd}^{2+}$  da estirpe estudada.

Foram testados os efeitos dos fatores: Dias (tempo de residência da *Pseudomonas fluorescens*), áreas (contaminadas com cádmio) e sua interação sobre a bioissorção de cádmio. Todos os fatores individualmente (Tabela 4) tiveram efeito significativo sobre a bioissorção (Prob. >F=0,0000) para áreas e (Prob. >F=0,0207) para os dias. A interação Dias\*Áreas não foi significativo ao nível de 5% de probabilidade de erro.

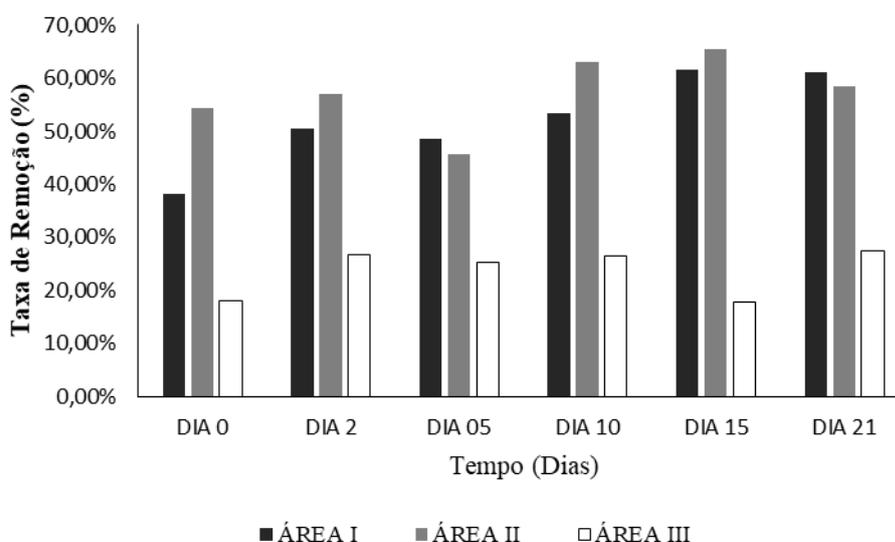
**Tabela 4** - Análise de variância para médias de bioissorção de cádmio ( $\text{mg g}^{-1}$ ) por *Pseudomonas fluorescens* em diferentes dias.

Fontes de Variação	GL	QM	Prob. >F
Bloco	2	0,5220	0,0003
Áreas	2	3,4130	0,0000
Dias	5	0,1517	0,0207
Dias*Área	10	0,0756	0,1668
Resíduo	34	0,0489	
Total	53		
Média Geral: 1,1477		CV (%): 19,28	

Utilizando-se da biomassa *Pseudomonas fluorescens*, obteve-se uma taxa de remoção máxima de 61,3% de cádmio na área I com um tempo de equilíbrio de 21 dias. Na área II a taxa de remoção (R%) foi de 65,52% com 15 dias e a área III teve a menor taxa de remoção com um valor máximo de  $R\% = 27,42\%$  de remoção aos 21 dias. Pelos resultados obtidos, verifica-se que a *P. fluorescens* possui um comportamento de adsorção lenta.

Souza et al. (2008), em estudo comparativo concluíram que a biomassa de *S. subterranea* SPC 1431 foi inferior a esse trabalho quando comparado a área I em relação à bioissorção de cádmio ( $q = 6,75 \text{ mg g}^{-1}$ ;  $R\% = 42,26$ ).

Segundo Alhasawi et al. (2015), a espécie *P. fluorescens* possui habilidade de sobreviver em ambientes compostos por diversos metais, exibindo mudança metabólica que garante a sobrevivência e o sequestro de metais. Em termos de percentagem de remoção verifica-se que esta aumenta à medida que o tempo aumenta (Figura 3).



**Figura 3** - Taxa de remoção (R%) de Cd<sup>2+</sup> por células vivas de *Pseudomonas fluorescens*, nos tempos 0, 2, 5, 10, 15 e 21 dias.

