## AVALIAÇÃO DO POTENCIAL DA EMBAÚBA (Cecropia cf. pachystachya Trécul) PARA RECUPERAÇÃO DE SOLOS CONTAMINADOS COM METAIS PESADOS

# Clarissa Naomi Irie<sup>1</sup>; Vanessa Nessner Kavamura<sup>2</sup>; Elisa Esposito<sup>3</sup>

Estudante do Curso de Ciências Biológicas; clarissa.irie@gmail.com<sup>1</sup>
Mestre em Biotecnologia; van\_nessner@yahoo.com.br<sup>2</sup>
Professora e pesquisadora da Universidade de Mogi das Cruzes; elisa@umc.br<sup>3</sup>

Área de Conhecimento: Biotecnologia Ambiental

**Palavras-chaves:** Fitorremediação, *Cecropia pachystachya*, rizosfera, metais pesados, microrganismos.

## INTRODUÇÃO

Fitorremediação envolve a utilização de sistemas vegetais e sua comunidade microbiana associada à rizosfera, com a finalidade de degradar, seqüestrar ou imobilizar poluentes no solo (SICILIANO & GERMIDA 1999). Os microrganismos rizosféricos são importantes por promover maior resistência às plantas e tolerância a impactos bióticos e abióticos, estresses hídricos e deficiência de nutrientes (TARAFDAR & PRAVEEN 1996). Portanto a rizosfera pode ser um ótimo sítio de degradação de compostos (PIRES et al. 2005). A utilização da técnica da fitorremediação é baseada na seletividade natural que algumas espécies exibem a esses compostos. Por apresentar mecanismos de tolerância, a *Cecropia* cf. *pachystachya* Trécul. foi selecionada para o estudo proposto por ser nativa, comum de área degradada e tolerante ao herbicida atrazina (BICALHO et al., 2007). Portanto o presente trabalho tem como objetivo principal avaliar o potencial de *Cecropia* cf. *pachystachya* Trécul., e sua microbiota rizosférica associada para a descontaminação de solos poluídos por metais pesados.

#### **OBJETIVO**

O objetivo geral do presente estudo foi avaliar o potencial fitorremediador da *Cecropia* cf. *pachystachya* Trécul. (Embaúba) família Cecropiaceae para recuperação de solos contaminados com metais pesados, identificando a microbiota associada à rizosfera da planta através de extrações de DNA genômico. Os objetivos específicos foram realizar a caracterização físico-química do solo da área, avaliando os teores totais e biodisponíveis dos metais pesados. Determinar os teores de metais pesados bioacumulados nas folhas, caule e raiz da planta. Avaliar a retirada dos metais pesados do solo pela planta e relacionar à sua microbiota rizosférica.

#### **METODOLOGIA**

O local de estudo é o Parque Nagib Najar (W46°13'3" S23°31'21"), na cidade de Mogi das Cruzes, SP ao sul da Serra do Itapety e às margens do Rio Tietê. A área tem 484.408 m² e foi utilizado pela COSIM como depósito de restos dos fornos, moinha de carvão, areia de fundição, entre outros resíduos siderúrgicos. Foi realizada a caracterização físico-química do solo segundo metodologia de Van Raij et al. (2001) no qual foram determinados parâmetros de caracterização e fertilidade do solo.

Para a identificação da espécie vegetal foi coletada uma amostra da planta para a confecção da exsicata, na qual foi enviada à especialistas para a determinação da

espécie. Para determinação da bioacumulação dos metais pesados na *Cecropia* cf. *pachystachya* Trécul, as mudas foram plantadas em solo contaminado com diferentes concentrações dos metais pesados: 0, 30, 60 e 100%. Após seis meses de plantio, as plantas foram coletadas, separadas em raíz, caule e folhas e moídas com o auxílio de um almofariz e um pistilo até que a amostra virasse pó. Então foi determinado os metais por espectrofotometria de absorção atômica pelo LAPEQ. Foi calculada a porcentagem de acúmulo de metais para cada parte da planta em relação ao acúmulo total e o índice de translocação (IT) dos metais segundo a fórmula proposta por Abichequer & Bohnen (1998). Para obtenção dos microrganismos, foram retiradas amostras de solo rizosférico de uma espécime de *Cecropia* cf. *pachystachya* Trécul uma área contaminada e de uma área controle, e isolados conforme metodologia descrita por ARAÚJO *et al.* 2002. Os isolados bacterianos foram purificados e armazenados em meio TSB em tubos de 2,0 mL contendo glicerol 60% em freezer -20°C.

Para caracterização das bactérias, foi realizada, a coloração diferencial de Gram mediante observação ao Microscópio Óptico (MO) e observação a olho nu das características morfológicas das colônias. Foi realizada também a prova bioquímica de produção de catalase com  $H_2O_2$  3% com os microrganismos selecionados.

