

ALINE SNAK

**BIORREMEDIAÇÃO DE SOLO CONTAMINADO POR METAIS
TÓXICOS COM CULTIVO DE *CRAMBE ABYSSINICA* ASSOCIADO A
MICRORGANISMOS**

CASCADEL
PARANÁ – BRASIL
Julho – 2024

ALINE SNAK

**BIORREMEDIAÇÃO DE SOLO CONTAMINADO POR METAIS
TÓXICOS COM CULTIVO DE *CRAMBE ABYSSINICA* ASSOCIADO A
MICRORGANISMOS**

Tese apresentada à Universidade Estadual do Oeste do Paraná, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Engenharia de Energia na Agricultura, para obtenção do título de Doutor.

Orientador: Prof. Dr. Affonso Celso Gonçalves Jr. – Unioeste, Brasil

Coorientador: Prof. Dr. Daniel Schwantes – PUC, Chile.

Coorientador: Prof. Dr. Deonir Secco – Unioeste, Brasil

CASCADEL
PARANÁ – BRASIL
Julho – 2024

Ficha de identificação da obra elaborada através do Formulário de Geração Automática do Sistema de Bibliotecas da Unioeste.

Snak, Aline

BIORREMEDIAÇÃO DE SOLO CONTAMINADO POR METAIS TÓXICOS COM CULTIVO DE CRAMBE ABYSSINICA ASSOCIADO A MICRORGANISMOS / Aline Snak; orientador Affonso Celso Gonçalves Jr. ; coorientador Deonir Secco. -- Cascavel, 2024.
169 p.

Tese (Doutorado Campus de Cascavel) -- Universidade Estadual do Oeste do Paraná, Centro de Ciências Exatas e Tecnológicas, Programa de Pós-Graduação em Engenharia de Energia na Agricultura, 2024.

1. Biorremediação. 2. Fitorremediação. 3. Bactérias promotoras de crescimento vegetal . I. Gonçalves Jr. , Affonso Celso , orient. II. Secco, Deonir, coorient. III. Título.

ALINE SNAK

Biorremediação de solo contaminado por metais tóxicos com cultivo de *Crambe abyssinica* associado a microrganismos

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Engenharia de Energia na Agricultura em cumprimento parcial aos requisitos para obtenção do título de Doutora em Engenharia de Energia na Agricultura, área de concentração Agroenergia, linha de pesquisa Fontes renováveis e racionalização de energia na agroindústria e agricultura, APROVADA pela seguinte banca examinadora:

Documento assinado digitalmente
 AFFONSO CELSO GONCALVES JUNIOR
Data: 24/07/2024 11:18:38-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Orientador - Affonso Celso Gonçalves Junior
Universidade Estadual do Oeste do Paraná - Campus de Cascavel (UNIOESTE)

Documento assinado digitalmente
 FABIANA GISELE DA SILVA PINTO
Data: 18/07/2024 13:11:28-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Fabiana Gisele da Silva Pinto
Universidade Estadual do Oeste do Paraná - Campus de Cascavel (UNIOESTE)

Documento assinado digitalmente
 ANGELICA DE FATIMA BORTOLATO PICCIOLI
Data: 22/07/2024 13:43:06-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Angelica de Fatima Bortolato Piccioli
Universidade Estadual do Oeste do Paraná - Campus de Cascavel (UNIOESTE)

Documento assinado digitalmente
 POLIANA FERREIRA DA COSTA
Data: 16/07/2024 17:42:48-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Poliana Ferreira da Costa
Universidade Federal do Sul e Sudeste do Pará (UNIFESSPA)

ELIO CONRADI
JUNIOR:09319386943

Assinado de forma digital por ELIO
CONRADI JUNIOR:09319386943
Dados: 2024.07.17 09:57:08 -03'00'

Elio Conradi Junior

Documento assinado digitalmente
 ROBIE ALLAN BOMBARDELLI
Data: 17/07/2024 17:57:30-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Robie Allan Bombardelli
Universidade Estadual do Oeste do Paraná - Campus de Toledo (UNIOESTE)

Cascavel, 12 de julho de 2024

*Dedico esta tese à minha querida família:
Agradeço por todo o amor,
apoio e incentivo ao longo desta jornada.
Sem vocês, nada disso seria possível.*

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus por iluminar o meu caminho e pelas pessoas colocadas em minha trajetória, que me inspiram, ajudam e desafiam. Agradeço por todas as experiências, boas e ruins, que me moldaram e me fizeram chegar até aqui. Minha jornada de tropeços, vitórias e derrotas me ensinou o verdadeiro significado da vida. Obrigada por atender às minhas necessidades em vez de minhas vontades.

À minha mãe, Terezinha, e ao meu pai, Delcio, vocês são minha bússola moral e fonte de apoio. Cada desafio que superei, cada conquista que alcancei, é um reflexo do amor e orientação que recebi de vocês. Cada esforço e sacrifício que fizeram moldaram o caminho que trilhei. Vocês são meus maiores exemplos de força e superação, sempre levando o amor acima de tudo, cada um do seu jeito, mas sempre presentes em todos os momentos, principalmente quando mais precisei. Amo vocês!

Aos meus avós, José e Thereza, vocês desempenharam o papel de pais com amor incondicional e sabedoria acumulada ao longo dos anos. Cada dia que me incentivaram sempre ao trabalho e à honestidade ficará gravado para sempre em minhas memórias. Agradeço por cada conselho, cada história compartilhada e cada momento de carinho. Seus ensinamentos são as raízes mais profundas que me sustentam. Amo vocês!

Às minhas irmãs, Alessandra e Cristiane, agradeço por serem minhas cúmplices nessa jornada desde que nasci, pelas risadas compartilhadas e pelos momentos de força nos desafios. Vocês cuidaram de mim como pais e estiveram ao meu lado em cada etapa da vida. Juntas, somos uma equipe invencível, cada uma com suas qualidades e defeitos, temos a razão, a emoção e o centro de tudo. É uma honra ter vocês ao meu lado. Amo vocês!

Ao meu marido, Matheus, obrigada por ser exatamente quem você é. Agradeço a Deus todos os dias por ter colocado você no meu caminho. Obrigada por me amar, por cuidar de mim independentemente de qualquer coisa. Sei que às vezes não é fácil, mas você continua me amando. Sou muito feliz com você ao meu lado; que sorte a minha por ter você em minha vida, sempre me auxiliando em todas as etapas: no TCC como namorado, na dissertação como noivo e agora no doutorado como marido. Nunca esqueça o quanto eu amo você.

Ao Laboratório SBS, pela infraestrutura e pelo ambiente de pesquisa que me proporcionou. Este espaço, criado com tanto esforço e dedicação, foi fundamental

para a realização deste projeto. A todos os colaboradores que auxiliaram e tornaram possível a execução deste estudo, meu sincero agradecimento.

Ao Grupo de Estudos GESOMA, por proporcionar um ambiente intelectual estimulante, repleto de discussões enriquecedoras, ideias inovadoras e apoio constante. A colaboração e amizade de cada membro foram fundamentais para o desenvolvimento deste trabalho.

Aos meus coorientadores, Dr. Deonir e Dr. Daniel, pela orientação precisa, paciência e incentivo em todas as etapas desta pesquisa. Suas contribuições foram essenciais para o amadurecimento das ideias e para a realização deste estudo.

À Professora Fabiana, que ofereceu auxílio inestimável durante todo o processo. Sua generosidade em compartilhar conhecimento, sua disposição para ajudar e seu encorajamento foram de extrema importância para a conclusão deste trabalho.

Ao meu orientador, Dr. Affonso, pela confiança, pelas orientações valiosas e pelo suporte incondicional durante toda a minha trajetória acadêmica. Seu comprometimento e dedicação foram fontes de inspiração e motivação constantes. Hoje sei que, além de um grande orientador, tenho em ti também um grande amigo.

À Universidade Estadual do Oeste do Paraná – UNIOESTE e ao Programa de Pós-Graduação em Engenharia de Energia na Agricultura, pela oportunidade de realizar este trabalho e pelos recursos disponibilizados. O suporte institucional e acadêmico foi imprescindível para o êxito deste projeto.

Por fim, agradeço a todos que me ajudaram de alguma forma na realização do projeto.

“Everything you want is a dream away.”
Coldplay

SNAK, Aline. Universidade Estadual do Oeste do Paraná, julho de 2024.
Biorremediação de solo contaminado por metais tóxicos com cultivo de *Crambe abyssinica* associado a microrganismos. Dr. Affonso Celso Gonçalves Junior.

RESUMO

A contaminação do solo por metais tóxicos, como Cd e Pb, representa uma séria ameaça à saúde pública e ao ambiente. As técnicas de biorremediação que utilizam microrganismos para remediação de solos contaminados podem ser aliadas a técnicas de fitorremediação para auxiliar na fitoextração dos contaminantes, sendo esta uma abordagem promissora. Este estudo objetivou avaliar o uso de *Crambe abyssinica* associado com bactérias potenciais para a remoção de Cd e Pb de solos contaminados. Os experimentos foram realizados em condições controladas e em cultivo protegido, utilizando um delineamento experimental em blocos casualizados contendo quatro repetições e 24 tratamentos, sendo, 12 tratamentos compostos por quatro diferentes doses de Cd em associação com as bactérias *Azospirillum brasilense* e *Pseudomonas fluorescens* de forma isolada; e 12 tratamentos compostos por quatro diferentes doses de Pb em associação com as bactérias *A. brasilense* e *P. fluorescens* de forma isolada, compondo um total de 96 vasos. A cultura de *C. abyssinica* foi cultivada em solo contaminado com diferentes concentrações de Cd ou Pb. A inoculação com microrganismos promotores de crescimento, como *A. brasilense* e *P. fluorescens*, foi aplicada para avaliar sua influência na fitoextração dos metais. Os parâmetros avaliados incluíram crescimento vegetal, acumulação e translocação de metais, e análises bioquímicas e morfológicas das plantas. A inoculação com bactérias resultou em um aumento significativo na biomassa de *Crambe abyssinica* e na eficiência de extração dos metais. Para o Pb, os microrganismos aumentaram a solubilização e a mobilização do metal no solo, enquanto para o Cd, houve um aumento na absorção e acumulação do mesmo pelas plantas. Ambos os estudos mostraram que a sinergia entre *Crambe abyssinica* e as bactérias promoveu uma maior remoção de metais do solo. A utilização de *Crambe abyssinica*, em conjunto com bactérias promotoras de crescimento vegetal (BPCV), demonstrou ser uma estratégia eficaz para a biorremediação de solos contaminados tanto por Pb quanto por Cd. Esta abordagem não apenas melhora a sanidade das plantas e aumenta a remoção dos contaminantes, mas também oferece uma solução sustentável e de baixo custo para a recuperação de áreas contaminadas, apresentando um potencial significativo para aplicação em larga escala.

Palavras-chave: Fitorremediação; cádmio; chumbo; bactérias promotoras de crescimento vegetal; remediação.

SNAK, Aline. Universidade Estadual do Oeste do Paraná, julho de 2024.
Bioremediation of Soil Contaminated with Toxic Metals Using *Crambe abyssinica* Cultivation Associated with Microorganisms. Dr. Affonso Celso Gonçalves Junior.

ABSTRACT

Soil contamination by toxic metals such as Cd and Pb poses a serious threat to public health and the environment. Bioremediation techniques that utilize microorganisms for the remediation of contaminated soils can be combined with phytoremediation techniques to assist in the phytoextraction of contaminants, making this a promising approach. This study aimed to evaluate the use of *Crambe abyssinica* associated with potential bacteria for the removal of Cd and Pb from contaminated soils. The experiments were conducted under controlled conditions and in a protected environment, using a randomized block design with four replications and 24 treatments. These included 12 treatments consisting of four different doses of Cd in association with *Azospirillum brasilense* and *Pseudomonas fluorescens* individually, and 12 treatments consisting of four different doses of Pb in association with *A. brasilense* and *P. fluorescens* individually, comprising a total of 96 pots. The *C. abyssinica* crop was grown in soil contaminated with varying concentrations of Cd or Pb. The inoculation with growth-promoting microorganisms, such as *A. brasilense* and *P. fluorescens*, was applied to assess their influence on metal phytoextraction. The evaluated parameters included plant growth, metal accumulation and translocation, and biochemical and morphological analyses of the plants. Inoculation with bacteria resulted in a significant increase in the biomass of *Crambe abyssinica* and in the efficiency of metal extraction. For Pb, the microorganisms enhanced the solubilization and mobilization of the metal in the soil, while for Cd, there was an increase in its absorption and accumulation by the plants. Both studies demonstrated that the synergy between *Crambe abyssinica* and the bacteria promoted greater metal removal from the soil. The use of *Crambe abyssinica* in combination with plant growth-promoting bacteria (PGPB) proved to be an effective strategy for the bioremediation of soils contaminated with both Pb and Cd. This approach not only improves plant health and enhances contaminant removal but also offers a sustainable and low-cost solution for the recovery of contaminated areas, presenting significant potential for large-scale application.

