

QUANTIFICAÇÃO DE RIZÓBIOS EM ÁREAS DEGRADADAS PELA EXPLORAÇÃO E USO DE PIÇARRA NA CAATINGA

Felipe Ferreira da Silva¹, Thainá Alves dos Santos², Frederico Santos Machado³, Ederson da Conceição Jesus⁴ & Guilherme Montandon Chaer⁴

(¹Universidade Federal do Rio de Janeiro, Avenida São José do Barreto, 764, São José do Barreto, Macacé, RJ, CEP- 27965-045, ¹felipe.ufrrj@hotmail.com; ¹Doutorando em Ciências Ambientais e Conservação – UFRJ, ²Mestra em Ciências Ambientais e Florestais - UFRRJ, Petrobras/CENPES, ⁴Pesquisador Embrapa Agrobiologia)

INTRODUÇÃO

A produção de petróleo em terra firme (*on shore*) é uma das principais atividades econômicas do Estado do Rio Grande do Norte (ANP 2018). Um dos principais impactos ambientais da exploração e produção de petróleo em terra decorre da exploração de piçarra em diversas jazidas de 2 a 10 ha, majoritariamente presentes em regiões do estado sob influência do bioma Caatinga. A piçarra constitui um material de subsolo composto principalmente por silte, areia e cascalho, usado para a terraplanagem de locais de exploração e produção, aterros e construção de estradas de acesso às instalações (Chaer *et al.* 2011).

Ao fim da atividade de mineração, a área deve ser revegetada com espécies vegetais nativas. Da mesma forma, áreas que receberam a piçarra e foram descomissionadas, como bases de poço e centrais de resíduos, devem ser revegetadas. Nessas áreas a intervenção antrópica se faz necessária para a melhoria do ambiente químico, físico e biológico do solo, como também pela seleção e introdução de espécies adaptadas, capazes de restabelecer os processos de sucessão natural (Resende & Chaer 2010; Lima *et al.* 2015).

A associação entre bactérias fixadoras de nitrogênio e leguminosas florestais tem se mostrado como técnica eficiente para promoção de plantas vigorosas em situações onde há restrição de nutrientes ou onde houve remoção dos horizontes superficiais por exploração mineral (Macedo *et al.* 2008, Chaer *et al.* 2011, Lima *et al.* 2015). Contudo, não se conhece o impacto da exploração e uso da piçarra sobre o potencial de inóculo de rizóbios nativos, importantes para a recolonização vegetal das áreas impactadas. Desta forma, o objetivo deste trabalho foi avaliar a densidade de bactérias fixadoras de nitrogênio em áreas de extração e deposição de piçarra, assim como em áreas de vegetação nativa da Caatinga adjacentes a estas.

MATERIAL E MÉTODOS

As áreas de estudo consistiram de quatro locais descomissionados utilizados nas atividades de exploração de petróleo em terra pela Petrobras, sendo duas jazidas de exploração de piçarra (J1 e J2), uma base de poço (BP) e uma central de resíduos (CR). As bases de poço são locais com 3.000 a 4.000 m² terraplanados com piçarra, nas quais são realizadas perfurações de poços e a instalação de estruturas de bombeamento do petróleo. As centrais de resíduos constituem-se de áreas escavadas e impermeabilizadas, reservadas à recepção do cascalho de perfuração (material de subsolo contaminado com óleo e cloreto de bário). No momento em que estão cheias, as cavas recebem uma camada de 2 a 3 m de piçarra, para depois serem revegetadas.

O clima da região é do tipo BSw^h (quente e seco, com período chuvoso de janeiro a maio e seco de junho a dezembro), segundo a classificação de Köppen. A temperatura média anual é de 27,4 °C, com precipitação anual média de 673 mm e clima seco durante 7 a 8 meses (Carmo Filho & Oliveira 1995).

As amostragens foram realizadas nas quatro locais e em áreas adjacentes a estas, contendo vegetação nativa de Caatinga. Em cada local foram obtidas três amostras compostas ao longo de um transecto de 30 m. Dentro de cada transecto foram recolhidas seis amostras simples da camada de 0 a 10 cm de profundidade. As coletas foram efetuadas no período seco (novembro de 2016) e no chuvoso (abril de 2017). Todas as amostras foram peneiradas no local, com a utilização de peneira de malha de 4 mm.

