

EFEITO DA CONTAMINAÇÃO DO SOLO COM ÓLEO DIESEL SOBRE PARÂMETROS MICROBIANOS EM MICROCOSMOS

**ISABELA KARINA DELLA FLORA¹, NICOLY WELTER¹, DANIEL JONER
DAROIT^{1*}**

¹Universidade Federal da Fronteira Sul, *Campus Cerro Largo*

*Autor para correspondência: Daniel Joner Daroit (djdaroit@gmail.com)

1 Introdução

O petróleo e seus derivados são misturas complexas de hidrocarbonetos. Atividades que vão desde a exploração até a utilização do petróleo podem resultar em contaminação dos ambientes, fazendo da busca por alternativas de recuperação ambiental um enorme desafio (Jacques et al., 2007).

A microbiota é responsável por funções relacionadas à sustentabilidade dos ecossistemas. Como microrganismos estão em íntimo contato com as partículas do solo e usualmente respondem a perturbações, a avaliação de atividades microbianas pode fornecer informações acerca dos efeitos da contaminação ambiental (Labud et al., 2007).

Microrganismos podem ser capazes de utilizar hidrocarbonetos do petróleo como substratos para seu crescimento. Neste sentido, as principais estratégias de biorremediação utilizam potenciais microbianos para a degradação de contaminantes (Jacques et al., 2007).

2 Objetivo

Avaliar, em microcosmos, efeitos do óleo diesel sobre parâmetros microbianos, bem como isolar bactérias para averiguar sua capacidade de degradar este combustível.

3 Metodologia

Solo foi coletado (0-15 cm de profundidade) em Cerro Largo/RS. Após secagem (temperatura ambiente, 2 dias), o solo foi peneirado (malha de 2 mm) e 500 g foram acondicionados em frascos de vidro (3 L) estéreis com fechamento hermético. A umidade foi ajustada para 60% da capacidade de campo. Óleo diesel, esterilizado por filtração, foi adicionado na proporção de 5% em relação ao solo seco. Microcosmos contaminados (MC) e não contaminados (MS), em quadruplicata, foram incubados por 71 dias em temperatura ambiente, protegidos da luz.

A atividade respiratória foi avaliada pela liberação de C-CO₂. Recipiente com 20 mL de NaOH (0,5 mol L⁻¹) foi montado nos microcosmos para captar CO₂. Os microcosmos foram abertos periodicamente para a substituição dos recipientes de NaOH, com revolvimento do solo para aeração. Aos recipientes retirados foram adicionadas soluções de BaCl₂ (30%) e fenolftaleína (1%), sendo a concentração de NaOH titulada com HCl (0,5 mol L⁻¹). O C-CO₂ liberado (mg C-CO₂ kg solo⁻¹) foi determinado conforme Colla et al. (2014).

Para contagens de bactérias, solo dos microcosmos foi submetido a diluições decimais em salina (0,85 g NaCl L⁻¹) estéril e estas diluições foram inoculadas em placas de Ágar para Contagem. Após incubação (30 °C, 10 dias), colônias foram contadas e os resultados expressos como logaritmo de Unidades Formadoras de Colônia (log₁₀ UFC g solo seco⁻¹).

Ao final dos 71 dias, colônias bacterianas distintas foram isoladas dos MC. A capacidade de degradação de diesel foi avaliada pela inoculação de suspensão bacteriana (O.D._{600nm} ~0,2) em meio mineral contendo diesel estéril (5%) como substrato orgânico e o indicador redox (2,3,5-trifeniltetrazólio cloreto; TTC). O TTC atua como acceptor de elétrons, e sua redução (coloração rósea) indica a utilização do substrato (Cerqueira et al., 2012). As incubações ocorreram a 30 °C por 10 dias, e os resultados expressos qualitativamente (positivo/negativo).