Keywords: Phytoremediation; cadmium; lead; plant growth-promoting bacteria; remediation.

SNACK, Aline. Universidade Estadual do Oeste do Paraná, julho de 2024.
Biorremediação de solo contaminado por metais tóxicos com cultivo de *Crambe abyssinica* associado a microrganismos. Dr. Affonso Celso Gonçalves Junior

LISTA DE SIGLAS, ABREVIATURAS E SÍMBOLOS

% - Porcentagem – medida de razão com base 100

°C - Grau celsius – escala termométrica

A. brasilense - *Azospirillum brasilense*

AIA – Ácido indól-acético

Al – Alumínio

ANOVA – análise de variância

ANVISA - Agência Nacional de Vigilância Sanitária

AOAC - Association of Official Analytical Chemists

As – Arsênio

C - Carbono

Ca – Cálcio

Cd – Cádmio

CETESB - Companhia Ambiental do Estado de São Paulo

Cl - Cloro

cm - Centímetros – unidade de medida de comprimento

cmolc/dm³ - Centimol de carga por decímetro cúbico

Co – Cobalto

CO₂ - Dióxido de carbono

CONAMA - Conselho Nacional do Meio Ambiente

Cr - Cromo

Cu – Cobre

DAE – Dias após emergência

EPA - Environmental Protection Agency

EPS - Poliméricas extracelulares

ERO's – Espécies reativas de oxigênio

EUA – Estados Unidos da América

Fe - Ferro

g cm⁻³ - Gramas por centímetro cúbico

h – Horas – unidade de tempo

Hg – Mercúrio

IBAMA - Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e dos Recursos Naturais Renováveis

K – Potássio

KCl – Cloreto de potássio

Kg - quilograma – unidade de medida de massa

L – Litro – unidade de volume

LQ – Limite de quantificação

MAPA - Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento

Mg – Magnésio

mg kg⁻¹ - Miligramas por quilograma

mg/dm³ - Miligramas por decímetro cúbico

min. – Minutos – unidade de tempo

mm - Milímetro – unidade de medida de comprimento

Mn – Manganês

N – Nitrogênio

Ni – Níquel

OMS - Organização Mundial da Saúde

P - Fósforo

P. fluorescens - *Pseudomonas fluorescens*

Pb – Chumbo

pH - Potencial hidrogeniônico

PIB – Produto interno bruto

S – Enxofre

SDA - Secretaria de Defesa Agropecuária

Se - Selênio

UFC/mL - Unidades Formadoras de Colônia por Mililitro

UV/Vis - Ultravioleta/Visível

Zn - Zinco

µg kg⁻¹ - Microgramas por Quilograma

SNACK, Aline. Universidade Estadual do Oeste do Paraná, julho de 2024.
Biorremediação de solo contaminado por metais tóxicos com cultivo de *Crambe abyssinica* associado a microrganismos. Dr. Affonso Celso Gonçalves Junior

LISTA DE FIGURAS

CAPÍTULO I: CONSIDERAÇÕES INICIAIS

Figura 1: Porcentagem das espécies testadas como fitorremediadoras até 2013, pertencentes às famílias *Leguminosae*, *Poaceae*, *Asteraceae*, *Cruciferae* e *Amaranthaceae*. FONTE: Soares *et al.*, (2013).....23

CAPÍTULO II: INFLUÊNCIA DE BACTÉRIAS NA BIORREMEDIAÇÃO DE SOLO CONTAMINADO COM CÁDMIO E CULTIVADO COM CRAMBE ABYSSINICA EM CULTIVO PROTEGIDO

Figura 1: Estágios fenológicos do crambe em cada etapa do experimento. (A) implementação; (B) início da germinação – 4 dias após semeadura; (C) desenvolvimento e desbaste – 15 dias após semeadura; (D) desenvolvimento após o desbaste – 20 dias; (E) surgimento das primeiras flores; (F) desenvolvimento de flores de maneira uniforme; (G) planta antes para a coleta.....66

Figura 2: Delineamento experimental em blocos casualizados, organizado em um esquema fatorial com quatro repetições, quatro doses de metal e dois microrganismos.....66

Figura 3: Diferenciação entre coloração dos vasos de xilema em azul e floema em roxo.....79

Figura 4: Corte histológico e diferenciação morfológica do colo de crambe na implementação da floração coradas com azul de toluidina.....70

Figura 5: (A) Comprimento total, (B) comprimento de parte aérea e (C) comprimento de raiz das plantas de crambe inoculadas com *A. brasilense* e *P. fluorescens* em resposta a diferentes doses de Cd.....73

Figura 6: Relação de (A) massa fresca total, (B) massa fresca de parte aérea, (C) massa fresca de raiz, (D) massa seca total, (E) massa seca de parte aérea, (F) massa seca de raiz, das plantas de crambe inoculadas com *A. brasilense* e *P. fluorescens* em resposta a diferentes doses de Cd.....76

Figura 7: Relação do diâmetro do caule das plantas de crambe inoculadas com *A. brasilense* e *P. fluorescens* em resposta a diferentes doses de Cd.....78

Figura 8: Relação das análises histomorfológica para (A) floema, (B) xilema, (C) medula e (D) córtex de colo de plantas de crambe inoculadas com *A. brasilense* e *P. fluorescens* em resposta a diferentes doses de Cd.....80

Figura 9: Corte histológico de colo de plantas de crambe, (a) plantas sem inoculação e com o dobro da dose máxima de Cd (9 mg kg^{-1}), (b) plantas inoculadas com *P. fluorescens* e em contato com o dobro da dose máxima de Cd (9 mg kg^{-1}); ambas observadas com um aumento de 40x.....81

Figura 10: Influência do pH do solo em relação aos tratamentos com plantas de crambe inoculadas com *A. brasilense* e *P. fluorescens* em resposta a diferentes doses de Cd.....94

Figura 11: Índice de acumulação para plantas de crambe inoculadas com *A. brasilense* e *P. fluorescens* em resposta a diferentes doses de Cd.....95

Figura 12: Índice de translocação para plantas de crambe inoculadas com *A. brasilense* e *P. fluorescens* em resposta a diferentes doses de Cd.....96

CAPÍTULO III: INFLUÊNCIA DE MICRORGANISMOS NA BIORREMEDIAÇÃO DE SOLO CONTAMINADO COM CHUMBO E CULTIVADO COM CRAMBE ABYSSINICA EM CULTIVO PROTEGIDO

Figura 1: Estágios fenológicos do crambe em cada etapa do experimento. (A) implementação; (B) início da germinação – 4 dias após semeadura; (C) desenvolvimento e desbaste – 15 dias após semeadura; (D) desenvolvimento após o desbaste – 20 dias; (E) surgimento das primeiras flores; (F) desenvolvimento de flores de maneira uniforme; (G) planta antes para a coleta.....110

Figura 2: Delineamento experimental em blocos casualizados, organizado em um esquema fatorial com quatro repetições, quatro doses de metal e dois microrganismos.....110

Figura 3: Diferenciação entre coloração dos vasos de xilema em azul e floema em roxo.....113

Figura 4: Corte histológico e diferenciação morfológica do colo de crambe na implementação da floração coradas com azul de toluidina.....114

Figura 5: (A) Comprimento total, (B) comprimento de parte aérea e (C) comprimento de raiz das plantas de crambe inoculadas com *A. brasilense* e *P. fluorescens* em resposta a diferentes doses de Pb.....117

Figura 6: Relação de (A) massa fresca total, (B) massa fresca de parte aérea, (C) massa fresca de raiz, (D) massa seca total, (E) massa seca de parte aérea, (F) massa seca de raiz, das plantas de crambe inoculadas com <i>A. brasilense</i> e <i>P. fluorescens</i> em resposta a diferentes doses de Pb.....	119
Figura 7: Relação do diâmetro do caule das plantas de crambe inoculadas com <i>A. brasilense</i> e <i>P. fluorescens</i> em resposta a diferentes doses de Pb.....	121
Figura 8: Relação das análises histomorfológica para (A) floema, (B) xilema, (C) medula e (D) córtex de colo de plantas de crambe inoculadas com <i>A. brasilense</i> e <i>P. fluorescens</i> em resposta a diferentes doses de Pb.....	123
Figura 9: Corte histológico de colo de plantas de crambe, (a) plantas sem inoculação e com o dobro da dose máxima de Pb (360 mg kg ⁻¹), (b) plantas inoculadas com <i>P. fluorescens</i> e em contato com o dobro da dose máxima de Pb (360 mg kg ⁻¹); ambas observadas com um aumento de 40x.....	124
Figura 10: Influência do pH do solo em relação aos tratamentos com plantas de crambe inoculadas com <i>A. brasilense</i> e <i>P. fluorescens</i> em resposta a diferentes doses de Pb.....	137
Figura 11: Índice de acumulação para plantas de crambe inoculadas com <i>A. brasilense</i> e <i>P. fluorescens</i> em resposta a diferentes doses de Pb.....	138
Figura 12: Índice de translocação para plantas de crambe inoculadas com <i>A. brasilense</i> e <i>P. fluorescens</i> em resposta a diferentes doses de Pb.....	139

SNAK, Aline. Universidade Estadual do Oeste do Paraná, julho de 2024.
Biorremediação de solo contaminado por metais tóxicos com cultivo de *Crambe abyssinica* associado a microrganismos. Dr. Affonso Celso Gonçalves Junior

LISTA DE TABELAS

CAPÍTULO I: CONSIDERAÇÕES INICIAIS

Tabela 1: Limites máximos permitidos de metais (Cd e Pb) nos solos de alguns países.....18

CAPÍTULO II: INFLUÊNCIA DE BACTÉRIAS NA BIORREMEDIAÇÃO DE SOLO CONTAMINADO COM CÁDMIO E CULTIVADO COM CRAMBE ABYSSINICA EM CULTIVO PROTEGIDO

Tabela 1: Caracterizações químicas para fins de fertilidade e granulometria do solo utilizado.....67

Tabela 2: limite de quantificação para elementos em espectrofotometria de absorção atômica por chama de ar-acetileno.....71

Tabela 3: Níveis nutricionais de macro e micronutrientes em parte aérea de plantas de crambe inoculadas com *A. brasilense* e *P. fluorescens* em resposta a diferentes doses de Cd.....83

Tabela 4: Níveis nutricionais de macro e micronutrientes em tecido radicular de plantas de crambe inoculadas com *A. brasilense* e *P. fluorescens* em resposta a diferentes doses de Cd.....86

Tabela 5: Teores de Cd encontrado em solo, raízes e parte aérea de plantas de crambe inoculadas com *A. brasilense* e *P. fluorescens* em resposta a diferentes doses de Cd.....88

Tabela 6: Teores totais de macro e micronutrientes em solo após o cultivo de plantas de crambe inoculadas com *A. brasilense* e *P. fluorescens* em resposta a diferentes doses de Cd.....90

Tabela 7: Teores de macronutrientes disponíveis/trocáveis a fim de fertilidade do solo em solo após o cultivo de plantas de crambe inoculadas com *A. brasilense* e *P. fluorescens* em resposta a diferentes doses de Cd.....91

CAPÍTULO III: INFLUÊNCIA DE MICRORGANISMOS NA BIORREMEDIAÇÃO DE SOLO CONTAMINADO COM CHUMBO E CULTIVADO COM CRAMBE ABYSSINICA EM CULTIVO PROTEGIDO

Tabela 1: Caracterizações químicas para fins de fertilidade e granulometria do solo utilizado.....111

Tabela 2: Limite de quantificação para elementos em espectrofotometria de absorção atômica por chama de ar-acetileno.....115

Tabela 3: Teores totais de macro e micronutrientes em parte aérea de plantas de crambe inoculadas com *A. brasilense* e *P. fluorescens* em resposta a diferentes doses de Pb.....126

Tabela 4: Níveis nutricionais de macro e micronutrientes em tecido radicular de plantas de crambe inoculadas com *A. brasilense* e *P. fluorescens* em resposta a diferentes doses de Pb.....128

Tabela 5: Teores totais de Pb encontrado em solo, raízes e parte aérea de plantas de crambe inoculadas com *A. brasilense* e *P. fluorescens* em resposta a diferentes doses de Pb.....130

Tabela 6: Teores totais de macro e micronutrientes em solo após o cultivo de plantas de crambe inoculadas com *A. brasilense* e *P. fluorescens* em resposta a diferentes doses de Pb.....133

Tabela 7: Concentração de macronutrientes disponíveis/trocáveis a fim de fertilidade do solo em solo após o cultivo de plantas de crambe inoculadas com *A. brasilense* e *P. fluorescens* em resposta a diferentes doses de Pb.....134

SNAK, Aline. Universidade Estadual do Oeste do Paraná, julho de 2024.
Biorremediação de solo contaminado por metais tóxicos com cultivo de *Crambe abyssinica* associado a microrganismos. Dr. Affonso Celso Gonçalves Junior

