



A INFLUÊNCIA DA TEMPERATURA NA BIORREMOÇÃO DE CR(III) POR UMA BACTÉRIA ISOLADA DA MACRÓFITA *Hymenachne grumosa*

DENIFER ALINE BRAUN BUNDE¹; AMANDA GARCIA DA CUNHA²;
ROBSON ANDREAZZA³; ANDRÉA SOUZA CASTRO⁴; DIULIANA LEANDRO⁵;
SIMONE PIENIZ⁶

¹Universidade Federal de Pelotas – dieniferbbunde@gmail.com

²Universidade Federal de Pelotas – amandagarciadc@gmail.com

³Universidade Federal de Pelotas – robsonandreaazza@yahoo.com.br

⁴Universidade Federal de Pelotas – andreascastro@gmail.com

⁵Universidade Federal de Pelotas – diuliana.leandro@gmail.com

⁶Universidade Federal de Pelotas – nutrisimone@yahoo.com.br

1. INTRODUÇÃO

Os metais pesados são elementos químicos altamente reativos e bioacumulativos que podem desencadear sintomas de toxicidade aguda ou crônica (LINDINO et al., 2008) dependendo da sua concentração e tempo de contato. Zinco e cálcio são apontados como micronutrientes essenciais para a vida humana, já o Cromo (VI) e o Arsênio (III) são potencialmente cancerígenos (CAMPOS, 2001).

O cromo é tóxico em altas concentrações tanto para animais quanto para humanos (AHARCHAOU et al., 2018) e a longo prazo pode causar consequências imprevisíveis devido a sua característica bioacumulativa, persistindo no ambiente e consequentemente sendo absorvido pelos organismos em concentrações que aumentam progressivamente.

Com o advento da revolução industrial e o crescente avanço tecnológico, a contaminação dos recursos hídricos torna-se cada vez mais preocupante por tratar-se de um recurso indispensável para a vida (RODRIGUES et al., 2016), no entanto, este recurso é alvo constante do lançamento de efluentes de inúmeras atividades antrópicas, fato que desperta a busca por métodos eficazes de mitigação de ambientes contaminados.

As macrófitas aquáticas apresentam como característica fácil cultivo e taxa de crescimento elevada, possibilitando a sua aplicação em estratégias de fitorremediação devido ao seu potencial fitoextrator de metais pesados (PIO; SOUZA; SANTANA, 2013), caracterizando-as como plantas hiperacumuladoras por concentrar níveis elevados de metais pesados em sua biomassa.

Por outro lado, a seleção de micro-organismos também é um processo biológico amplamente utilizado, devido a capacidade que muitas bactérias, algas e fungos apresentam de remover íons metálicos do ambiente por diferentes mecanismos (DA SILVA e DE SOUZA, 2017), como a excreção de substâncias que provocam a precipitação dos metais sob uma forma insolúvel (biomineralização); a internalização de íons metálicos por meio de processos de transporte ativo (bioacumulação ou biossorção); e a adsorção passiva dos íons metálicos sobre a superfície celular (adsorção).

O grau de eficiência de remoção de íons metálicos do ambiente depende de diversos fatores externos (PINO, 2011), como pH, temperatura, espécie metálica, faixa de concentração, ausência ou presença de nutrientes e outros metais (ARYAL e LIAKOPOULOU-KYRIAKIDES, 2014; COTORAS et al., 1992).

Tendo isso em vista, é fundamental o desenvolvimento de pesquisas que compreendam os mecanismos de resistência dos micro-organismos biorremediadores, assim como os fatores ambientais que propiciam a eficácia e



otimização do processo, uma vez que estes demonstram-se extremamente importantes na área da tecnologia ambiental, visando a remoção de íons metálicos de ambientes contaminados.

Dessa forma, o presente estudo teve como objetivo avaliar em específico a influência da temperatura na biorremoção de Cromo III (Cr(III)) por uma bactéria isolada da macrófita hiperacumuladora *Hymenachne grumosa*, considerando que esta é uma variável ambiental externa importante, visando estudar o seu potencial de aplicação no processo de biorremediação diante da variabilidade das condições ambientais, como alternativa para recuperação de áreas contaminadas com íons metálicos de cromo.

2. METODOLOGIA

A coleta da macrófita *H. grumosa* foi realizada no canal Santa Bárbara, às margens da Avenida Presidente João Goulart, em Pelotas (RS), na posição geográfica de 31°45'43" de latitude sul e 52°21'00" de longitude oeste.