Um ensaio utilizando amostras provenientes do período seco e um com amostras do período chuvoso foram conduzidos em casa de vegetação, com o objetivo da quantificação do número mais provável (NMP) de células viáveis de bactérias fixadoras de nitrogênio (Vincent 1970; Brockwell 1982). Neste trabalho, os gêneros citados de bactérias fixadoras de nitrogênio serão indistintamente denominados “rizóbio”. O método NMP parte da suposição de que, existindo pelo menos uma célula viável de rizóbio, ocorrerá a sua multiplicação no sistema radicular, com formação de nódulos na planta hospedeira (Andrade & Hamakawa 1994).

As unidades experimentais consistiram de garrafas de vidro de 600 mL com tiras de feltro inseridas em solução nutritiva de Norris isenta de nitrogênio. A leguminosa arbórea *Mimosa caesalpinifolia* Benth. (sabiá) foi utilizada como planta-isca, sendo suas sementes pré-germinadas inoculadas com diluições seriadas das amostras das áreas de estudo.

Após 40 dias do processo de inoculação, cada planta foi retirada da garrafa e referida como “positiva”, quando houve presença de um ou mais nódulos, e “negativa”, quando não observou-se nenhum nódulo formado. Além de ser estimado o número de células viáveis por grama de solo/substrato estudado, foram calculados os intervalos de confiança para as estimativas a 95% de probabilidade.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

As amostras de substrato e de solo coletadas no período seco não forneceram rizóbios capazes de nodular a leguminosa-isca, à exceção da jazida de piçarra J2 (J2 P), que apresentou 21 UFC/g de substrato (Tabela 1).

As amostras provenientes do período chuvoso, em geral, forneceram densidades de rizóbio superiores às coletadas no período seco. Na Tabela 1 pode ser observada a nodulação de rizóbios a partir da amostra de rejeito de substrato de piçarra da Central de Resíduos (CR P) e da Base de Poço (BP P), apresentando respectivamente 92 e 42 UFC/g de substrato. Rizóbios também foram detectados na jazida de piçarra J2 (J2 P) para o mesmo período. Em relação às áreas de vegetação nativa, foram obtidos rizóbios somente a partir de amostras provenientes das áreas adjacentes às jazidas de piçarra J1 e J2 (J1 MA, J2 MA), sendo encontradas 27 e 42 UFC/g de solo, respectivamente.

As áreas que apresentaram contagem de rizóbios diferiram significativamente ao nível de 5% de probabilidade em relação às amostras das demais áreas, que não apresentaram contagem. A sobreposição dos intervalos de confiança indica a ausência de significância estatística para esta estimativa.

Tabela 1. Número mais provável (NMP) de células de bactérias por grama de solo em amostras de áreas de exploração e deposição de piçarra e de áreas de mata nativa adjacentes a estas coletadas no período seco e chuvoso e utilizando *Mimosa caesalpinifolia* como planta-isca. (CR = Central de resíduos; BP = Base de Poço; J1 = jazida 1; J2 = jazida 2; P = piçarra; MA = mata nativa adjacente; UFC = unidade formadora de colônias).

Período de coleta	Jazida/MA	NMP (UFC/g solo ou substrato)	Intervalo de confiança (95%)	
			inferior	superior
seco	CR P	0	0	0
	CR MA	0	0	0
	BP P	0	0	0
	BP MA	0	0	0
	J1 P	0	0	0
	J1 MA	0	0	0
	J2 P	21,02	4,50	98,26
	J2 MA	0	0	0
chuvoso	CR P	91,78	19,63	429,02
	CR MA	0	0	0
	BP P	42,39	9,07	198,13
	BP MA	0	0	0
	J1 P	0	0	0
	J1 MA	27,57	5,90	128,87
	J2 P	24,16	5,17	112,95
	J2 MA	42,39	9,07	198,13

Assim como encontrado no presente estudo, Compant *et al.* (2010) concluíram que as condições ambientais podem influenciar o número de bactérias presentes em condições de restrição hídrica, sendo a comunidade afetada em períodos ou regiões mais secas. As contagens de NMP obtidas nas áreas de vegetação nativa adjacentes às jazidas J1 e J2 foram influenciadas pelo período chuvoso, tendo em vista a ausência de rizóbios durante o período seco.

Deve ser salientado que no momento de coleta das amostras na jazida J2 (J2 P), foi observada a presença de solo superficial de outras áreas outrora depositado, podendo esta ser a possível causa dos valores de NMP encontrados para este local nos dois períodos avaliados.