SUMÁRIO

1. CAPÍTULO I: CONSIDERAÇÕES INICIAIS	1
1.1. INTRODUÇÃO	1
1.2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	4
1.2.1. Solo agrícola	4
1.2.2. Contaminação do solo por metais tóxicos.....	7
1.2.2.1. Cádmio	12
1.2.2.2. Chumbo.....	14
1.2.2.3. Mobilidade de metais	15
1.2.3. Legislação brasileira sobre a contaminação por metais tóxicos	16
1.2.4. Biorremediação.....	19
1.2.5. Uso de plantas e microrganismos para a redução ou remoção no teor de metais tóxicos	23
1.2.5.1. <i>Pseudomonas</i> spp.	27
1.2.5.2. <i>Azospirillum</i> spp.....	29
1.2.6. Crambe no contexto da biorremediação.....	30
1.2.7 Interação entre metais tóxicos, solo, plantas e microrganismos.....	32
1.3. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	41
2. CAPÍTULO II: INFLUÊNCIA DE BACTÉRIAS NA BIORREMEDIAÇÃO DE SOLO CONTAMINADO COM CÁDMIO E CULTIVADO COM <i>CRAMBE</i> <i>ABYSSINICA</i> EM CULTIVO PROTEGIDO.....	62
2.1. INTRODUÇÃO	64
2.2. MATERIAL E MÉTODOS.....	65
2.2.1 Delineamento experimental e obtenção de plantas.....	65
2.2.2 Análises morfológicas	68
2.2.3 Avaliação de teores totais de macronutrientes, micronutrientes e cádmio em solos e tecido vegetal	70
2.2.4 Avaliação de teores disponíveis de macronutrientes em solo	70
2.2.5 Limites de Quantificação	71
2.2.6 Índices de acumulação e translocação.....	71
2.3. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	72
2.3.1 Análises morfológicas	72
2.3.2. Análises anatômicas.....	79
2.3.3. Teores totais de nutrientes em tecido vegetal - parte aérea.....	82

2.3.4. Teores totais de nutrientes em tecido vegetal - radicular	85
2.3.5. Teores totais de cádmio	87
2.3.6. Teores totais de nutrientes encontrados no solo	89
2.3.7. Índice de acumulação e translocação.....	95
2.4. CONCLUSÃO.....	97
2.5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	99
3. CAPÍTULO III: INFLUÊNCIA DE MICRORGANISMOS NA BIORREMEDIAÇÃO DE SOLO CONTAMINADO COM CHUMBO E CULTIVADO COM <i>CRAMBE ABYSSINICA</i> EM CULTIVO PROTEGIDO	106
3.1. INTRODUÇÃO	108
3.2. MATERIAL E MÉTODOS.....	109
3.2.1 Delineamento experimental e obtenção de plantas.....	109
3.2.2 Análises morfométricas	112
3.2.3 Avaliação de teores totais de macronutrientes, micronutrientes e cádmio em solos e tecido vegetal	114
3.2.4 Avaliação de teores disponíveis de macronutrientes em solo	114
3.2.5 Limites de Quantificação	115
3.2.6 Índices de acumulação e translocação.....	115
3.3. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	116
3.3.1. Análises morfométricas	116
3.3.2. Análises anatômicas.....	122
3.3.3. Teores totais de nutrientes em tecido vegetal - parte aérea	125
3.3.4. Teores totais de nutrientes em tecido vegetal - radicular	127
3.3.5. Teores totais de chumbo	129
3.3.6. Teores de nutrientes encontrados no solo.....	132
3.3.7. Índice de acumulação e translocação.....	138
3.4. CONCLUSÃO.....	140
3.5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	141
4. CAPÍTULO IV: CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	149

1. CAPÍTULO I: CONSIDERAÇÕES INICIAIS

1.1. INTRODUÇÃO

Acredita-se que a população global atual esteja em torno de 8,1 bilhões de indivíduos (NAÇÕES UNIDAS, 2024), com uma projeção de crescimento para 9 bilhões em 2037 e 10 bilhões até 2050. Esse aumento populacional tem resultado em uma demanda cada vez maior por alimentos, o que tem levado a práticas agrícolas inadequadas e causado sérios danos aos ecossistemas (NAÇÕES UNIDAS BRASIL, 2019). Esse crescimento contínuo da população mundial tem impulsionado a demanda por alimentos, conforme enfatizado pelo relatório das Nações Unidas no Brasil (NAÇÕES UNIDAS BRASIL, 2019). Além da necessidade de alimentar sua própria população, as exportações de alimentos para outros países representam um mercado promissor e altamente lucrativo, com potencial significativo para aumentar o produto interno bruto (PIB).

O rápido crescimento populacional e a industrialização aumentam a demanda humana por alimentos. Apenas áreas agrícolas maiores e mais produtivas podem garantir a segurança alimentar (Cassidy *et al.*, 2013). Infelizmente, a carga antropogênica em constante crescimento afeta as propriedades produtivas dos solos agrícolas e sua fertilidade, causando redução da matéria orgânica, esgotamento de nutrientes, poluição por metais tóxicos, pesticidas, fertilizantes minerais, hidrocarbonetos aromáticos policíclicos, entre outros (Foley *et al.*, 2011; Jansson; Hofmockel, 2020). Práticas agrícolas e manejo inadequado dos recursos hídricos e terrestres resultam em um declínio drástico na qualidade do solo agrícola e causam perdas econômicas desastrosas (Alemu, 2015; Borrelli *et al.*, 2017; Lal, 1998; Priya *et al.*, 2023; Zavidis *et al.*, 2002; Zhao *et al.*, 2015a).

A contaminação do solo por metais tóxicos apresenta uma variedade de efeitos adversos que impactam tanto o ecossistema quanto a saúde pública. No contexto ambiental, concentrações elevadas desses metais podem comprometer significativamente a biodiversidade edáfica, manifestando-se através da diminuição da atividade microbiana e interferindo no processo de decomposição da matéria orgânica. Essa perturbação é crucial, pois a atividade microbiana é fundamental para

a manutenção da saúde e da fertilidade do solo, atuando diretamente na ciclagem de nutrientes. Adicionalmente, alterações na estrutura física do solo, incluindo compactação e redução da porosidade, representam outros efeitos deletérios. Tais mudanças afetam negativamente a capacidade de infiltração de água e a disponibilidade de nutrientes essenciais para o desenvolvimento vegetal (Chandrasekaran *et al.*, 2015). Este cenário destaca a importância de monitorar e gerenciar a presença de metais tóxicos no solo, visando proteger a saúde do ecossistema e, por extensão, a saúde humana.

Considerando o supracitado, é tarefa urgente atuar na redução da taxa de degradação dos solos agrícolas degradados e aumentar sua taxa de restauração. Essa tarefa é um dos 17 principais objetivos de desenvolvimento sustentável definidos pelas Nações Unidas para o período até 2030 (Le Quéré *et al.*, 2018).

As comunidades agrícolas globais estão particularmente preocupadas com a atual contaminação por metais tóxicos em terras agrícolas. Os metais tóxicos são compostos altamente tóxicos que podem persistir no solo indefinidamente. O cádmio (Cd), chumbo (Pb), zinco (Zn) e cobre (Cu) podem ser inseridos no solo agrícola por meio de fertilizantes, incluindo os orgânicos. No entanto, o arsênio (As) e o mercúrio (Hg) também podem se misturar ao solo agrícola se o campo estiver localizado próximo a empreendimentos industriais (Kopittke *et al.*, 2019; O'Connor *et al.*, 2020; Türkdoğan *et al.*, 2003). Além disso, todos os metais tóxicos têm propensão à bioacumulação. Sabe-se que eles se acumulam em culturas agrícolas e outros organismos vivos, alterando seus processos bioquímicos e fisiológicos (Eugenio; McLaughlin; Pennock, 2018). Eles não apenas reduzem a produtividade das plantas, mas também levam à necrose dos tecidos vegetais se atingirem altas concentrações (Ministry of Environmental Protection, 2014; Tilman *et al.*, 2011).

Na agricultura, o uso excessivo de fertilizantes químicos pode estar associado à presença de Cd, Cu e As. O Cd é um componente metálico importante do minério de fosfato, utilizado na produção de fertilizantes fosfatados, e podem conter também As (British Geological Survey, 2023). Pesticidas também contribuem para a poluição dos solos agrícolas. Por exemplo, foi demonstrado que alguns pesticidas metálicos contêm cromo (Cr), cobalto (Co), Pb e níquel (Ni) (Defarge; Spiroux De Vendômois; Séralini, 2018a; Elsa Dominish; Sven Teske; Nick Florin, 2019). Outros ainda relataram que o conteúdo de Co, Zn e Cu nos solos está correlacionado com o tempo de cultivo, e esses poluentes provavelmente se acumularam devido ao uso de

fertilizantes ao longo dos anos (Mulligan; Yong; Gibbs, 2001a).

Considerando os impactos dos metais tóxicos no meio ambiente, justifica-se a busca por métodos eficientes para remoção desses contaminantes do solo. Nesse contexto, diversos autores estudaram e constaram biorremediação está em ascensão como uma importante ferramenta para tratamento de ambientes contaminados, e também enfatizam a necessidade de realizar mais estudos para entender os mecanismos de biorremediação desses microrganismos, uma vez que apresentam menor custo e maior eficiência na remoção dos contaminantes do que as técnicas físicas e químicas, sendo ainda uma técnica ambientalmente correta (Bertolazi *et al.*, 2010; Leonel *et al.*, 2018; Santos *et al.*, 2018; Soares *et al.*, 2011)

Além da biorremediação, pesquisas também são conduzidas para compreender a tolerância de certas plantas aos metais tóxicos. Um exemplo é o estudo de Silva *et al.* (2021) sobre a germinação de sementes de crambe submetidas a concentrações tóxicas de metais tóxicos demonstrando a resistência desta planta à presença de Pb e Fe, ou ainda o estudo de Gonçalves Jr. *et al* (2020), que confirmou a resistência de sementes de crambe à presença desses metais no ambiente, indicando o potencial da planta para uso em estratégias de fitorremediação.

A biorremediação surge como uma solução promissora para a problemática dos metais tóxicos no solo. Porém, é preciso ampliar os estudos acerca das técnicas de biorremediação e da resistência das plantas à contaminação, como o crambe, para o desenvolvimento de estratégias eficazes de recuperação de áreas contaminadas.

Portanto temos como objetivo avaliar a eficácia da utilização de *Crambe abyssinica* em conjunto com bactérias promotoras de crescimento vegetal (BPCV), como *Azospirillum brasilense* e *Pseudomonas fluorescens*, para a remoção de Cd e Pb em solos contaminados, explorando o potencial desta técnica como uma solução sustentável para a recuperação de áreas contaminadas.

Por meio de uma avaliação de impacto da inoculação com *Azospirillum brasilense* e *Pseudomonas fluorescens* na biomassa e eficiência de extração de metais pesados por *Crambe abyssinica* em solos contaminados por diferentes concentrações de Cd e Pb. Avaliação da influência BPCV na solubilização e mobilização de Pb, bem como na absorção e acumulação de Cd, em plantas de *Crambe abyssinica* cultivadas em condições controladas. Análise das mudanças morfológicas e bioquímicas em *Crambe abyssinica* resultantes da exposição a metais pesados e tratamento com microrganismos promotores de crescimento, para entender

os mecanismos de resistência e adaptação das plantas a ambientes contaminados.

1.2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

1.2.1. Solo agrícola

O solo representa um recurso natural fundamental, exercendo múltiplas funções essenciais, incluindo a regulação do ciclo das águas subterrâneas, a conservação da biodiversidade através da preservação de nutrientes, o apoio à atividade microbiana vital para a ciclagem de nutrientes, e o suporte à produção agrícola sustentável (Bach *et al.*, 2020; CETESB, 2013; M. Tahat *et al.*, 2020). No entanto, sua integridade tem sido comprometida por práticas inadequadas de manejo e pela disposição indevida de uma gama de contaminantes, incluindo, mas não limitando a, resíduos industriais e domésticos, produtos químicos, fertilizantes e outros insumos agrícolas, resultando em uma problemática ambiental significativa (Andrade *et al.*, 2013; Cai *et al.*, 2015).

As atividades humanas, desenvolvidas ao longo dos séculos, têm impactado de maneira adversa o equilíbrio dos metais tóxicos no ambiente, levando a um aumento de sua concentração nos ecossistemas terrestres (Abd Elnabi *et al.*, 2023; Kızılkaya, 2005). Os metais tóxicos são caracterizados por propriedades que incluem a bioacumulação, toxicidade, estabilidade química, baixa biodegradabilidade e alta solubilidade em água, contribuindo para a poluição extensiva da superfície terrestre (HAMA AZIZ *et al.*, 2023).

O solo é composto por uma complexa mistura de matéria orgânica, minerais, e componentes líquidos e gasosos, originados da transformação da rocha-mãe através de processos físicos, químicos e biológicos (Santos; Batista, 2015). Sua importância transcende a simples função de substrato para a vegetação, englobando aspectos cruciais como a proteção ambiental, o controle hidrológico, a nutrição de ecossistemas, a sustentação da biodiversidade microbiana e o fomento à produção alimentar, ressaltando a necessidade urgente de medidas de proteção e recuperação deste recurso vital (CETESB, 2013; M. Tahat *et al.*, 2020).