Após obtenção dos isolados, foi realizada a extração de DNA das bactérias selecionadas, seguido de amplificação do gene 16S rDNA, com o uso dos oligonucleotídeos iniciadores R1387 e PO27F. As amostras amplificadas foram purificadas utilizando-se o kit *Ultra Clean – PCR Clean-Up* (MOBIO). O DNA total foi quantificado para seqüenciamento e armazenado a -20°C. As amostras foram enviadas ao setor de Seqüenciamento de DNA da USP. Para identificação dos isolados, as seqüências obtidas foram analisadas via BLAST (*Basic Local Alignment Search Tool*) (www.ncbi.nlm.nih.gov) com o banco de dados do GenBank, comparando a seqüência submetida à base de dados. Então, foram selecionadas as seqüências que apresentaram maior similaridade para posterior análise. Os resultados obtidos foram analisados de forma a tentar correlacionar a microbiota existente na rizosfera da planta e as características físico-químicas do solo. Para isso, os resultados foram submetidos à análise de variância e as médias foram comparadas entre si pelo Teste de Tukey a 5%.

#### RESULTADOS

De Mata Ombrófila Densa, o Parque Municipal Nagib Najar está situado às margens do Rio Tietê, em uma Área de Proteção Ambiental (APA), decretado Zona Especial de Interesse Ambiental. A caracterização espacial desta área resultou na demarcação de 9 pontos estratégicos, nos quais foram coletadas as amostras de solo para estabelecer um perfil de contaminação da área. A análise dos resultados determinou que o ponto 8 apresenta altos índices de contaminação dos metais pesados, identificando a presença de Ca, Mg, Fe, Al, Cu, Zn, Ni, Cd e Mn em concentrações maiores que os estabelecidos pela Cetesb. Apesar dos teores de metais pesados encontrados no solo da Cosim estarem acima dos valores de referência de qualidade da Cetesb, os valores biodisponíveis estão em pequenas concentrações em relação aos valores totais. Após 6 meses de plantio da Cecropia cf. pachystachya Trécul foi avaliado o crescimento da planta frente às diferentes concentrações dos metais pesados. A proporção de 60% de contaminação foi o que apresentou melhor desenvolvimento pela planta, devendo-se ao fato de que alguns metais pesados fazem parte de elementos químicos constituintes do solo considerados macro e micro nutrientes. Aparentemente a proporção de 60% de contaminação possui a quantidade ideal para um satisfatório desenvolvimento da planta, diferente do encontrado para 100% de contaminação. Na figura 1 estão apresentados os índices de bioacumulação dos metais pesados nos órgãos da Cecropia cf. pachystachya Trécul.

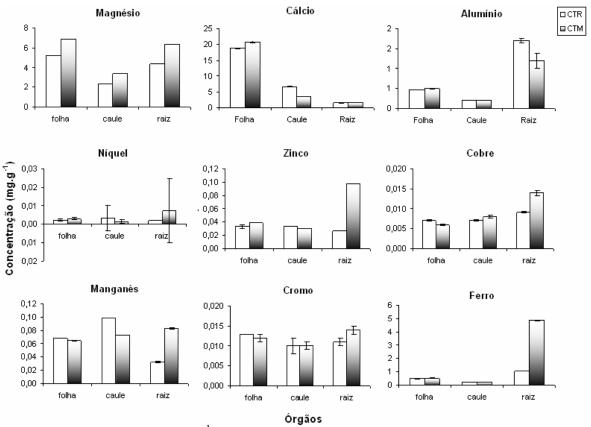


Figura 1: Concentração (mg.g<sup>-1</sup>) de Mg, Ca, Al, Ni, Zn, Cu, Mn, Cr, Fe nos órgãos da Embaúba submetidos em solo controle (CTR) e solo contaminado (CTM).