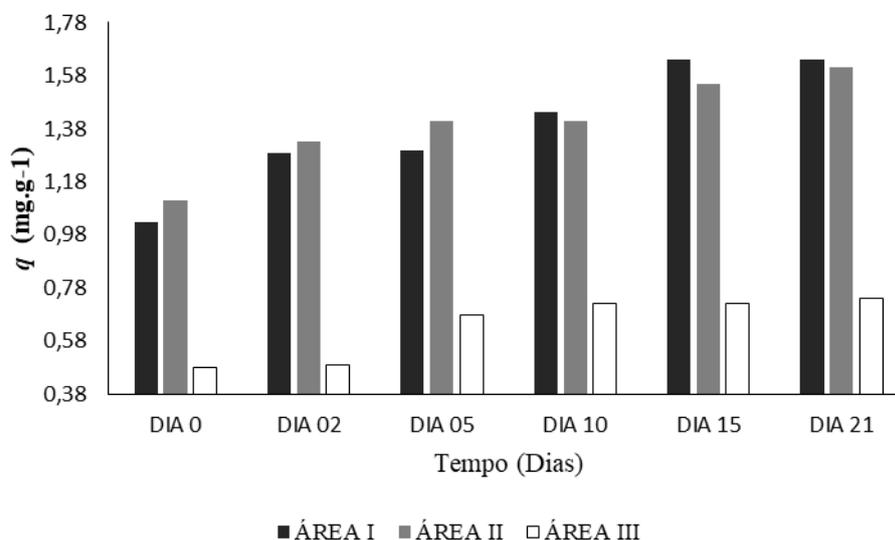
Na Figura 4 estão representadas a influência do tempo de contato na bioadsorção de íons Cd<sup>2+</sup> pela biomassa da *Pseudomonas fluorescens* em relação à capacidade e eficiência de bioadsorção. Os valores de  $q$ , isto é, massa (mg) de metal removido por massa (g) de microorganismos, foram plotados na figura 7. Os resultados demonstraram que a melhor capacidade de bioadsorção, aproximadamente de 1,65 mg g<sup>-1</sup> foi encontrada no tempo de contato de 21 dias.

Pallu (2006), em trabalho realizado com biomassa micelial (viva e morta) de *Aspergillus* sp. para a remoção de cádmio, demonstrou que as funções fisiológicas da biomassa não interferem de modo significativo no processo de bioadsorção. O autor sugere que o fenômeno estaria mais associado a mecanismos abrangendo a parede celular (adsorção) do que à transporte ativo envolvendo a membrana ou o metabolismo da célula.

Em relação ao tempo de residência, os melhores resultados foram na área I em 21 dias ( $\geq 200\%$  de bioadsorção) a mais que a área III no tempo zero. Estes resultados indicam que 24 h é pouco para bioadsorção de cádmio pelo emprego de *P. fluorescens*. Se por um lado, o tempo é um dos parâmetros de maior significância na bioadsorção de metais, por outro, dependendo da concentração do metal e do bioadsorvente, pode interferir negativamente no fenômeno por causar a saturação da biomassa.

O cádmio muitas vezes também pode causar danos irreversíveis às células bacterianas, pois se liga a proteínas respiratórias produzindo oxigênio reativo, podendo assim reduzir a taxa de crescimento, diminuir a densidade celular e, até mesmo, levar a morte (LEE et al.,

2001). Provavelmente, uma bioadsorção mais eficiente desse metal pela bactéria, pode ter sido comprometida por esta razão.



**Figura 4** - Comportamento da bioadsorção na remoção de  $\text{Cd}^{2+}$  por células vivas de *Pseudomonas fluorescens*, nos tempos 0, 2, 5, 10, 15 e 21 dias. (Valor de  $q$ : mg do metal por g de biomassa).

O tempo de contato é uma variável muito importante no método de bioadsorção, pois, a cinética de bioadsorção fornece dados sobre as taxas em que os adsorvatos são bioadsorvidos pelos bioadsorventes (DADVAR et al., 2013). Os dados da Tabela 5 apontam que no tempo de contato inicial de (0 dias) a capacidade bioadsorptiva foi baixa, porém, com o aumento para (2 dias) de contato a capacidade de bioadsorção aumentou aproximadamente  $0,26 \text{ mg g}^{-1}$ ,  $0,11 \text{ mg g}^{-1}$ ,  $0,23 \text{ mg g}^{-1}$  nas áreas I, II, III, respectivamente.