A fertilidade do solo é um fator crítico para a sustentabilidade dos sistemas

agropecuários, pois é dela que as plantas obtêm os nutrientes e a água necessários para seu desenvolvimento. Um manejo eficaz da fertilidade do solo, que inclua práticas como a correção da acidez e a aplicação adequada de fertilizantes, é fundamental para maximizar a produtividade agrícola (Krasilnikov; Taboada; Amanullah, 2022; Rossetto; Santiago, 2008). A adoção de uma abordagem equilibrada na utilização de insumos agrícolas é imperativa para minimizar os impactos negativos ao meio ambiente.

Nesse contexto, fertilizantes são vitais para suprir as deficiências nutricionais do solo em áreas dedicadas à produção alimentar. A insuficiência de nutrientes no solo pode comprometer tanto a qualidade quanto a produtividade das culturas, ressaltando a importância dos fertilizantes na manutenção da saúde do solo e no atendimento às demandas nutricionais das plantas (Abid *et al.*, 2020; Kumar *et al.*, 2023). Os fertilizantes podem ser classificados em várias categorias, incluindo macronutrientes primários (N, P, K), macronutrientes secundários (Ca, Mg, S) e micronutrientes (Cu, Fe, Zn, Mn, Co, Mo, Cl), e existem em formas orgânicas, organominerais e minerais (Soares *et al.*, 2021; Yara, 1999).

O manejo nutricional adequado é crucial para garantir o fornecimento dos nutrientes essenciais necessários ao crescimento ótimo das culturas. Além dos macronutrientes, os micronutrientes são essenciais para um desenvolvimento saudável e para alcançar uma produção agrícola satisfatória (FAO, 2016).

Contudo, a contaminação do solo em áreas agrícolas pode ser atribuída a práticas como o uso excessivo de fertilizantes minerais, agroquímicos e lodo de esgoto, com consequências diretas na qualidade ambiental (Araujo; Balsamo, 2024; Bono; Macedo; Tormena, 2013; Costa *et al.*, 2010; Ensinas *et al.*, 2014; Miranda; Oliveira; Cabral, 2024). O emprego inadequado desses materiais pode resultar em impactos negativos significativos.

Os fertilizantes fosfatados, especificamente, podem ser fontes de contaminação do solo por metais tóxicos, como Cd, Cr, Pb, Cu, Co, Fe, Mn, Zn e Ni (Amaral Sobrinho; Barra; Lã, 2019). Além disso, o uso contínuo de esterco animal, lodo de esgoto e fertilizantes minerais pode levar à acumulação de metais tóxicos no solo (McBride, 2003), evidenciando a necessidade de práticas de manejo que considerem os riscos ambientais associados ao uso desses insumos.

O emprego inadequado e o uso excessivo de fertilizantes podem acarretar uma série de consequências negativas, incluindo a contaminação dos recursos hídricos, a

eutrofização de corpos d'água, a degradação do solo, a diminuição da biodiversidade e a perda de fertilidade do solo em longo prazo, conforme observado por Santos e Batista (2015). Nesse contexto, torna-se imperativo implementar práticas de manejo integrado de nutrientes visando otimizar a eficiência dos fertilizantes e mitigar os impactos ambientais adversos.

Estudos realizados por Manfrin *et al.* (2018) e Schiller *et al.* (2019) destacam que as atividades agrícolas e industriais intensivas têm sido fatores significativos na contaminação ambiental por metais tóxicos, evidenciando concentrações de Cd, Fe e Pb nos rios Toledo e Alvorada acima dos limites estabelecidos pela legislação, afetando negativamente a qualidade da água. Esses estudos também apontam que as concentrações de Cu e Zn nos sedimentos destes rios são influenciadas pelas características hidrodinâmicas, como a velocidade e profundidade da coluna de água, representando riscos potenciais à vida aquática.

Em outro estudo, Gonçalves Jr. *et al.* (2011a) revelaram que, mesmo quando os níveis de Cd e Pb estão abaixo dos limites regulatórios, a produção de trigo em latossolos pode levar a concentrações perigosas destes metais na farinha, sugerindo a necessidade de uma reavaliação das normas vigentes.

A infiltração de metais tóxicos no solo pode ser originada de várias fontes, incluindo baterias, tintas, alimentos, poeira e o descarte inadequado de resíduos, conforme indicado por Maestri *et al.* (2010), Xin *et al.* (2022) e Velayatzadeh (2023). Os métodos químicos para remediação desses contaminantes são muitas vezes proibitivos em termos de custos e envolvem o uso de equipamentos especializados, tornando-se impraticáveis em diversos cenários (Mafra *et al.*, 2020). Adicionalmente, a remoção de solo contaminado pode implicar em riscos ambientais e para a saúde ocupacional (Fayer *et al.*, 2019).

Ressalta-se que o conteúdo de metais nos solos é influenciado tanto pela composição do material de origem quanto pelo seu grau de intemperismo. Em condições normais, estes elementos estão presentes em concentrações baixas, não representando ameaças ambientais significativas (Tavares; Oliveira; Salgado, 2013a). Contudo, a contaminação por metais tóxicos é uma problemática global que prejudica a produtividade agrícola, a biomassa vegetal e a fertilidade do solo (Lotfy; Mostafa, 2014).

A mobilidade dos metais tóxicos no solo é determinada por suas formas químicas, que podem variar entre solúveis, trocáveis, adsorvidas especificamente,

associadas a materiais orgânicos insolúveis ou precipitadas, influenciando diretamente sua biodisponibilidade e toxicidade (Asmoay *et al.*, 2019; Costa; Rosolen, 2012).

1.2.2. Contaminação do solo por metais tóxicos

A contaminação do solo é um assunto de grande preocupação onde o aumento constante das atividades antrópicas humanas tem intensificado a contaminação do ecossistema por metais tóxicos. Isso se deve à notável toxicidade ambiental dos íons de Pb, Mn, As, Fe, Cr e Cd. Além disso, esses metais são predominantemente presentes em efluentes de mineração e em agroquímicos, encontrando-se em concentrações consideráveis nesses resíduos, com extensas áreas já contaminadas por diversos agentes (Chaves; Nascimento; 2023). As consequências dessa contaminação têm sido amplamente estudadas nos últimos anos, e esforços estão sendo direcionados ao desenvolvimento de tecnologias para minimizar esse problema (Cheng *et al.*, 2020; Priya *et al.*, 2023).

A expressão "metal pesado" se aplica a elementos que tem peso específico maior que 5 g cm^{-3} ou que possuem número atômico maior que 20 (Idowu, 2022; Malavolta; Vitti; Oliveira, 1997), e a poluição do solo por metais tóxicos é um tema de grande relevância no contexto da agricultura, visto que esses elementos apresentam características tóxicas e estão relacionados diretamente à poluição (Santos *et al.*, 2015). Esses metais podem ser classificados em essenciais, não essenciais e tóxicos, sendo que os primeiros estão naturalmente presentes em todos os organismos, mas em concentrações elevadas podem se tornar tóxicos. Já os metais não essenciais são prejudiciais mesmo em concentrações mínimas e não possuem efeitos benéficos para os organismos (Chandrasekaran *et al.*, 2015).

No contexto da avaliação de riscos ambientais e de saúde pública, é crucial empregar uma terminologia que reflita precisamente os perigos associados à presença de certos elementos químicos no ambiente. Tradicionalmente, o termo "metais tóxicos" tem sido usado para descrever elementos com alta densidade atômica ou massa atômica elevada. No entanto, esta designação não necessariamente implica toxicidade, uma vez que metais com alta densidade, como ouro e platina, não são tóxicos para seres humanos sob exposição normal (Alfonso

Murillo-Tovar; Saldarriaga-Noreña; Saeid, 2021). Por essa razão, o termo "metais tóxicos" é preferido para enfatizar os riscos à saúde e ao meio ambiente causados por metais que são efetivamente prejudiciais, como Pb, Hg e Cd, independentemente de sua massa atômica (Alfonso Murillo-Tovar; Saldarriaga-Noreña; Saeid, 2021; Zhang *et al.*, 2016).

A nomenclatura "metais tóxicos" serve para melhor comunicar os riscos associados a esses elementos, guiando mais adequadamente políticas públicas e estratégias de mitigação de contaminação. Além disso, destaca-se que a precisão na comunicação científica e ambiental é fundamental para o entendimento público e para a ação efetiva no que diz respeito à contaminação por metais em diferentes contextos ecológicos e urbanos (Johnson *et al.*, 2016).

Metais tóxicos são componentes naturais do solo, como documentado por Idowu (2022). No entanto, intervenções humanas têm exacerbado a presença destes elementos em vários ecossistemas nas últimas décadas, um fenômeno extensivamente analisado por Kabata-Pendias (2011). O uso de insumos agrícolas ou subprodutos destinados à correção do solo ou à suplementação nutricional de plantas pode inadvertidamente introduzir contaminantes nesses ambientes. Pesquisas destacam a detecção de metais como Cd, Cu e Pb em tais materiais, sublinhando os riscos associados à sua aplicação (Farias, 2023; Lima *et al.*, 2001). Este cenário aponta para a necessidade de vigilância e gestão cuidadosa no uso de produtos agrícolas, visando prevenir a contaminação do solo e a subsequente transferência desses metais para a cadeia alimentar.

Alguns destes metais tóxicos, como Cu, Zn e Co, desempenham papéis importantes na nutrição de plantas e animais, enquanto outros, como Cd, Pb, As e Se, têm efeitos prejudiciais sobre vários componentes da biosfera (Asare; Száková; Tlustoš, 2023; Kabata-Pendias; Pendias, 2001b). Embora esses elementos estejam naturalmente presentes nos solos em concentrações ou formas que não representam riscos para o ambiente, atividades humanas têm aumentado substancialmente a concentração de alguns metais tóxicos em diversos ecossistemas nas últimas décadas.

A contaminação por metais tóxicos em solos agrícolas é uma preocupação ambiental devido ao potencial poluente desses elementos. Eles podem afetar diretamente os organismos do solo, tornando-se fitotóxicos em níveis elevados de disponibilidade para as plantas, além de poderem ser transferidos para a cadeia

alimentar por meio das próprias plantas ou contaminar as águas superficiais e subterrâneas (Chang *et al.*, 1984; Liu; Li; He, 2022). A contaminação por metais tóxicos ocorre principalmente devido à sua alta estabilidade na natureza e capacidade de acumulação no solo, nas plantas, nos sedimentos e nos sistemas biológicos (Xin *et al.*, 2022).

Enquanto metais como Cu, Zn e Cr são utilizados em baixas concentrações no metabolismo biológico (Alengebawy *et al.*, 2021; Gomes; Rogero; Tirapegui, 2005; Urbano *et al.*, 2002), Pb e Cd não possuem função essencial e são tóxicos, mesmo em baixas concentrações (Tüzen, 2003; Xin *et al.*, 2022). A toxicidade dos metais geralmente está associada a efeitos neurotóxicos, hepatotóxicos e nefrotóxicos (Casado *et al.*, 2024; Stohs; Bagchi, 1995).

A contaminação do solo por Pb tem se destacado como um dos principais problemas, e representa sério risco de envenenamento para seres humanos (Meena *et al.*, 2020; Steffan *et al.*, 2018; Wani; Ara; Usmani, 2015). O Cd, por sua vez, é um elemento químico relativamente raro, não encontrado naturalmente em estado puro, mas utilizado em ligas, indústria automotiva, pigmentos, estabilizadores para plásticos de polivinil, baterias e fertilizantes fosfatados (Gonçalves *et al.*, 2011b; Gonçalves Júnior; Selzlein; Nacke, 2009). No ambiente, o Cd se concentra nos solos e nos sistemas aquáticos, tornando-se disponível para as raízes das plantas. O acúmulo deste elemento nos tecidos vegetais aumenta o risco de transferência para humanos e animais através da cadeia alimentar (Casado *et al.*, 2024; Dalla Vecchia *et al.*, 2005).

A sobrevivência de espécies vegetais em solos contaminados está relacionada à capacidade de tolerar a toxicidade do metal, não à sua eliminação. As concentrações de metais tóxicos variam nos diferentes tecidos das plantas, sendo que os grãos geralmente apresentam concentrações menores do que as partes vegetativas (Lastochkina *et al.*, 2022; Zeittouni; Berton; Abreu, 2007).

As plantas possuem a capacidade em auxiliar a diminuir o impacto causado pelos metais, onde a fitovolatilização é um mecanismo em que as plantas têm a habilidade de absorver e transformar poluentes como Hg, Se e As em formas voláteis menos tóxicas, liberando-os para a atmosfera através da transpiração. Já a fitoestabilização é empregada na remediação de Pb, As, Cd, Cr, Cu e Zn, e consiste na capacidade das plantas em reduzir a mobilidade e biodisponibilidade desses metais tóxicos na rizosfera, por meio de precipitação, sorção, complexação ou alteração da valência dos elementos. Por fim, a fitoextração, considerada o

mecanismo mais importante, é a capacidade das plantas em absorver e acumular os metais tóxicos em seus órgãos aéreos. Contudo, a eficiência desse processo varia de acordo com características da fisiologia do solo, como pH e capacidade de troca catiônica (Bortoloti; Baron, 2022).