Após a coleta, foi realizado o corte estéril e lavagem da raiz com água destilada esterilizada, em seguida adicionada à solução salina estéril (NaCl 0,85%), mantendo em agitador magnético por 30 minutos, para o posterior isolamento e purificação dos micro-organismos por meio da adaptação da metodologia de enriquecimento descrita por DE MELO (1999). A partir da solução obtida da raiz, foi realizada a diluição seriada de 10^{-1} a 10^{-5} . Para cada diluição, retiraram-se alíquotas de 100 μL , conteúdo este disposto em placas de Petri em triplicata, devidamente identificadas conforme a diluição, contendo Ágar Nutriente, concentração de 50 mg.L^{-1} de Cr(III) e pH 7. Por fim, as placas de Petri foram incubadas em estufa a 30 °C durante 24 horas.

Após o tempo de incubação, foram selecionadas colônias morfologicamente distintas semeadas em placas de Petri por meio do método de estrias múltiplas para isolamento, em movimentos do tipo zig-zag. O isolado selecionado para o estudo foi identificado de acordo com as iniciais da macrófita (HG) até o momento da identificação molecular da espécie bacteriana em estudos posteriores.

O inóculo foi preparado em tubo de ensaio contendo 10 mL de meio de cultura líquido estéril composto por 13 g.L^{-1} de caldo nutriente suplementado com 50 mg.L^{-1} de Cr(III). Os inóculos foram realizados em duplicata e postos sob incubação por 24 horas à 30 °C.

A densidade óptica (DO) do inóculo foi medida em espectrofotômetro ultravioleta-visível (UV-VIS) sob o comprimento de onda de 600 nm e a contagem de unidades formadoras de colônias (UFC) foi realizada em duplicata por meio de diluição seriada, obtendo $\text{DO}_{600\text{nm}} = 0,204$ e $\text{UFC} = 4,349 \log \text{C/mL}$. Em seguida, o isolado foi testado quanto a variação de temperatura, incubado a 15, 20, 25, 30, 35 e 40°C respectivamente. Após o período de incubação, o inóculo centrifugado por 15 minutos a 5000 x g. Em seguida, o sobrenadante foi coletado e armazenado em frasco estéril, diluído a 10%, para a determinação da biorremoção total de cromo, realizada em Espectroscopia de Absorção Atômica (AA) por chama.

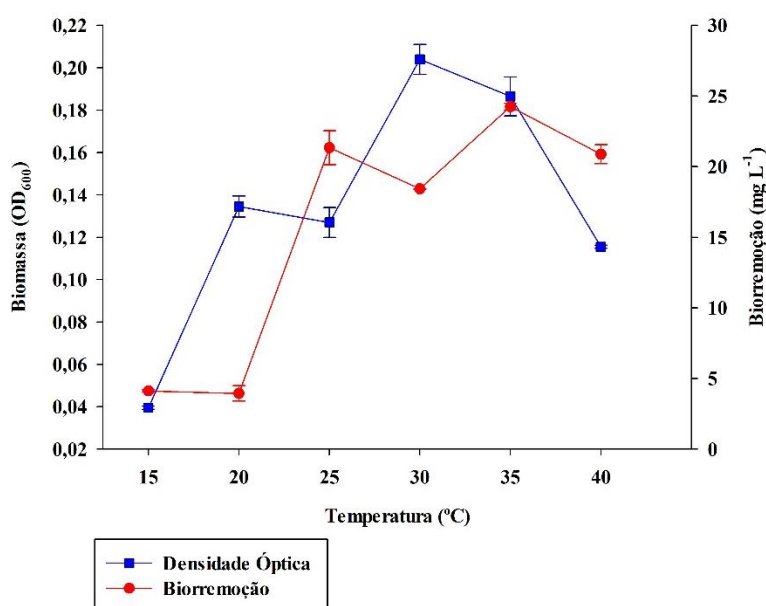
Os resultados foram analisados por meio de estatística descritiva (média, desvio padrão e erro padrão) e mediante o módulo de Análise de Variância (ANOVA) pelo programa Statistica 7, por meio do teste de diferença de médias (Tukey) com nível de significância de 5%.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

De acordo com os resultados demonstrados na Figura 1, o isolado HG obteve condições ótimas de crescimento celular sobre a temperatura de 30 e 35 °C. De fato, mesmo que em menor grau, o isolado se desenvolveu em baixas temperaturas (15, 20 e 25 °C), bem como a 40 °C, apesar do decaimento da DO.