4 Resultados e Discussão

Para investigar o potencial efeito do óleo diesel sobre a microbiota, foram avaliadas a respiração do solo e contagens de bactérias. A microbiota dos solos, majoritariamente heterotrófica, necessita da energia suprida pela oxidação de compostos orgânicos através de processos respiratórios, resultando na liberação de CO₂. Nos MC, a respiração média diária foi sempre mais elevada do que nos MS (Figura 1). Ao final dos 71 dias, a respiração acumulada foi 5,1 vezes maior nos MC em relação aos MS. Esta diferença pode ter resultado da utilização do diesel como fonte de carbono pela microbiota, fornecendo indícios da capacidade de microrganismos do solo em metabolizar este combustível. Porém, efeitos estressantes do diesel também podem resultar em maior atividade respiratória da microbiota na tentativa de ajustar-se à presença do contaminante. Ainda, a microbiota tolerante à contaminação pode ter incrementado sua atividade respiratória devido à utilização de microrganismos mortos pelo diesel como fontes de carbono e energia (Labud et al., 2007).

O número de microrganismos cultiváveis pode indicar impactos da contaminação sobre a população microbiana autóctone do solo. Mesmo considerando que tais contagens amostram pequena parcela da microbiota total dos solos, os resultados indicaram tendência de maior

população bacteriana nos MC (Figura 2). Desta forma, somados à respiração do solo (Figura 1), estes resultados indicam que parte da população bacteriana foi capaz de utilizar o contaminante como substrato (Colla et al., 2014).

Figura 1. Liberação média diária de C-CO₂ em microcosmos contaminados (■) e não contaminados (□) com óleo diesel, durante 71 dias

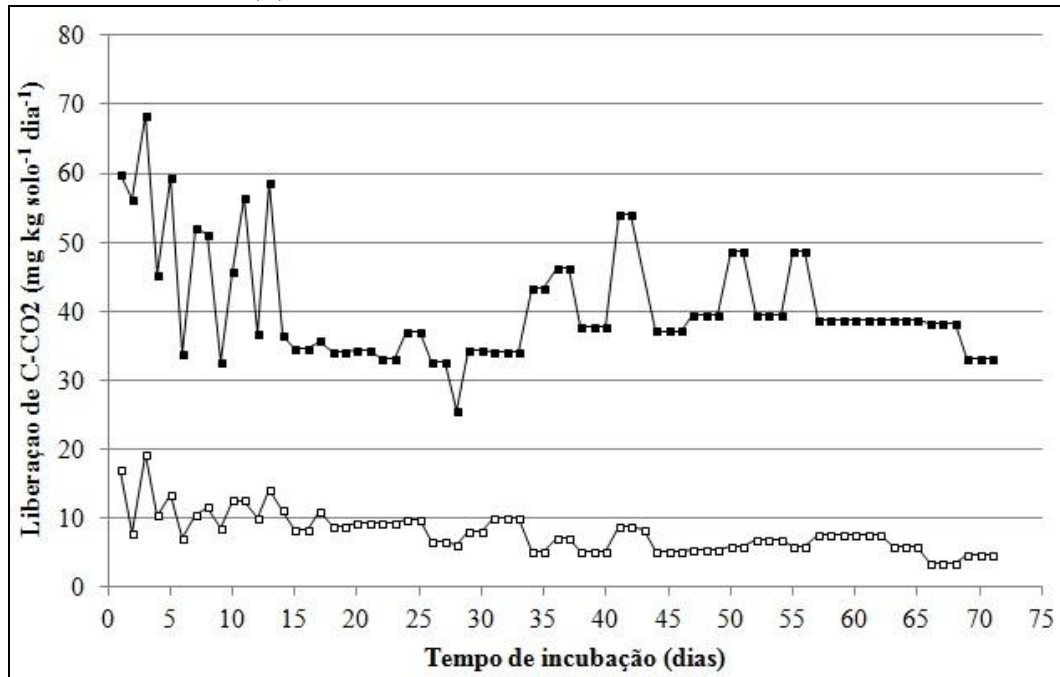
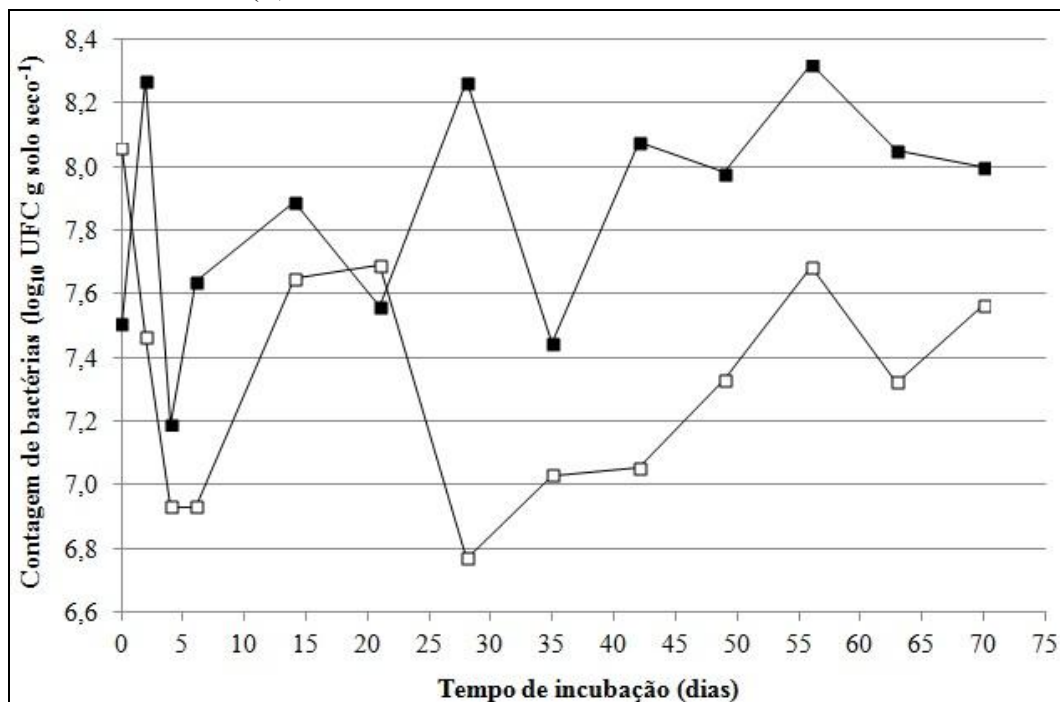