No que diz respeito à transferência de metais tóxicos para a cadeia alimentar, Chaney e Oliver (1996) afirmam que as plantas atuam como mecanismos importantes nesse processo. As plantas absorvem os metais do solo através de suas raízes, e esses metais podem se acumular em diferentes partes da planta, como folhas, caules e frutos. A transferência de metais tóxicos para a cadeia alimentar ocorre quando animais herbívoros consomem plantas contaminadas e, por sua vez, são consumidos por animais carnívoros ou pelo próprio ser humano (Chaney; Oliver, 1996; Pang *et al.*, 2023; Sabreena *et al.*, 2022; Zakaria *et al.*, 2021).

A pesquisa realizada por (Nacke *et al.*, 2013) demonstrou a disponibilidade dos metais tóxicos Cd, Pb e Cr para o solo e plantas de milho após a fertilização com diferentes fontes e doses de Zn em um latossolo. Embora não tenha havido acúmulo desses metais na planta, notou-se o acúmulo de Pb na folhagem, destacando sua disponibilidade através de diferentes fontes de Zn. Além disso, evidenciou-se um aumento proporcional na disponibilidade desses metais no solo com o aumento das doses de Zn.

Da mesma forma, o estudo de Gonçalves Jr. *et al.* (2011b) demonstrou que a prática de adicionar micronutrientes à fertilização das culturas pode resultar em níveis significativos de Pb e Cr para as plantas de trigo, mesmo após um efeito residual da fertilização anterior. Esta pesquisa ressalta a importância de realizar mais estudos em relação aos fertilizantes utilizados para este suplemento, incluindo as matérias-primas com as quais são produzidos.

De acordo com o capítulo de Gonçalves Jr. *et al.* (2014) a utilização de resíduos industriais para a obtenção de micronutrientes tem sido amplamente utilizada na agricultura brasileira, mas essa prática pode resultar em contaminação do solo, das plantas e dos seres humanos com metais tóxicos. Esse estudo também destacou a necessidade de desenvolver legislação ambiental mais adequada, que garanta um ambiente sustentável e a produção de alimentos de qualidade.

Em outro estudo, Gonçalves Jr. *et al.* (2020) explorou a capacidade de fitorremediação da *Crambe abyssinica* em solo contaminado artificialmente com Cd e Pb. Embora a planta tenha apresentado uma diminuição na fotossíntese e um

aumento na respiração em condições de contaminação, ela também demonstrou ter uma alta capacidade de fitorremediação, especialmente para Cd. No entanto, mesmo em baixas concentrações, Cd mostrou alta fitodisponibilidade, podendo ser encontrado em todas as partes da planta, o que representa um problema ambiental.

Os efeitos da contaminação do solo por metais tóxicos são diversos e podem afetar tanto o meio ambiente quanto a saúde humana. No ambiente, altas concentrações de metais tóxicos podem prejudicar a biodiversidade do solo, reduzindo a atividade microbiana e afetando a decomposição da matéria orgânica. Além disso, podem ocorrer alterações na estrutura física do solo, como compactação e redução da porosidade, o que afeta a infiltração de água e a disponibilidade de nutrientes para as plantas (Chandrasekaran *et al.*, 2015).

O acúmulo de metais tóxicos em tecidos vegetais pode induzir alterações significativas em uma ampla gama de processos metabólicos nas plantas, conforme evidenciado por Almeida *et al.* (2017). Entre os efeitos observados, destaca-se a diminuição da taxa de fotossíntese líquida, o que paradoxalmente pode levar a um decréscimo na eficiência produtiva das plantas, contrariando a expectativa inicial de aumento no desenvolvimento. Acompanhando essa redução na fotossíntese, há uma diminuição nos níveis de carboidratos solúveis totais, bem como uma redução notável na concentração de proteínas e na atividade enzimática. Essas mudanças sugerem um potencial interferência dos íons metálicos no complexo mecanismo de funcionamento proteico.

Metais tóxicos frequentemente interagem com elementos essenciais nos compartimentos celulares, como oxigênio, N e S. O elemento S, notavelmente, aparece comumente na forma de radicais sulfidril, que são cruciais para a estruturação de proteínas. Esses grupos tiol possuem propriedades redutoras que facilitam a ligação com metais, ocasionando modificações estruturais nas proteínas. Tais alterações podem afetar a função enzimática e alterar a composição de moléculas vitais para o sistema antioxidante da célula, levando a uma diminuição nos níveis de glutathione, um antioxidante celular chave (NELSON; COX, 2014; Wu *et al.*, 2016).

Estudos têm demonstrado que os metais tóxicos podem alterar o desenvolvimento de proteínas específicas ao se ligarem funcionalmente a cadeias laterais e grupos funcionais livres, como os tióis. Eles também têm o potencial de substituir íons essenciais nas metaloproteínas, provocando alterações celulares e a

agregação de proteínas que dependem de sua conformação para desempenhar funções específicas. Proteínas mal dobradas podem apresentar toxicidade ao ambiente celular devido à interação indesejada com outras substâncias celulares (Tamás *et al.*, 2014; Tchounwou *et al.*, 2012).

Adicionalmente, os metais tóxicos possuem uma notável capacidade de sofrer reações de oxirredução, o que pode perturbar a homeostase celular, alterar o equilíbrio redox e induzir estresse oxidativo através do aumento na produção de espécies reativas de oxigênio (EROs). Os radicais hidroxila, em particular, são destacados por sua alta toxicidade e capacidade de danificar componentes celulares (Das; Roychoudhury, 2014; Ferreira; Matsubara, 1997). Essa dinâmica ressalta a importância de compreender as interações dos metais tóxicos com os sistemas biológicos para mitigar seus efeitos deletérios na saúde celular e, por extensão, no organismo como um todo.

Quanto à saúde humana, a contaminação do solo por metais tóxicos pode representar um risco significativo. Esses metais podem ser transferidos para os alimentos cultivados em solos contaminados e, quando consumidos, podem causar intoxicação aguda ou crônica. A exposição prolongada a metais tóxicos pode levar a problemas de saúde como danos ao sistema nervoso, distúrbios renais, problemas respiratórios, câncer e efeitos negativos no desenvolvimento infantil (Chandrasekaran *et al.*, 2015; Santos *et al.*, 2015).

Para mitigar a contaminação do solo por metais tóxicos, são necessárias medidas de prevenção e remediação. A adoção de boas práticas agrícolas, como o uso adequado de fertilizantes e pesticidas, a rotação de culturas e o monitoramento da qualidade do solo, é essencial para prevenir a contaminação. Além disso, técnicas de remediação, como a fitorremediação (uso de plantas para extrair, acumular ou degradar metais tóxicos) e a aplicação de agentes quelantes ou materiais adsorventes, podem ser empregadas para reduzir os níveis de metais tóxicos no solo (Chandrasekaran *et al.*, 2015).

1.2.2.1. Cádmio

O Cd é reconhecido como um dos elementos mais tóxicos e facilmente mobilizáveis no meio ambiente, com capacidade de substituir o cálcio em minerais devido ao seu raio iônico semelhante, carga idêntica e comportamento químico

análogo (Alloway; Jackson, 1991; Aoshima, 2016). Essa característica permite que o Cd penetre no organismo humano e se acumule em altos níveis em diversos órgãos (Hajeb *et al.*, 2014), distinguindo-se de outros elementos tóxicos, como o Hg e o As, por sua entrada predominante na dieta humana através do consumo de vegetais.

A exposição crônica ao Cd pode provocar a doença de itai-itai, caracterizada por disfunção renal, osteomalácia e osteoporose, decorrentes da competição do Cd com o Ca e outros nutrientes essenciais (Aoshima, 2016; Arain; Mirza; Aslam, 2015; Khan; Jhung, 2017). Adicionalmente, há associações entre a exposição ao Cd e distúrbios no metabolismo da glicose, cânceres de mama e de pulmão, infarto cerebral e insuficiência cardíaca (Khan; Jhung, 2017). A Organização Mundial da Saúde (OMS, 2011) estabeleceu que a ingestão mensal tolerável de Cd é de $25 \mu\text{g kg}^{-1}$ de peso corporal, considerando sua longa meia-vida biológica em humanos, que varia de 10 a 35 anos. A absorção deste elemento pode ocorrer tanto por ingestão quanto por inalação, e sua exposição prolongada é um fator de risco para o desenvolvimento de diversos tipos de câncer (Pan; Yu, 2011).

As fontes naturais de emissões de Cd incluem o intemperismo de rochas, partículas de solo transportadas pelo ar, incêndios florestais, material biogênico, vulcões e fontes hidrotermais (ATSDR, 2021). Por outro lado, as principais fontes antropogênicas de Cd no solo e nas águas subterrâneas advêm de emissões de combustão, lodo de esgoto, aterros, tráfego, indústria metalúrgica, mineração e incidentes industriais (Bigalke *et al.*, 2017; Merkel; Sperling, 1998; Mirlean; Roisenberg, 2006; Sprynskyy *et al.*, 2011). Uma causa comum para o aumento das concentrações de Cd no solo e nas águas subterrâneas é o uso de fertilizantes fosfatados, os quais podem conter Cd como impureza. Este mecanismo de adição de Cd ao meio ambiente tem sido objeto de estudo em diversos países (Bigalke *et al.*, 2017), evidenciando que a aplicação desses fertilizantes pode alterar quimicamente o solo e elevar as concentrações médias de Cd em alguns produtos agrícolas para entre $0,03$ a $3,0 \text{ mg kg}^{-1}$ de matéria seca, tornando os alimentos contaminados uma via significativa de entrada de Cd no organismo humano (Kabata-Pendias, 1993).

O Cd apresenta alta mobilidade em solos, o que aumenta sua biodisponibilidade para as plantas em comparação a outros metais tóxicos, como o Pb e o Cu, especialmente em condições de pH inferiores a 6,00 devido à fraca adsorção do metal por matéria orgânica, argilominerais e óxidos (Alloway; Jackson, 1991; McBride, 2003). Concentrações acima de $0,5 \text{ mg kg}^{-1}$ já podem indicar poluição

do solo por Cd (McBride, 2003). A forma tóxica deste elemento, o íon Cd^{2+} , interfere no metabolismo celular, substituindo micronutrientes em enzimas essenciais, inibindo a formação de clorofila e interferindo em diferentes fases do ciclo de Calvin, afetando a fixação fotossintética de CO_2 (Haghiri, 1973).

1.2.2.2. Chumbo

O Pb é amplamente reconhecido como um dos metais tóxicos mais prevalentes, distribuído de forma ubíqua no solo, onde não desempenha qualquer função biológica conhecida. Sua presença é comum em diversas formações geológicas, com concentrações variando significativamente entre diferentes tipos de rochas: de 2 a 18 mg kg^{-1} em rochas ígneas basálticas, 6 a 30 mg kg^{-1} em granitos, 16 a 50 mg kg^{-1} em xistos e argilas, 7 a 150 mg kg^{-1} em xistos negros, e de 1 a 30 mg kg^{-1} em arenitos (Meena *et al.*, 2020). A concentração média de Pb na crosta terrestre é estimada em aproximadamente 16 mg kg^{-1} , enquanto nos solos essa concentração oscila entre 10 a 30 mg kg^{-1} (Davies; Bailing, 1990; Wani; Ara; Usmani, 2015). Diferentes classes de solos brasileiros apresentaram teores de Pb variando de 0,52 a 36,55 mg kg^{-1} , com Latossolos exibindo concentrações entre 24 e 184 mg kg^{-1} (Pierangeli *et al.*, 2001).

A superfície do solo demonstra uma grande capacidade de acumular Pb, proveniente tanto de fontes atmosféricas quanto industriais e agrícolas. Em algumas áreas, os níveis de Pb alcançaram 3.916 mg kg^{-1} em zonas agrícolas e até 135.000 mg kg^{-1} em regiões industriais. Comumente, uma concentração de 100 mg kg^{-1} de solo é utilizada como referência para a identificação de áreas contaminadas, embora estudos sugeriram um limite de 400 mg kg^{-1} para a avaliação de risco de exposição infantil ao Pb em solos contaminados (Kabata-Pendias, 1993; Wani; Ara; Usmani, 2015).

O aumento dos níveis de Pb no solo pode ter efeitos adversos na diversidade microbiana, bem como no crescimento e metabolismo das plantas. A exposição ao Pb induz estresse oxidativo nas plantas, resultando em danos celulares e distúrbios na homeostase iônica. Isso impacta negativamente em vários aspectos do desenvolvimento vegetal, como o crescimento radicular, germinação de sementes, desenvolvimento de mudas, divisão celular, transpiração e produção de clorofila, além

de afetar a organização lamelar dos cloroplastos (GUPTA; RASTOGI; NAYAK, 2010; MAESTRI, 2010).