A maioria dos metais pesados como o Mg, o Ca, o Mn e o Cr bioacumularam-se em maior quantidade nas partes aéreas. Os metais pesados como o zinco, o ferro, o cobre, o manganês, o magnésio, o cromo e o níquel bioacumularam-se em maior quantidade nas raízes da planta. Cecropia cf. pachystachya Trécul translocou os metais como o Ca, Cu, Cr, Mg, Mn em altas concentrações para as partes aéreas, em relação ao Al e ao Fe nos quais não translocaram-se permanecendo principalmente nas raízes da planta. O Ni e o Zn apresentaram altos índices de translocação no teste com o solo controle diferente do apresentado em solo contaminado. A Embaúba bioacumulou quantidade de metais pesados acima dos teores biodisponíveis no solo do Parque Nagib Najar, retirando não só os teores biodisponíveis como também os teores totais, comprovando o potencial fitoextrator da planta. Os microrganismos rizosféricos podem ter influência direta na biodisponibilização dos metais presentes no solo, auxiliando a captação destes pela planta. Foram obtidos os microrganismos isolados da rizosfera da Embaúba do solo contaminado e destes 98% produzem a enzima catalase. Uma mesma proporção foi apresentada no tratamento com solo controle. Sugere-se então que a contaminação não interfira na seletividade dos microganismos produtores da enzima catalase. Foram então selecionadas 14 amostras das bactérias rizosféricas atuantes em áreas contaminadas para extração do DNA. Foram encontradas predominância de bactérias do Filo Firmicutes, Proteobacteria e Actinobacteria, apresentando maior diversidade em relação aos microganismos do solo controle. As principais espécies identificadas da rizosfera do solo contaminado foram Acetobacter pasteurianus, Acinetobacter baumannii, Acinetobacter calcoaceticus, Acinetobacter rhizosphaerae, Averyella dalhousiensis, Enterobacter sp., Mesorhizobium sp., Pantoea agglomerans, Pseudomonas sp., Bacillus

cereus, Bacillus flexus, Bacillus megaterium, Bacillus mycoides, Bacillus pumillus, Bacillus sp., Bacillus subtilis, Bacillus thuringiensis, Bacillus weihenstephanensis, endophyte bacterium, uncultured bacterium. Enquanto no solo controle foram encontradas espécies como Arthrobacter boritolerans, Arthrobacter nicotinovorans, Arthrobacter ramosus, Acinetobacter baumannii, Serratia marcescens, Bacillus cereus, Bacillus flexus, Bacillus megaterium, Bacillus mycoides, Bacillus pumilus, Bacillus sporothermodurans, Bacillus subtilis, Bacillus thuringiensis, Lysinibacillus sphaericus.

#### CONCLUSÃO

Foi estabelecido um perfil de contaminação para área de estudo, sendo o ponto 8 selecionado por apresentar maior grau de contaminação. O solo da área da Cosim apresentou diferentes valores de pH, influenciando na solubilidade, na concentração e na forma iônica dos nutrientes no solo e, consequentemente, na absorção e utilização deles pela planta. Foram identificados metais como o Mg, Ca, Al, Ni, Zn, Cu, Mn, Cr, Fe. A análise da biodisponibilidade determinou que valores totais para os metais não implicam que estes estejam em uma forma biodisponível. Cecropia cf. pachystachya Trécul bioacumulou os metais acima dos teores biodisponíveis no solo, devido possivelmente ao papel dos microrganismos rizosféricos da planta. No geral, Cecropia cf. pachystachya Trécul apresentou um elevado índice de bioacumulação dos metais pesados, sendo acumulado em maior quantidade na raiz da planta em relação à outros órgãos, mostrando um baixo índice de translocação, fator importante para sua utilização em técnicas de fitorremediação. Dos microrganismos isolados da rizosfera de Cecropia cf. pachystachya Trécul. foram encontrados predominância de bactérias do Filo Firmicutes, Proteobacteria e Actinobacteria, apresentando maior diversidade em relação aos isolados do solo controle. A predominância de certas espécies bacterianas podem estar relacionadas à habilidade de detoxificar os contaminantes do solo, além da resistência perante as condições adversas expostas.

### REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ARAÚJO, W.L.; LIMA, A.O.S.; AZEVEDO, J.L.; MARCON, J.; SOBRAL, J.K.; LAKAVA, P.L.; Manual de isolamento de microrganismos endofíticos. Departamento de Genética – Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz" – Piracicaba ESALQ – USP. 2002.

BICALHO, S.T.T; LANGENBACH, T.; RODRIGUES, R.R.; CORREIA, F.V.; SILVA, D.P.; FERREIRA, E.M.; MARTINS, H.L.; Dinâmica da <sup>14</sup>C-Atrazina em *Cecropia hololeuca* Miq. **Revista Brasileira de Biociências**, Porto Alegre, v.5, supl.2, p.678-680, jul.2007.

PIRES, F. R.; SOUZA, C. M.; CECON, P.R.; SANTOS, J.B.; TÓTOLA, M. R.; PROCÓPIO, S. O.; SILVA, A. A.; SILVA, C. S. W.; Inferências sobre a atividade rizosférica de espécies com potencial para fitorremediação do herbicida Tebuthiuron. **Revista Brasileira de Ciências do Solo**, 29:627-634, 2005.

SICILIANO, S. D. & GERMIDA, J. J. Enhanced phytoremediation of chlorobenzoates in rhizosphere soil. **Soil Biology Biochemistry**, 31:299-305, 1999.

TARAFDAR, J. C. & PRAVEEN – KUMAR. The role of vesicular arbuscular fungi on crop, tree and grasses grown in an arid environment. **Journal of Arid Environment** 34:197-203, 1996.