Dados divergentes do estudo de Módenes e colaboradores, (2013) que pesquisaram a remoção de íons  $\text{Cd}$  (II),  $\text{Cu}$  (II) e  $\text{Zn}$  (II) em biomassa de macrófita *Eicchornia crassipes*. O estudo cinético apontou que com 15 minutos de contato ocorreu sorção de 50% da espécie metálica e em 45 minutos de contato foi atingido o equilíbrio de sorção para o íon  $\text{Cd}$  (II), 1 hora para o íon  $\text{Cu}$  (II) e duas horas para o  $\text{Zn}$  (II) nas concentrações metálicas de  $4 \text{ mEq L}^{-1}$ .

As células vivas do isolado de *P. fluorescens* quanto à capacidade de bioacumular íons  $\text{Cd}^{2+}$  foram melhores na área I nos dias 15 e 21 de residência, onde removeram, respectivamente,  $1,64$  e  $1,64 \text{ mg g}^{-1}$  de cádmio (Tabela 5). Quanto maior o tempo em que as células estiveram em contato com o solo com  $\text{Cd}^{2+}$  maior foi a capacidade de bioacumulação. Relatos de bioadsorção de cádmio por biomassas bacterianas são escassos. Porém, Volesky &

Holan (1995) informaram que *Bacillus subtilis* e *B. licheniformis* removeram respectivamente, 44 e 38 mg g<sup>-1</sup> de manganês.

Ma et al., (2015), avaliaram a biossorção de íons Cd (II) e Pb (II) por *Saccharomyces cerevisiae* funcionalizada através de CaCO<sub>3</sub> e evidenciaram que a partir do tempo de contato de 2 horas a biomassa de levedura atingiu o equilíbrio de biossorção para as espécies metálicas estudadas. Takenaka et al., (2007) utilizaram *Pseudomonas fluorescens* como biossorvente, e obtiveram remoção de 100% em amerício-241, um isótopo radioativo. Luk'yanova et al., (2008), observaram que o gênero pseudomonas apresentaram capacidade de biossorção de 77% de plutônio (Pu), 92% de netúnio (Np), 76% de urânio (U), em sorção de radionuclídeos.

**Tabela 5** - Médias de biossorção de cádmio (mg. g<sup>-1</sup>) por por *Pseudomonas fluorescens* – interação entre o tempo de residência e as áreas.

Áreas	Médias*	5%
<b>Tempo (Dias)</b>		
Área I	1,03	ab
Área II	1,33	ab
Área III	0,49	b
<b>Zero dias</b>		
Área I	1,29	ab
Área II	1,41	ab
Área III	0,72	b
<b>Dois dias</b>		
Área I	1,30	ab
Área II	1,11	ab
Área III	0,68	b
<b>Cinco dias</b>		
Área I	1,43	a
Área II	1,55	a
Área III	0,72	b
<b>Dez dias</b>		
Área I	1,64	a
Área II	1,61	a
Área III	0,48	b
<b>Quinze dias</b>		
Área I	1,64	a
Área II	1,41	ab
Área III	0,74	b
<b>Vinte e um dias</b>		

\* Médias seguidas por letras distintas diferem entre si ao nível de significância (5%) indicado pelo teste t de student (LSD).

Observando-se os valores encontrados para cada parâmetro pode-se afirmar que na área I e II nos dias 10 e 15 apresentaram uma maior capacidade de bioabsorção, captação de metais. Quanto ao R%, houve diferença significativa entre as áreas I e III, sendo que os índices mais elevados expressos pela biomassa de *P. fluorescens* foram (65,52%) na área II com 15 dias, e (63,07%) com 10 dias. É importante observar que para a área III as porcentagens de remoção não diferem pelo teste t de student (Tabela 6).

Holan & Volesky (1995), notaram que, sob diferentes condições experimentais, a capacidade de bioabsorção de cádmio por biomassa de *Penicillium chrysogenum* variou de 8 a 44 mg g<sup>-1</sup>. A biomassa de *S. cerevisiae* removeu até 4,19 mg/g de cádmio de uma solução com 200 µM L<sup>-1</sup> (22,48 mg L<sup>-1</sup>) (WILHELM; DUNCAN, 1995).