A toxicidade do Pb para as plantas manifesta-se em concentrações de 30 a 300 mg kg⁻¹ na matéria seca. Devido à sua baixa solubilidade e mobilidade, a absorção de Pb pelas plantas é limitada, embora o metal possa persistir por longos períodos no ambiente (Davies; Bailing, 1990; Kabata-Pendias, 1993). O Pb absorvido tende a acumular-se nas raízes, com pouca translocação para as partes aéreas da planta (McBride, 2003). Concentrações médias de Pb em alguns produtos agrícolas variam de 0,007 a 8,0 mg kg⁻¹, mas valores tão altos quanto 2.714 mg kg⁻¹ foram registrados em gramíneas forrageiras próximas a áreas de mineração (De Koning, 1974).

A presença de Pb nas plantas representa um risco de entrada no ciclo alimentar, podendo afetar diversos órgãos humanos, com crianças particularmente vulneráveis ao envenenamento por este elemento. A acumulação progressiva de Pb no corpo humano pode levar a uma ampla gama de distúrbios de saúde, incluindo efeitos neurológicos, hematológicos, cardiovasculares, reprodutivos e renais. Os sintomas associados à exposição ao Pb incluem dores de cabeça, perda de memória de curto prazo, confusão mental, distorção da percepção, dores musculares e articulares, distúrbios gastrointestinais, intolerâncias alimentares, alergias, problemas de visão e fadiga crônica (Augusto, 2022). Assim, a contaminação de solos agrícolas por Pb é uma preocupação significativa tanto do ponto de vista ambiental quanto nutricional.

1.2.2.3. Mobilidade de metais

A mobilidade dos metais no solo é influenciada por uma complexa interação entre diversos fatores, não ocorrendo de maneira isolada. A presença de água e variações no pH do solo são determinantes cruciais que influenciam a composição da solução do solo, afetando diretamente os processos de adsorção e as possíveis reações químicas que ocorrem dentro deste sistema (Mirsal, 2008). Além disso, as propriedades físicas do solo, tais como sua textura, e propriedades químicas, incluindo o pH, o potencial redox e a capacidade de troca catiônica (CTC), juntamente com a presença de matéria orgânica, têm um papel significativo na determinação da forma e mobilidade dos metais no ambiente do solo (De Almeida Duarte *et al.*, 2017).

Essas interações são fundamentais para entender a dinâmica dos metais no solo, uma vez que afetam tanto a disponibilidade desses metais para as plantas quanto o seu potencial de lixiviação para as águas subterrâneas. A matéria orgânica, por exemplo, pode formar complexos com metais, alterando sua mobilidade e biodisponibilidade. De maneira similar, o pH do solo pode influenciar a solubilidade dos metais, com condições ácidas geralmente aumentando a mobilidade de muitos metais tóxicos. Portanto, o manejo adequado do solo, considerando esses fatores, é essencial para minimizar os riscos de contaminação por metais e proteger tanto a saúde do ecossistema quanto a saúde pública.

1.2.3. Legislação brasileira sobre a contaminação por metais tóxicos

A legislação brasileira relacionada aos fertilizantes contendo micronutrientes é regulada pelo Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA), um órgão federal encarregado da supervisão da produção e comércio desses produtos, bem como da elaboração das leis que estabelecem os limites máximos permitidos para sua fabricação. A lei nº 6.894, de 16 de dezembro de 1980 (MAPA, 1980), alterada pela nº 12.890 de 10 de dezembro de 2013 (MAPA, 2013), inclui os remineralizadores como uma categoria de insumo destinado à agricultura e aborda a inspeção e fiscalização da produção e comércio de fertilizantes, corretivos, inoculantes, estimulantes ou biofertilizantes, remineralizadores e substratos para plantas, além de outras medidas. De acordo com a lei sancionada pelo Brasil em 2013, os fertilizantes são definidos como substâncias minerais ou orgânicas, naturais ou sintéticas, que fornecem um ou mais nutrientes vegetais.

Além desta, foi publicada no início de 2023 a Portaria Conjunta SDA/MAPA - IBAMA - ANVISA n. 1/2023, que estabelece os procedimentos a serem adotados para o registro de produtos microbiológicos empregados no controle de pragas ou utilizados como desfolhantes, dessecantes, estimuladores ou inibidores de crescimento. A norma revogou os atos normativos relacionados ao tema, como a Instrução Normativa Conjunta (INC) Nº 3, de 10 de março de 2006 (MAPA, 2023).

Entretanto, estabelecer concentrações máximas permitidas para micronutrientes em fertilizantes não garante a qualidade desses produtos. Além da eficiência, a responsabilidade de fiscalizar a segurança das matérias-primas utilizadas

na fabricação dos fertilizantes em relação aos teores de contaminantes é compartilhada entre o Ministério da Agricultura, Meio Ambiente, Saúde e entidades ambientalistas. Através da Instrução Normativa SDA Nº 27, de 05 de junho de 2006 (MAPA, 2006), alterada pela IN SDA Nº 7, de 12/04/2016, republicada em 02/05/2016 (MAPA, 2016), são estabelecidas as concentrações máximas admitidas para agentes fitotóxicos, patogênicos ao homem, animais e plantas, metais tóxicos, pragas e ervas daninhas em 22 tipos de fertilizantes, corretivos, inoculantes e biofertilizantes produzidos, importados ou comercializados. O artigo 2º dessa instrução normativa exige que os estabelecimentos que produzem ou importam fertilizantes, corretivos, inoculantes ou biofertilizantes realizem um controle periódico das matérias-primas e produtos em relação aos contaminantes listados na norma.

De acordo com a referida norma, os limites máximos de metais tóxicos em fertilizantes minerais que contêm o macronutriente fósforo (P) ou misturas com outros micronutrientes e nutrientes são expressos em mg kg^{-1} na massa total do fertilizante (MAPA, 2006). Para mais detalhes, consultar o Quadro 1 no Anexo I da Instrução Normativa SDA Nº 27, de 05 de junho de 2006, emitida pelo Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento.

Além disso, a resolução 420 de 2009 do Conselho Nacional do Meio Ambiente (CONAMA, 2009) estabelece critérios e valores orientadores de qualidade do solo em relação à presença de substâncias químicas e estabelece diretrizes para o gerenciamento ambiental de áreas contaminadas por essas substâncias devido a atividades humanas, sendo que, no meio agrícola, os limites máximos de Cd e Pb são 3 mg/g e 180 mg kg^{-1} respectivamente..

Desta forma, A remediação de áreas contaminadas é uma exigência legal e um compromisso social que deve ser cumprido, gerando uma grande demanda por tecnologias e oferecendo oportunidades de pesquisa científica e negócios. Dentre as várias opções de tecnologias para a remediação de solos contaminados, destacam-se a biorremediação e a fitorremediação, que visam à remoção de contaminantes do solo (Accioly; Siqueira, 2000).

As regulamentações para a contaminação do solo por metais tóxicos no Brasil, em comparação com outros países, podem variar significativamente em termos de abrangência, rigor e aplicação. De acordo com a Resolução CONAMA Nº 420, promulgada em 2009, o Brasil estabeleceu critérios para a prevenção da contaminação do solo e diretrizes para a gestão de áreas contaminadas (Brasil, 2009).

No entanto, a implementação e fiscalização dessas regulamentações podem ser desafiadoras em um país de dimensões continentais, onde as disparidades regionais e a disponibilidade de recursos podem influenciar a eficácia das ações regulatórias.

Em contraste, países como os Estados Unidos e na União Europeia, possuem regulamentações ambientais mais consolidadas e rigorosas para a gestão da contaminação do solo. Essas jurisdições estabelecem limites máximos permitidos para a presença de metais tóxicos nos solos e impõem uma aplicação rigorosa desses padrões. As regulamentações nos Estados Unidos, por exemplo, são gerenciadas pela Agência de Proteção Ambiental dos EUA (EPA), que supervisiona a gestão e remediação de áreas contaminadas.

Além disso, a capacidade de fiscalização e execução das leis ambientais também pode variar entre os países. Em nações mais desenvolvidas, a infraestrutura governamental e os recursos estão geralmente mais disponíveis para monitorar e fazer cumprir as regulamentações ambientais. Em contrapartida, em países em desenvolvimento, esses recursos podem ser mais limitados, o que pode resultar em desafios na implementação eficaz das leis ambientais.

Gonçalves Jr. *et al.* (2014), ao discorrer sobre a presença de metais nos solos, relatou que, alguns países já começaram a lidar com esses desafios, estabelecendo limites máximos aceitáveis para metais nos solos, conforme ilustrado na Tabela 1. No contexto brasileiro, o estado de São Paulo foi pioneiro nessa área, através da Companhia Ambiental do Estado São Paulo (CETESB), que elaborou um documento regulamentando os valores orientadores para a qualidade do solo e da água (CETESB, 2013).

Tabela 1: Limites máximos permitidos de metais (Cd e Pb) nos solos de alguns países.

País	Metal (mg kg ⁻¹)	
	Cd	Pb
União Europeia	1-3	50-300
Estados Unidos	1,6	50-300
Polônia	1-3	70-150
Alemanha	3-1,5	100
Reino Unido	3-15	500-2000
Áustria	5	100
Brasil	3	180

FONTE: Gonçalves Jr. *et al.* (2014), adaptado pela autora (2023).

1.2.4. Biorremediação

A remoção de metais tóxicos do solo pode ser realizada por meio de métodos físicos, químicos ou biológicos. Os métodos físico e químicos incluem substituição da camada de solo, remoção eletrocinética, tratamento térmico, lavagem do solo, vitrificação e tratamento químico com cal, compostos de fosfato ou compostos orgânicos (Hou *et al.*, 2020). Cada grupo de métodos apresenta suas próprias vantagens e desvantagens. Os métodos físico-químicos são eficientes e rápidos, porém são caros e consomem muito trabalho. Além disso, podem causar mudanças drásticas nos indicadores de qualidade do solo. Portanto, os métodos físicos e químicos não oferecem uma solução ideal para a agricultura. O tratamento biológico é uma boa alternativa, pois é econômico e ecologicamente sustentável. Os métodos biológicos envolvem o uso de plantas (fitorremediação) e microrganismos (biorremediação) (Donald G. Rogich; Grecia R. Matos, 2008), e já tiveram sua eficácia constatada em diversos estudos (Aseman-Bashiz *et al.*, 2014; Cruz-Hernández *et al.*, 2022; Hussain *et al.*, 2022; Leonel *et al.*, 2018; Rehman *et al.*, 2023; Santos *et al.*, 2018; Soares *et al.*, 2011).

A biorremediação tem recebido muita atenção científica nos últimos anos. Seus mecanismos estão baseados em transformações redox, absorção e alterações na reação do meio. Atualmente, os métodos mais comuns de remoção microbiana de metais tóxicos são bioabsorção-bioacumulação, produção de biossurfactantes, biolixiviação, oxidação-redução, biovolatilização, biomineralização, entre outros (Yin *et al.*, 2015). Os microrganismos são capazes de desenvolver sistemas de proteção para evitar efeitos negativos; no entanto, a maioria dos metais tóxicos destrói as membranas das células microbianas.

Portanto, a capacidade dos microrganismos de permanecerem viáveis sob a influência de metais tóxicos na restauração de áreas perturbadas é de importância crucial (Li *et al.*, 2016). De acordo com dados da literatura, é possível usar *Bacteroidetes* e *Firmicutes* para áreas contaminadas com As. Sua abundância está positivamente correlacionada com esse poluente em áreas contaminadas. Também se observa que as proteobactérias são resistentes a altas concentrações de Zn, bem como ao Pb (Tóth *et al.*, 2016a).

Embora a preocupação com a contaminação do solo seja recente, existem várias técnicas de remediação que podem ser aplicadas para reduzir as

concentrações de contaminantes a níveis seguros para a saúde humana e impedir sua dispersão no ambiente (Huang *et al.*, 2005). A descontaminação pode ocorrer *in situ* ou *ex situ*, sendo que a preferência tem sido cada vez mais pela remediação *in situ*, devido aos menores custos, maior aceitação pela população e ausência de contaminações secundárias (Tavares; Oliveira; Salgado, 2013b).

Algumas técnicas de descontaminação são classificadas como biológicas, incluindo a biorremediação e a fitorremediação. A biorremediação envolve o uso de microrganismos capazes de transformar contaminantes em substâncias menos tóxicas (Colla *et al.*, 2008). A fitorremediação utiliza plantas para descontaminação de solos contaminados, aproveitando a capacidade das plantas de absorver, acumular e/ou degradar contaminantes. As plantas podem remover os contaminantes do solo através de vários mecanismos, como a absorção pelas raízes, volatilização, fotodegradação e transformação bioquímica (Tavares, 2009). Além disso, as plantas podem promover a estabilização de metais tóxicos por meio da formação de complexos com compostos orgânicos e a redução da lixiviação desses contaminantes para os lençóis freáticos (Oliveira Neto *et al.*, 2021).