A biorremediação de cromo pelo isolado HG em função da temperatura demonstrou-se satisfatória pela efetividade em todas as temperaturas testadas. Os melhores resultados de remoção ocorreram sob 35, 25, 40 e 30 °C respectivamente, configurando um total de remoção de Cr(III) de 48,5; 42,7; 41,7 e 36,9%, indicando a possibilidade da aplicação do isolado HG sobre um amplo espectro de variação de temperatura.

Figura 1 – Gráfico de crescimento de biomassa e biorremediação de Cr(III) pelo isolado HG em função da variação de temperatura.



Os resultados indicam que o potencial fitorremediador da macrófita *H. grumosa* possivelmente está diretamente associado com os micro-organismos presentes na sua rizosfera, dada a sua capacidade comprovada em remover o metal pesado do meio de cultura. Os micro-organismos presentes na região rizosférica da planta podem melhorar ou aumentar a capacidade de absorção e a biodisponibilidade dos metais pesados presentes no ambiente contaminado em que se encontram (ANDREAZZA et al., 2013).

4. CONCLUSÕES

Diante dos aspectos analisados, percebe-se que o isolado constitui um potencial micro-organismo biorremediador de ambientes contaminados com cromo, dada sua capacidade de adaptação a variação da temperatura. Muitos aspectos sobre as interações entre o metal e a biomassa bacteriana permanecem desconhecidos, portanto, são necessários estudos futuros para identificar a espécie bacteriana e investigar os demais fatores externos que influenciam na eficácia do processo.

Tendo em vista a contaminação atual do Canal Santa Bárbara e de outros corpos hídricos da região, estima-se que a aplicação de micro-organismos

biorremediadores promova a recuperação destes ambientes, com o objetivo de melhorar a qualidade da água, bem como se aproximar das características naturais desse ecossistema, possibilitando o fornecimento de qualidade ambiental para a população.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ANDREAZZA, Robson et al. Biorremediação de áreas contaminadas com cobre. **Revista de Ciências Agrárias**, v. 36, n. 2, p. 127-136, 2013.

AHARCHAOU, I.; PY, J.; CAMBIER, S.; LOIZEAU, J.; CORNELIS, G; ROUSSELLE, P.; BATTAGLIA, E.; VIGNATI, D. Chromium hazard and risk assessment: New insights from a detailed speciation study in a standard test medium. **Environmental toxicology and chemistry**, v. 37, n. 4, p. 983-992, 2018.

ARYAL, M.; LIAKOPOULOU-KYRIAKIDES, M. Bioremoval of heavy metals by bacterial biomass. **Environmental monitoring and assessment**, v. 187, n. 1, p. 4173, 2014.

CAMPOS, V. Comportamento químico de arsênio, fósforo e metais pesados (cromo, cobre, chumbo e mercúrio) em solos expostos a cultivares frutíferos, Município de Jundiaí, São Paulo. 2001. Tese (Doutorado em Recursos Minerais e Hidrogeologia) – Instituto de Geociências, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2001.

COTORAS, D. et al. Sorption of metal ions by whole cells of *Bacillus* and *Micrococcus*. **Environmental technology**, v. 13, n. 6, p. 551-559, 1992.

DA SILVA, C. F.; DE SOUZA, C. B. Protótipo para isolar bactérias biorremediadoras de águas com metais pesados na Baixada Santista. **UNILUS Ensino e Pesquisa**, v. 14, n. 34, p. 44-58, 2017.

DE MELO, I. S. Isolamento de Agentes de biocontrole da rizosfera. In: Melo, I.S., Azevedo, J.L. **Controle Biológico**. Jaguariúna: Embrapa Meio Ambiente, 1999. v.3, 308 p.

LINDINO, C. A.; GONÇALVES JR, A. C.; SCHREINER, G. G. O.; SCHREINER, J. S.; DE FARINA, L. O. Determinação de metais em corantes alimentícios artificiais. *Acta Scientiarum*. **Technology**, v. 30, n. 1, p. 93-98, 2008.

RODRIGUES, A. C. D. et al. Mecanismos de respostas das plantas à poluição por metais pesados: Possibilidade de uso de macrófitas para remediação de ambientes aquáticos contaminados. **Revista Virtual de Química**, v. 8, n. 1, p. 262-276, 2016.

PINO, G. H.; TOREM, M. L. Aspectos fundamentais da bio sorção de metais não ferrosos - estudo de caso. **Tecnologia em Metalurgia, Materiais e Mineração**, São Paulo, v. 8, n. 1, 2011.

PIO, M. C. S.; SOUZA, K. S.; SANTANA, G. P. Capacidade da *Lemna aequinoctialis* para acumular metais pesados de água contaminada. **Acta Amazonica**, v. 43, n. 2, p. 203-210, 2013.