**Tabela 6** - Taxa de remoção (R%) por *Pseudomonas fluorescens* – interação entre o tempo de residência e as áreas.

Áreas	Médias*	5%
<b>Tempo (Dias)</b>		
Área I	38,19	ab
Área II	54,34	ab
Área III	18,07	c
<b>Zero dias</b>		
Área I	50,57	ab
Área II	57,03	ab
Área III	26,78	c
<b>Dois dias</b>		
Área I	48,64	ab
Área II	45,70	b
Área III	25,34	c
<b>Cinco dias</b>		
Área I	53,37	a
Área II	63,07	a
Área III	26,50	c
<b>Dez dias</b>		
Área I	61,48	a
Área II	65,52	a
Área III	17,92	c
<b>Quinze dias</b>		
Área I	61,03	a
Área II	58,42	ab
Área III	27,42	c
<b>Vinte e um dias</b>		

\* Médias seguidas por letras distintas diferem entre si ao nível de significância (5%) indicado pelo teste t de student (LSD).

As realizações de experimentos com meio de cultura com a adição de metais pesados têm sido desempenhadas objetivando estudar o potencial de remoção de cádmio pesados por

bactérias, concomitante a seu cultivo. Em meio de cultura suplementado com  $400 \text{ mg L}^{-1}$  de cádmio, a estirpe de *Enterobacter cloacae* B1 removeu 64,17% do metal citado (BANERJEE et al., 2015).

Nos trabalhos de Chen et al. (2016), foi observado que cerca de 70% do cádmio removido do meio de cultura pela estirpe *Enterobacter* sp. EG16 estaria acumulado intracelularmente. Naz et al. (2016), empregaram o uso de diversas estirpes, e alcançaram melhor eficiência na remoção de metais com a estirpe de *Pseudomonas* sp., onde foi possível observar a remoção de 37% de chumbo, 32% de níquel, 29% de cobre e 32% de cromo presente em efluente.

#### 4 CONCLUSÃO

Foi possível inferir que a bactéria *Pseudomonas fluorescens*, possui potencial biorremediador para o cádmio, e pode ser utilizada em técnicas de processos de biorremediação, pois ao longo do tempo de exposição ao metal, a bactéria diminuiu os índices do mesmo nos solos investigados. O tempo de cultivo nas áreas estudadas influenciou na biofixação do cádmio, evidenciando que a área com maior tempo sem cultivo (4 anos) obteve o menor índice de biofixação comparado às demais áreas.

A capacidade de remoção através de microrganismos pode ser comprometida por depender de vários fatores que estão diretamente relacionados tanto ao agente biorremediador, como do metal em particular. Portanto, para que haja uma resposta mais satisfatória no processo de remediação, é preciso estudar as características e comportamento específicos da espécie metálica no solo, bem como a seleção de microrganismos que melhor atendem à tais características.

## REFERÊNCIAS

- ABBAS, S. Z; RAFATULLAH, M; HOSSAIN, K; ISMAIL, N; TAJARUDIM, H. A; KHALIL, H. A. A review on mechanism and future perspectives of cadmium-resistant bacteria. **International Journal of Environmental Science and Technology**, v. 15, n. 1, p. 243-262, 2018.
- ACHIBA, W. B.; GABTENI, N.; LAKHDAR, A.; LAING, G. D.; VERLOO, M.; GALLALI, N. J. T. Effects of 5year application of municipal solid waste compost on the distribution and mobility of heavy metals in a Tunisian calcareous soil. **Agriculture, Ecosystems & Environment**, v. 130, n. 3-4, p. 156-163, 2009.
- ADEDEJI, O.; OLAYINKA, O.; TOPE-AJAYI, O.; ADEKOYA, A. Assessing spatial distribution, potential ecological and human health risks of soil heavy metals contamination around a trailer park in nigeria. **Scientific African, Elsevier**, V. 10, p. e00650, 2020.
- AHMAD, I; AKHTAR, M. J; ASGHAR, H.N; GHAFUOR, U; SHAHID, M. Differential effects of plant growth-promoting rhizobacteria on maize growth and cadmium uptake. **Journal of Plant Growth Regulation**, v. 35, n. 2, p. 303-315, 2016.
- ALHASAWI A, COSTANZI J, AUGER C, APPANNA ND, APPANNA VD. Metabolic reconfigurations aimed at the detoxification of a multi-metal stress in *Pseudomonas fluorescens*: implications for the bioremediation of metal pollutants. **J Biotechnol.** Apr; 200:38-43, 2015. doi: 10.1016/j.jbiotec.2015.01.029.
- ARAÚJO, A. S. F. Biodegradação, extração e análise de glifosado em dois tipos de solos. Dissertação (Mestrado) – **Escola Superior de Agricultura de Luiz de Queiroz**, Piracicaba, 2002.
- BANERJEE, G. et al. Bioremediation of heavy metals by a novel bacterial strain *Enterobacter cloacae* and its antioxidant enzyme activity, flocculant production, and protein expression in presence of lead, cadmium, and nickel. **Water Air Soil Pollut**, Oxford, v. 226, p. 91-99, Apr. 2015.
- BRAVO, G. B. G. **Resistência aos metais cobre, chumbo, cromo e zinco em bactérias gram-positivas isoladas de ambiente aquático**. Dissertação de Mestrado. Universidade Tecnológica Federal do Paraná. 2018.
- CALFA, B. A.; TOREM, M. L. Uso de biomassas em processo combinado biossorção/flotação para remoção de metais pesados. Relatório de atividades do projeto de iniciação científica, 2004 – 2007. **Pontifícia Universidade Católica do Rio de Janeiro, PUC**, 2007.