As propriedades do solo e as condições climáticas desempenham um papel fundamental na determinação da disponibilidade de metais tóxicos nos ecossistemas terrestres. Fatores como o pH do solo, sua textura, além da temperatura e das variações climáticas, são cruciais para entender a dinâmica desses contaminantes (Khan; Jhung, 2017; Zhong *et al.*, 2020). Baixos valores de pH favorecem o aumento da presença de metais tóxicos no solo, pois diminuem a adsorção desses íons metálicos nas partículas do solo, intensificando a competição entre íons metálicos livres e outros cátions na solução do solo, o que pode afetar adversamente o metabolismo dos microrganismos.

A textura do solo também influencia a disponibilidade de metais tóxicos, com solos argilosos de textura fina apresentando menor disponibilidade desses metais, em comparação com solos arenosos, que mostram maior disponibilidade. Além disso, condições climáticas com temperaturas e precipitações elevadas tendem a aumentar a solubilidade e a biodisponibilidade dos metais, o que exige estratégias de remediação focadas na regulação do pH do solo, especialmente em regiões de clima quente e úmido, para manter as concentrações de metais tóxicos em níveis baixos (Zhong *et al.*, 2020).

A contaminação por metais tóxicos pode causar impactos significativos na

diversidade e estrutura de comunidades microbianas, dependendo do grau de exposição e da capacidade de adaptação desses organismos aos contaminantes (Dhaliwal *et al.*, 2020). Uma abordagem eficaz para a biorremediação envolve o uso de microrganismos autóctones que são naturalmente resistentes ou tolerantes aos metais tóxicos, ou a inoculação de espécies com conhecido potencial de biorremediação.

Bactérias como *Bacillus subtilis* e *Torulopsis bombicola* são capazes de produzir biossurfactantes, incluindo surfactina, ramnolipídios, soforolipídios, escina e saponina, que podem solubilizar metais no solo, facilitando sua biodegradação (Açikel; Erşan; Açikel, 2011). Essas bactérias também podem aumentar a tolerância das plantas aos metais tóxicos e promover o crescimento vegetal em solos contaminados (Mishra; Singh; Arora, 2017).

Além disso, bactérias marinhas e geneticamente modificadas têm sido exploradas para o tratamento de resíduos contaminados com Hg, convertendo metilmercúrio em Hg (II) e, em seguida, reduzindo-o a Hg (0), uma forma menos tóxica e volátil (Chen; Wilson, 1997; Dash; Das, 2015).

Além disso, diferentes espécies vegetais apresentam habilidades variadas na remediação de metais tóxicos, devido a diferenças em seus mecanismos de tolerância e acumulação. Algumas espécies, conhecidas como hiperacumuladoras, têm a capacidade de acumular grandes quantidades de metais tóxicos em suas partes aéreas, enquanto outras espécies são mais eficientes na remoção de metais do solo através do sistema radicular (Colla *et al.*, 2008).

Na fitorremediação, podem ocorrer mecanismos podem de maneira direta ou indireta para reduzir e/ou remover contaminantes por meio das plantas. Nos mecanismos diretos, os compostos são absorvidos, acumulados ou metabolizados nos tecidos, através da mineralização (Pires; Procópio; De Souza, 2006). No mecanismo indireto, as plantas extraem contaminantes das águas subterrâneas, levando assim a uma redução na fonte de contaminação, ou quando a presença de plantas cria um ambiente propício para o aumento da atividade microbiana, resultando na redução do contaminante (Tavares, 2009).

A fitorremediação é uma estratégia ambientalmente amigável que utiliza plantas para limpar solos, águas ou ar contaminados. Conforme elucidado por Pletsch *et al.* (1999), esta técnica pode ser dividida em várias categorias, cada uma com seu mecanismo específico de ação para mitigar diferentes tipos de contaminantes. Estas

categorias incluem:

1. Fitoextração: Este processo envolve a absorção de contaminantes pelo sistema radicular das plantas e seu armazenamento em raízes ou outros tecidos vegetais sem modificação do contaminante. A planta pode então ser colhida e descartada de forma segura, facilitando a remoção de contaminantes do solo.
2. Fitodegradação ou Fitotransformação: Neste caso, as plantas não apenas absorvem os contaminantes, mas também os bioconvertem em formas menos tóxicas através de processos metabólicos nas raízes ou outros tecidos (catabolismo ou anabolismo), ajudando a neutralizar os efeitos nocivos desses contaminantes.
3. Fitovolatilização: Aqui, as plantas absorvem o contaminante e o convertem em uma forma volátil, que é posteriormente liberada para a atmosfera. Esse processo é particularmente útil para a remoção de metais tóxicos ou compostos orgânicos que podem ser transformados em formas gasosas.
4. Fitoestimulação ou Rizodegradação: Envolve a estimulação da atividade microbiana no solo pelos exsudatos das raízes das plantas, o que acelera a biodegradação dos contaminantes presentes no solo.
5. Rizofiltração: Este método é aplicado principalmente para tratar águas contaminadas, onde as plantas absorvem e concentram contaminantes nos tecidos vegetais. Posteriormente, o material vegetal contaminado é removido e descartado de forma apropriada.
6. Fitoestabilização: Diferente das outras técnicas que focam na remoção do contaminante, a fitoestabilização visa imobilizar, lignificar ou humificar o contaminante no solo, prevenindo a sua dispersão ou migração para outras áreas ou para as águas subterrâneas.

Estudos têm demonstrado que várias espécies vegetais, como *Brassica juncea* (mostarda), entre outras, são capazes de acumular e tolerar altas concentrações de metais tóxicos em solos contaminados (Mourato *et al.*, 2015), *Zea mays* (milho) (Aladesanmi *et al.*, 2019; Ruiz-Huerta *et al.*, 2022), *Helianthus annuus* (girassol) (Dhiman *et al.*, 2017). Essas plantas podem ser cultivadas em áreas contaminadas, promovendo a remediação do solo ao longo do tempo.

Além disso, a fitorremediação pode ser combinada com técnicas de melhoramento do solo, como adição de compostos orgânicos, para aumentar a eficiência do processo de remediação. A adição de compostos orgânicos ao solo pode

estimular o crescimento das plantas e melhorar a biodisponibilidade dos metais tóxicos, facilitando sua absorção e remoção (Tavares, 2009).

Além da fitorremediação, outra abordagem promissora na remediação de solos contaminados é a biorremediação, que envolve o uso de microrganismos, como bactérias, para degradar os contaminantes presentes no solo. Estudos têm demonstrado que certas espécies bacterianas possuem a capacidade de metabolizar e transformar substâncias tóxicas, contribuindo para a redução dos níveis de contaminação (Pal; Paul, 2008). Estudos realizados por Soares *et al.*, (2013) demonstraram que a maioria das plantas testadas como fitorremediadoras são as leguminosas (53%), seguidas das gramíneas (*Poaceae*) (38%) e em menor número de espécies nas famílias *Asteraceae* (4%), *Cruciferae* (*Brassicaceae*) (4%) e *Amaranthaceae* (1%) (Figura 1).

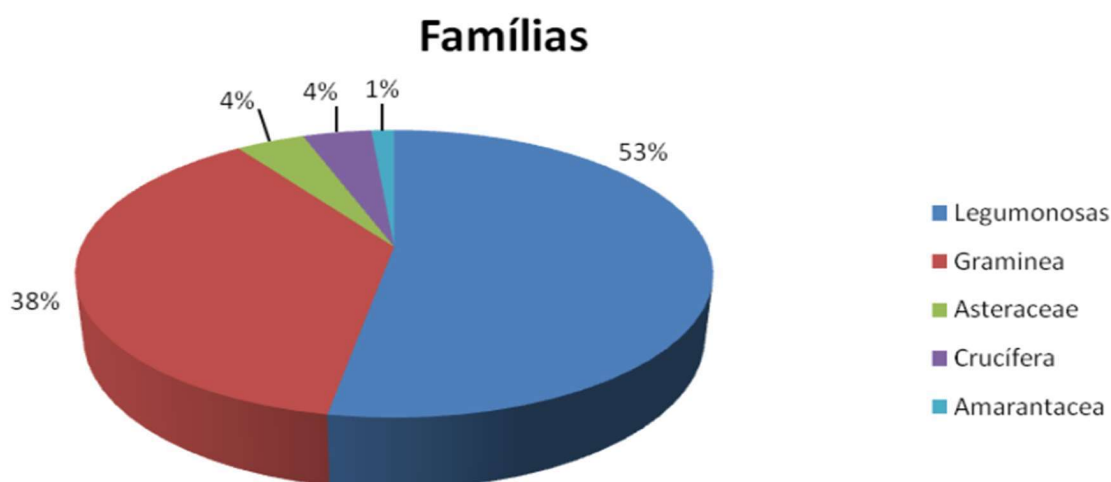


Figura 1: Porcentagem das espécies testadas como fitorremediadoras até 2013, pertencentes às famílias *Leguminosae*, *Poaceae*, *Asteraceae*, *Cruciferae* e *Amaranthaceae*. FONTE: Soares *et al.*, (2013).

1.2.5. Uso de plantas e microrganismos para a redução ou remoção no teor de metais tóxicos

Os microrganismos representam uma fonte inestimável de diversidade genética no planeta, embora essa diversidade ainda seja largamente subestimada e pouco

explorada. Eles são encontrados em quase todos os ambientes terrestres, constituindo a maior biomassa viva e desempenhando funções cruciais para a manutenção da vida na Terra. As bactérias, em particular, são fundamentais para muitos processos biológicos e são uma fonte potencial de bioprodutos valiosos (Rodrigues, Valera, 2004).

No solo, uma rica microbiota é responsável por uma série de reações bioquímicas vitais, incluindo a decomposição da matéria orgânica, que libera nutrientes essenciais para o desenvolvimento das plantas (Sanon *et al.*, 2009). Estimativas baseadas em métodos moleculares indicam a presença de mais de 4.000 espécies de microrganismos por grama de solo, incluindo bactérias, fungos, algas, protozoários e nematoides, particularmente na rizosfera, a região do solo influenciada pelas raízes das plantas (Hutchinson; Symington, 1997; Montesinos, 2003).

A diversidade microbiana tem sido reconhecida como um indicador valioso da qualidade do solo, especialmente com o avanço das técnicas de biologia molecular na última década, que têm facilitado a identificação e quantificação dos microrganismos em amostras ambientais (Tiedje *et al.*, 2001). Esses microrganismos podem ser classificados em grupos funcionais de acordo com seu papel nos ciclos biogeoquímicos, como o ciclo do nitrogênio e o ciclo do carbono, incluindo aqueles que degradam polímeros complexos (Torsvik; Øvreås, 2002).

A ideia de usar a diversidade microbiana como um indicador da qualidade do solo deriva da compreensão de que os microrganismos são essenciais para a reciclagem de energia e nutrientes, realizando funções que outros organismos mais complexos, como os animais, não podem executar (Loreau, 2001).

Embora a maioria dos microrganismos seja sensível aos metais tóxicos, existem bactérias resistentes a esses elementos que possuem mecanismos capazes de converter formas tóxicas em produtos menos nocivos (Abdelatey *et al.*, 2011; Sotero-Martins; Viana; Carvajal, 2014).

A resistência bacteriana aos metais tóxicos é resultado de mecanismos intrínsecos e pode ser selecionada e favorecida pela exposição prolongada a esses contaminantes, permitindo que as espécies bacterianas resistentes prosperem independentemente dos níveis de contaminação no solo (Hutchinson; Symington, 1997; Souza, 2013). Além disso, a presença de metais tóxicos atua como agente seletivo que influencia a composição e evolução das comunidades bacterianas em um determinado solo (Hassen *et al.*, 1998; Jansen *et al.*, 1994; Nithya; Gnanalakshmi;

Pandian, 2011; Silver; Misra, 1984).

A interação entre cátions de metais tóxicos e microrganismos é um campo de estudo significativo, especialmente quando se considera o impacto ambiental e a biotecnologia para a remediação de locais contaminados. Como observado por Nies (1999), cátions de metais tóxicos, particularmente aqueles com números atômicos elevados, tendem a se ligar a grupos sulfidrilas nas células, o que resulta na inibição de enzimas essenciais para as reações intracelulares normais. Isso evidencia o potencial tóxico de metais tóxicos para os microrganismos e, por extensão, para os ecossistemas mais amplos.

No entanto, estudos por Silver e Misra (1988), Mindlin *et al.* (2001), Chen *et al.* (2015), Chen *et al.* (2019) e Niño-Martínez *et al.* (2019) demonstraram que algumas bactérias, mesmo em condições de concentrações tóxicas de metais, desenvolvem mecanismos genéticos específicos para resistir a esses metais. Isso inclui sistemas de efluxo que promovem a extrusão de metais da célula, mitigando sua toxicidade.