Figura 2. Contagens médias de bactérias em microcosmos contaminados (■) e não contaminados (□) com óleo diesel, durante 71 dias



Após 71 dias de incubação, 19 culturas puras de bactérias foram isoladas dos MC. Cada isolado foi inoculado em meio mineral adicionado de TTC contendo diesel como único substrato orgânico. Das 19 bactérias isoladas, 18 provocaram a redução do indicador TTC. Estes resultados sugerem que as bactérias avaliadas possuem maquinaria enzimática para converter hidrocarbonetos em intermediários de rotas catabólicas (Jacques et al., 2007), ou seja, indicam a capacidade de degradar e utilizar o óleo diesel como fonte de carbonos e energia (Cerqueira et al., 2012).

5 Conclusão

A maior respiração do solo nos microcosmos contaminados, consistentemente observada durante 71 dias, indica a capacidade da microbiota autóctone em catabolizar o óleo diesel. Tal fato foi reforçado pelo isolamento de bactérias que demonstraram potencial para degradação de hidrocarbonetos constituintes deste combustível.

Referências

- CERQUEIRA, V.S., et al. Bioprospection and selection of bacteria isolated from environments contaminated with petrochemical residues for application in bioremediation. **World Journal of Microbiology and Biotechnology**, v. 28, p. 1203-1222, 2012.
- COLLA, T.S., et al. Bioremediation assessment of diesel-biodiesel-contaminated soil using an alternative bioaugmentation strategy. **Environmental Science and Pollution Research**, v. 21, p. 2592-2602, 2014.
- LABUD, V., et al. Effect of hydrocarbon pollution on the microbial properties of a sandy and a clay soil. **Chemosphere**, v. 66, p. 1863-1871, 2007.
- JACQUES, R.J.S., et al. Biorremediação de solos contaminados com hidrocarbonetos aromáticos policíclicos. **Ciência Rural**, v. 37, p. 1192-1201, 2007.

Palavras-chave: microbiota do solo; contaminação ambiental; respiração do solo; bactéria; biodegradação.

Fonte de Financiamento

PROBIC-FAPERGS