CHEN, Y. et al. Survival strategies of the plant-associated bacterium *Enterobacter* sp. Strain EG16 under cadmium stress. **Applied and Environmental Microbiology**, Washington, v. 82, n. 6, p. 1734-1744, Mar. 2016.

COLLA, L. M.; PRIMAZ, A. L.; LIMA, M.; BERTOLIN, T. E.; COSTA, J. A. V. Isolamento e seleção de fungos para biorremediação a partir de solo contaminado com herbicidas triazínicos. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v.32, n.3, p.809-813, maio-junho. 2008.

DADVAR, S. et al. A study on the kinetics of 2-chloroethyl ethyl sulfide adsorption onto nanocomposite activated carbon nanofibers containing metal oxide nanoparticles. **Separation and Purification Technology**, v. 114, p. 24-30, 2013.

ECHAVEZ, F. L. C. LEAL, J. C. M. Comparación de la ecotoxicidad por metales pesados sobre bacterias heterótrofas de dos sitios contrastados del Lago de Maracaibo (Venezuela). **Revista Facultad De Ciencias Básicas**, p. 9-17, 2018.

FERRERIA, D. F. Sisvar: a computer analysis system to fixed effects Split plot type designs. **Revista Brasileira de Biometria**, v. 37, n. 4, p. 529-535, 2019.

FERREIRA, J.; SILVA, F. L. H.; ALSINA, O. L. S.; OLIVEIRA, L. S. C.; CAVALCANTI, E. B.; GOMES, W. C. Equilibrium and kinetic study of pb<sup>2+</sup> biosorption by *Saccharomyces cerevisiae*. **Química Nova**, v. 30, n. 5, p. 1188-1193, 2007.

FRANCO, L. O.; MAIA, R. C. C.; PORTO, A. L. F.; MESSIAS, A. S.; FUKUSHIMA, K.; TAKAKI, G. M. C. Heavy metal biosorption by chitin and chitosan isolated from *Cunninghamella elegans* (IFM 46109). **Brazilian Journal of Microbiology**. v. 35, p. 243-247, 2004.

GAUTAM, P. K.; GAUTAM, R. K.; BANERJEE, S.; CHATTOPADHYAYA, M. C.; PANDEY, J. D. Heavy metals in the environment: fate, transport, toxicity and remediation Technologies. **Nova Science Publishers**, 2016.

GAYLARDE, C. C.; BELLINASSO, M. D. L.; MANFIO, G. P. Biorremediação: Aspectos biológicos e técnicos da biorremediação de xenobióticos. **Biotecnologia Ciência & Desenvolvimento**, n. 34 – janeiro/ junho, 2005.

GERHARDT, K. E HUANG, X. D., GLICK, B. R., & GREENBERG, B. M. Phytoremediation and rhizoremediation of organic soil contaminants: potential and challenges. **Plant science**. v. 176, n. 1, p. 20-30, 2009.