A Central de Resíduos e a Base de Poço constituem-se em áreas de deposição de resíduos, sendo os rizóbios detectados, de origem alóctone, provavelmente responsáveis pelos valores de NMP encontrados. Nas amostras de solo provenientes das áreas de vegetação nativa adjacentes a estas, não foram encontrados rizóbios em ambos os períodos avaliados, denotando a ausência de microrganismos autóctones para estes locais.

Vários fatores podem explicar a ausência de fixação biológica de nitrogênio em leguminosas nodulantes ou a redução de eficiência desta simbiose. Dentre eles, destacam-se as limitações ambientais e a ausência de rizóbios autóctones competitivos e eficientes. Informações acerca das respostas das leguminosas nativas da Caatinga a variações ambientais quanto ao desempenho simbiótico são raras, tornando limitada a compreensão dos diversos fatores que podem interferir neste processo simbiótico (Silva 2015).

CONCLUSÃO

O quantitativo de rizóbios advindos das amostras coletadas nas jazidas de exploração e de deposição de piçarra, bem como nas áreas de vegetação nativa adjacentes a estas, se revelou dependente do sítio investigado.

A intensidade de nodulação da leguminosa arbórea *Mimosa caesalpinifolia* foi influenciada pelo período de coleta das amostras. Deste modo, a escassez hídrica do período levou à redução da população de rizóbios, sendo estes influenciados positivamente com o provimento hídrico.

AGRADECIMENTOS

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior e ao apoio técnico prestado pela Petrobras/CENPES.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Agência Nacional do Petróleo – ANP (31 de março de 2018). Boletim da Produção de Petróleo e Gás Natural. 2018. Disponível: <http://www.anp.gov.br/?dw=74333>. Acessado em: 05 de abril 2018.
- Andrade DS, Hamakawa PJ (1994) Estimativa do número de células de rizóbio no solo e inoculante por infecção em planta. In: Hungria M, Araújo RS, Editores. Manual de métodos empregados em estudos de microbiologia agrícola. Brasília: EMBRAPA-SPI. p.63-92.
- Brockwell J (1982) Plant-Infection Counts of Rhizobia in Soils. In: Vincent JM, Editores. Nitrogen fixation in legumes. New York: Academic Press. p. 41-58.
- Carmo Filho F, Oliveira OF (1995) Mossoró: Um município do semi-árido nordestino, caracterização climática e aspecto florístico. Mossoró: ESAM. 62p.
- Chaer GM, Resende AS, Campello EFC, de Faria SM, Boddey RM (2011) Nitrogen-fixing legume tree species for the reclamation of severely degraded lands in Brazil. *Tree Physiology* 31:139-149.
- Compant S, Van der Heijden MGA, Sessitsch A (2010) Climate change effects on beneficial plant-microorganism interaction. *Microbiology Ecology* 73: 197-214.
- Lima KDR, Chaer GM, Rows JRC, Mendonça V, Resende AS (2015) Seleção de espécies arbóreas para revegetação de áreas degradadas por mineração de piçarra na caatinga. *Revista Caatinga* 28(1): 203 – 213.
- Macedo MO, Resende AS, Garcia PC, Boddey RM, Jantalia CP, Urquiaga S, Campello EFC, Franco AA (2008) Changes in soil C and N stocks and nutrient dynamics 13 years after recovery of degraded land using leguminous nitrogen-fixing tree. *Forest Ecology and Management* 255: 1516-1524.
- Resende AS, Chaer GM (2010) Manual para recuperação de áreas degradadas por extração de piçarra na Caatinga. Seropédica: Embrapa Agrobiologia. 78p.
- Resende AS, Chaer GM, Campello EFC, Silva AP, Lima KDR, Curcio GR (2013) Uso de leguminosas arbóreas na recuperação de áreas degradadas. *Tópicos em Ciências do Solo* 8: 71-92.
- Silva AF (2015) Fixação biológica de nitrogênio em leguminosas nativas de áreas com diferentes tempos de regeneração da Caatinga. Dissertação de Mestrado. Pós-Graduação em Ciências do Solo. Universidade Federal Rural de Pernambuco. Recife.
- Vincent JM (1970) A manual for the practical study of root nodule bacteria. Oxford: Blackwell Scientific Publications. 119p. (IBP Handbook, 15).