HALTTUNEN, T.; SALMINEN, S.; TAHVONEN, R. Rapid removal of lead and cadmium from water by specific lactic acid bacteria. **International journal of food microbiology**, v. 114, n. 1, p. 30-35, 2007.

HALTTUNEN, T.; SALMINEN, S.; TAHVONEN, R. Rapid removal of lead and cadmium from water by specific lactic acid bacteria. **International journal of food microbiology**, v. 114, n. 1, p. 30-35, 2007.

HOU, D.; O'CONNOR, D.; NATHANAIL, P.; TIAN, L.; M. A, Y. Integrated gis and multivariate statistical analysis for regional scale assessment of heavy metal soil contamination: A critical review. *Environmental Pollution*, **Elsevier**, v. 231, p. 1188–1200, 2017.

JACQUES, J. S.; BENTO, F. M.; ANTONIOLLI, Z. I.; CAMARGO, F. A. O. Biorremediação de solos contaminados com hidrocarbonetos aromáticos policíclicos. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 37, n.4, p.1192-1201, julho-agosto, 2007.

KADO, C. I., HESKETT, M.S. Selective media for isolation of *Agrobacterium*, *Corynebacterium*, *Erwinea*, *Pseudomonas* and *Xanthomonas*. **Pythopathology**, v.60, p.969-976.1970.

KAMRAN, M. A; SYED, J. H; EQANI, SAMAS; MUNIS, M. F. H; CHAUDHARY, H. J. Effect of plant growth-promoting rhizobacteria inoculation on cadmium (Cd) uptake by *Eruca sativa*. **Environmental Science and Pollution Research**, v. 22, n. 12, p. 9275-9283, 2015.

LEE, S-W.; GLICKMANN, E.; COOKSEY, D. A. Chromosomal Locus for Cadmium Resistance in *Pseudomonas putida* Consisting of a Cadmium-Transporting ATPase and a MerR Family Response Regulator. **Applied and Environmental Microbiology**, **Washington**, v. 67, p. 1437–1444, 2001.

LUK'YANOVA, E. A., ZAKHAROVA, E. V., KONSTANTINOVA, L. I., & NAZINA, T. N. Sorption of radionuclides by microorganisms from a deep repository of liquid low-level waste. **Radiochemistry**, v. 50, n. 1, p. 85-90, 2008.

MA, X., CUI, W., YANG, L., YANG, L., CHEN, H., & WANG, K. Efficient biosorption of lead (II) and cadmium (II) ions from aqueous solutions by functionalized cell with intracellular CaCO<sub>3</sub> mineral scaffolds. **Bioresource Technology**, v. 185, p.70–78, 2015.

MARIANO, A. P.; KATAOKA, A. P. A. G.; ANGELIS, D. F. & BONOTTO, D. M. Laboratory study on the bioremediation of diesel oil contaminated soil from a petrol station. **Brazilian Journal of Microbiology**, v. 38, n. 2, p. 346-353, 2007.

MEHLICH, A. Factors affecting adsorption of cations by plant roots. **Soil Science Society of America Journal**, v. 17, n. 3, p. 231-234, 1953.

MÓDENES, A. N., ESPINOZA-QUIÑONES, F. R., LAVARDA, F. L., COLOMBO, A., BORBA, C. E., LEICHTWEIS, W. A., & DÍAZ MORA, N. Remoção dos metais pesados Cd(II), Cu(II) e Zn(II) pelo processo de bioissorção utilizando a macrófita *Eicchornia crassipes*. **R. Esc. Minas**, v. 66 n. 3, p. 355-362, 2013.

MORAES, R. F. **Agrotóxicos no Brasil: padrão de uso, política da regulação e prevenção da captura regulatória**. Texto para discussão, Instituto de Pesquisa Econômica Aplicada. Brasília / Rio de Janeiro – IPEA, 2019.

MORAGA; R, MERINO; C, MONDACA; M. A. Resistencia a metales pesados en bacterias aisladas de la bahía de Iquique. **Investigaciones marinas**, v. 31, n. 1, p. 91-95, 2003.

MOREIRA, A. S. **Bioissorção utilizando alga marinha (*Sargassum* sp) aplicada em meio orgânico**. Tese (Doutorado em Engenharia Química), Universidade Federal do Rio Grande do Norte, Natal, 2007.

MOREIRA, F.M.S.; GILLIS, M.; POT, B.; KERSTERS, K. & FRANCO, A.A. Characterization of rhizobia isolated from different divergence groups of tropical Leguminosae by comparative polyacrylamide gel electrophoresis of their total proteins. **Systematic Applied Microbiology**., v. 16; p. 135-146, 1993.

NAZ, T. et al. Biosorption of heavy metals by *Pseudomonas* species isolated from sugar industry. **Toxicology and Industrial Health**, Princeton, v. 32, n. 9, p. 1619-1627, Sept. 2016.

OLIVEIRA, Sabrina Dias de et al. Emprego de fungos filamentosos na biorremediação de solos contaminados por petróleo: **Estado da arte**. 2008.

PALLU, A. P. S. Bioissorção de cádmio por linhagens de *Aspergillus* sp. 2006, 69f. Dissertação (mestrado em Agronomia: Genética e Melhoramento de Plantas), Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2006.

PEREIRA, A. R. B; FREITAS, D. A. F. Uso de microrganismos para a Biorremediação de ambientes impactados. **Revista Elet. em Gestão, Educação e Tecnologia Ambiental**, v (6), no 6, p. 975 – 1006, 2012.

POLONIO, J. C; POLLI, A. D; BULLA, L. M. C; ROSSETO, P; dos Santos, C. M; RHODEM, S. A. & CONTE, H. (2014). Potencial biorremediador de microrganismos: Levantamento de resíduos industriais e urbanos tratáveis no município de Maringá-PR. **BBR-Biochemistry and Biotechnology Reports**, v. 3, n. 2, p. 31-45, 2014.

POT, B.; HERTEL, C.; LUDWIG, W.; DESCHEEMAER, P.; KERSTERS, K.; SCHLEIFER, K.-H. Identification and classification of *Lactobacillus acidophilus*, *L. gasseri* and *L. johnsonii* strains by SDS-PAGE and rRNA-targeted oligonucleotide probe hybridization. **Journal General Microbiology**. 139, 513 -517, 1993.

SINHA, S; MUKHERJEE, S. K. *Pseudomonas Aeruginosa* *kucd1*, a possible candidate for cadmium bioremediation. **Brazilian Journal of Microbiology**.vol: 40 pp: 655-662, 2009.

TAKENAKA, Y., SAILTO, T., NAGASAKI, S., TANAKA, S., KOZAI, N., & OHNUKI, T. Metal sorption to *Pseudomonas fluorescens*: influence of pH, ionic strength and metal concentrations. **Geomicrobiology Journal**, v. 24, n. 3-4, p. 205-210, 2007.

TORTORA, G. L.; FUNKE, B. R.; CASE, C. L. **Microbiologia** 8° ed.Porto Alegre: Editora Artmed, 772 p. 2005.

TRÖGL, J.; CHAUHAN, A.; RIPP, S.; LAYTON, A. C.; KUNCOVÁ, G.; SAYLER, G. S. *Pseudomonas fluorescens* HK44: Lessons Learned from a Model Whole-Cell Bioreporter with a road Application History. **Sensors**, v. 12, n. 2, p. 1544-1571, 2012.

VIDALI, M. Bioremediation - An overview; IUPAC, **Pure and Applied Chemistry** 73, 1163–1172, 2001.

VOLESKY, B. & HOLAN, Z.R. Biosorption of heavy metals. **Biotechnology Progress** 11: 235-250. 1995.

WILHELMI, B.S. & DUNCAN, J.R. Metal recovery from *Saccharomyces cerevisiae* biosorption columns. **Biotechnology Letters** 17: 1007-1012. 1995.

YANG, T.; CHEN, M. L.; WANG, J. H. Genetic and chemical modification of cells for selective separation and analysis of heavy metals of biological or environmental. *Trends in Analytical Chemistry*, Amsterdam, v. 66, p. 90-102, Mar. 2015.

ZHAO, Q.; BAI, J.; GAO, Y.; ZHANG, G.; LU, Q.; JIA, J. Heavy metal contamination in soils from freshwater wetlands to salt marshes in the yellow river estuary, china. **Science of The Total Environment, Elsevier**, v. 774, p. 145072, 2021.