Pérez (2006) ampliou o entendimento sobre a interação entre microrganismos e metais, mostrando que certos microrganismos podem afetar a especificação de metais através de seus efeitos na imobilização e mobilização. Esses processos influenciam diretamente as fases solúveis e insolúveis dos metais no ambiente. A mobilização envolve a conversão de estados insolúveis, como sulfetos ou óxidos metálicos, em formas solúveis através de processos como lixiviação, metilação, quelatação e a produção de sideróforos. Por outro lado, a imobilização envolve a bioacumulação intracelular de metais, transformando-os de um estado solúvel para um estado insolúvel mais estável.

Os mecanismos de resistência aos metais tóxicos em microrganismos são frequentemente mediados por operons, que são agrupamentos de genes funcionando como unidades de transcrição reguladas por proteínas específicas. Para o Cd, genes e proteínas frequentemente associados à resistência incluem *czcAB*, *czcD* e *CadA*, enquanto para o Pb, os genes *Pbr* e *PbrAB* são comuns (Lanna *et al.*, 2022; Mendonça, 2024; Nies, 1999; Silver; Misra, 1988).

A biorremediação, um processo que utiliza agentes biológicos para a remoção de resíduos tóxicos do meio ambiente, é baseada na capacidade dos microrganismos de converter substâncias nocivas em compostos menos tóxicos (Krastanov; Alexieva; Yemendzhiev, 2013; Kumar; Bisht; Dhewa, 2011). Existem diversas estratégias de biorremediação, incluindo a biorremediação intrínseca ou natural, em que organismos

presentes no local são utilizados, a bioestimulação, que envolve a adição de agentes estimulantes como nutrientes, oxigênio e biossurfactantes, e o bioaumento, que consiste na inoculação de consórcios microbianos enriquecidos (Tonini; Rezende; Grativol, 2010).

Um exemplo de técnica de biorremediação é a fitorremediação, que utiliza plantas tolerantes a metais tóxicos para remover esses poluentes do solo. Estudos têm explorado o uso de plantas tolerantes em combinação com bactérias capazes de produzir hormônios de crescimento, como auxinas, bactérias que absorvem metais por meio da produção de substâncias poliméricas extracelulares (EPS) e bactérias capazes de solubilizar fosfato (Oliveira *et al.*, 2012).

As auxinas, especialmente o ácido indol-acético (AIA), são hormônios de crescimento sintetizados por bactérias e influenciam o crescimento das raízes, aumentando seu comprimento, número de raízes laterais e pelos radiculares (Bastian *et al.*, 1998; Fuentes-Ramirez *et al.*, 1993). Essas auxinas podem ser produzidas tanto pelos tecidos vegetais endogenamente quanto por microrganismos exogenamente, como as bactérias associadas ao solo e às plantas (Baca; Elmerich, 2007).

A produção de EPS por bactérias está relacionada à resistência aos metais tóxicos, devido à capacidade desses compostos de adsorver metais por meio de grupos funcionais presentes em sua estrutura (GUPTA *et al.*, 2006; PAL; PAUL, 2008; WANG). Esses compostos biodegradáveis apresentam propriedades como alta eficácia em condições extremas de pH, temperatura e salinidade, e grupos funcionais, como carboxila, hidroxila, amina e ácido urônico, que permitem a interação eletrostática com os metais, tornando-os aplicáveis em várias áreas biotecnológicas, incluindo a biorremediação de solos contaminados por metais tóxicos (Colin *et al.*, 2013).

O P desempenha um papel fundamental na nutrição das plantas, estimulando o crescimento do sistema radicular e melhorando a absorção de água e outros nutrientes, além de contribuir para processos metabólicos importantes, como a fotossíntese e a respiração (Khan *et al.*, 2013; Santos *et al.*, 2015). Embora alguns solos possuam teores totais de P relativamente altos, a fração disponível geralmente é baixa nos solos brasileiros, devido a fatores como textura, teor de matéria orgânica, capacidade de tamponamento, Ca, Al e Fe, o que resulta na necessidade de altas doses de fertilizantes fosfatados e, conseqüentemente, no acúmulo de metais tóxicos no solo (Santos *et al.*, 2015).

A aplicação frequente de fertilizantes fosfatados leva à formação de formas inorgânicas de P nos solos, principalmente em complexos de minerais insolúveis, que não podem ser absorvidas pelas plantas (Rengel; Marschner, 2005).

Outra pesquisa conduzida por Zhao *et al.* (2015) avaliou a eficiência da fitorremediação de solo contaminado com As utilizando uma combinação de plantas tolerantes e bactérias. Os resultados mostraram que a inoculação das plantas com bactérias promotoras de crescimento melhorou significativamente o crescimento das plantas e a acumulação de As, resultando em uma remoção mais eficiente desse metal pesado do solo (Zhao *et al.*, 2015a)

Além disso, estudos têm demonstrado que bactérias resistentes a metais tóxicos podem desempenhar um papel importante na solubilização e mobilização de metais no solo, tornando-os mais disponíveis para as plantas (Ahmad, 2015; Zhao *et al.*, 2015a). Essas bactérias têm a capacidade de produzir substâncias como ácidos orgânicos e sideróforos, que podem complexar e solubilizar os metais tóxicos, facilitando sua absorção pelas raízes das plantas.

Um exemplo de estudo que explora essa interação é o trabalho de Rehman *et al.* (2023), que investigou o papel das bactérias na solubilização de Zn e Cu em solo contaminado. Os resultados mostraram que a inoculação de bactérias promotoras de crescimento nas raízes das plantas aumentou significativamente a solubilização desses metais, resultando em maior absorção pelas plantas e redução da concentração no solo (Rehman *et al.*, 2023).

Portanto, a análise e compreensão da interação planta-bactéria é fundamental para o desenvolvimento de estratégias eficientes de biorremediação e tratamento de solos contaminados com metais tóxicos. A combinação de plantas tolerantes a metais tóxicos com bactérias benéficas pode aumentar a capacidade de remoção e recuperação desses solos, oferecendo uma abordagem sustentável e ecologicamente correta para lidar com a contaminação por metais tóxicos.

1.2.5.1. *Pseudomonas* spp.

O gênero *Pseudomonas* é um gênero bacteriano gram-negativo amplamente distribuído na natureza, conhecido por sua capacidade metabólica diversificada e adaptabilidade a diferentes ambientes. No âmbito da biorremediação de solos contaminados com metais tóxicos, a *Pseudomonas* tem se destacado devido à sua

tolerância e resistência a altas concentrações desses poluentes, além de suas habilidades em solubilização, imobilização, complexação, oxidação e redução dos metais presentes.

Um estudo relevante realizado por Miller *et al.* (2009a), avaliou a eficácia da bactéria *Pseudomonas putida* KT2440 na biorremediação de solos contaminados com Cd. Os resultados mostraram que a *Pseudomonas putida* KT2440 foi capaz de reduzir eficientemente a concentração de Cd no solo, através de processos de complexação e oxidação-redução, promovendo a remediação do solo contaminado. (Miller *et al.*, 2009b).

Outra pesquisa relevante foi conduzida por (Zhou *et al.*, 2020), que investigou a capacidade da *Pseudomonas* para a biorremediação de solos contaminados com Pb. Os resultados demonstraram que a bactéria *Pseudomonas* spp. foi capaz de promover a solubilização e imobilização do Pb no solo, reduzindo significativamente a disponibilidade desse metal tóxico para os organismos vivos.

Além disso, estudos têm demonstrado que a *Pseudomonas* é capaz de produzir e liberar sideróforos, substâncias orgânicas de baixo peso molecular capazes de quelar íons metálicos, facilitando assim a mobilização e a absorção desses metais pelas plantas. Um exemplo é o estudo de Hussain *et al.* (2022), que investigou a capacidade da *Pseudomonas* para a biorremediação de solos contaminados com Zn. Os resultados indicaram que a bactéria *Pseudomonas* spp. produziu sideróforos que aumentaram a disponibilidade de Zn para a planta *Arabidopsis thaliana*, facilitando sua absorção e minimizando os efeitos tóxicos desse metal (Hussain *et al.*, 2022)

O estudo de Tangahu *et al.* (2011) investigou o papel da bactéria *Pseudomonas putida* na biorremediação de solos contaminados com Pb, Cd e Zn. Os resultados revelaram que a *Pseudomonas putida* apresentou uma alta resistência a metais tóxicos e foi capaz de remover efetivamente esses metais do solo, sugerindo seu potencial como um agente de biorremediação em solos contaminados (Tangahu *et al.*, 2011).

Por fim, um estudo conduzido por Parvatiyar *et al.* (2005) investigou a capacidade da bactéria *Pseudomonas aeruginosa* para a biorremediação de solos contaminados com As. Os resultados mostraram que a *Pseudomonas aeruginosa* foi capaz de solubilizar e imobilizar o As presente no solo, reduzindo significativamente sua toxicidade e oferecendo uma estratégia promissora para a remediação de solos contaminados com As (Parvatiyar *et al.*, 2005).

Portanto, as pesquisas mencionadas evidenciam o potencial da bactéria *Pseudomonas* na biorremediação de solos contaminados com metais tóxicos. A capacidade da *Pseudomonas* em solubilizar, imobilizar, complexar, oxidar e reduzir esses metais é fundamental para a remediação ambiental. Além disso, a produção de sideróforos pela *Pseudomonas* contribui para o aumento da disponibilidade desses metais para as plantas, facilitando sua absorção e promovendo a fitorremediação.

1.2.5.2. *Azospirillum* spp.

O gênero *Azospirillum* é composto por bactérias gram-negativas, encontradas em solos e plantas, e têm sido estudadas no contexto da biorremediação de solos contaminados com metais tóxicos. Essas bactérias são conhecidas por sua capacidade de fixar N, promover o crescimento de plantas e, mais recentemente, pela sua atuação em processos de biorremediação.

Diversas espécies de *A. brasilense* têm sido relatadas como tolerantes a metais tóxicos, como Pb, Cd, Hg, Cu e Zn. Estudos de Cruz-Hernandes *et al.* (2017) demonstraram que as cepas de *A. brasilense* foram capazes de crescer em concentrações elevadas de metais tóxicos, apresentando resistência e capacidade de bioacumulação desses metais. Além disso, essas cepas mostraram-se eficientes na promoção do crescimento de plantas em solos contaminados, através da liberação de compostos quelantes e da produção de fitormônios (Cruz-Hernández *et al.*, 2022).

O uso de inoculantes da espécie *A. brasilense* pode significativamente diminuir a necessidade de fertilizantes químicos, em particular os que são baseados em N, quando aplicados em conjunto com a rizosfera de plantas leguminosas. Esse inoculante específico, a base de *A. brasilense*, oferece uma variedade de vantagens para as plantas que recebem a inoculação. Entre esses benefícios, observa-se um incremento na densidade e extensão dos pelos radiculares, bem como um crescimento acentuado das raízes laterais. A bactéria também estimula a produção de hormônios vegetais importantes, tais como auxinas, giberelinas, e citocininas, além de óxido nítrico e poliaminas. Contribui ainda para a solubilização do P e para a fixação biológica de N, influenciando positivamente tanto os aspectos morfológicos quanto fisiológicos das plantas (Dobbelaere; Vanderleyden; Okon, 2003)

Esses estudos ilustram a relevância do gênero *A. brasilense* na biorremediação de solos contaminados com metais tóxicos. Através de suas propriedades metabólicas, essas bactérias podem promover a imobilização, degradação ou transformação desses poluentes, contribuindo para a recuperação ambiental.

1.2.6. Crambe no contexto da biorremediação

O crambe (*Crambe abyssinica* Hochst), originário do Mediterrâneo, é uma planta oleaginosa pertencente à família das crucíferas. Dependendo da estação do ano e da densidade do plantio, pode alcançar alturas de 1 a 2 metros e apresenta flores brancas ou amarelas. As sementes, de cor marrom esverdeada e diâmetro variando entre 0,8 e 2,6 mm, são armazenadas em pequenas cápsulas, com cada cápsula contendo uma única semente (Falasca *et al.*, 2010). O cultivo de crambe começou provavelmente na União Soviética, com pesquisas experimentais sendo realizadas na Rússia, Suécia e Polônia após a Segunda Guerra Mundial (White; Higgins, 1966). Esta cultura é conhecida por sua ampla capacidade de adaptação climática, florescendo aproximadamente 35 dias após a germinação e com a colheita ocorrendo em torno de 90 a 100 dias após a emergência. As sementes de crambe possuem um teor de óleo que varia de 35,6 a 42,8% (Castleman; Pymer; Greenwood, 1999), sendo notável pelo alto conteúdo de ácido erúico, um ácido graxo de cadeia longa usado em aplicações industriais especializadas, representando cerca de 50 a 60% do óleo (Buchanan; Duke, 1981). Sua baixa exigência de insumos, colheita mecanizada e possibilidade de plantio como cultura de inverno, após a soja, tornam o crambe particularmente atraente para produtores de soja (Falasca *et al.*, 2010).

O óleo de crambe tem aplicações diversas, incluindo uso como lubrificante, inibidor de corrosão, ingrediente para borracha sintética, filmes plásticos, náilon e adesivos para isolamento elétrico. A partir do óleo, também se pode obter erucamida, utilizada na fabricação de cosméticos (Stolarski *et al.*, 2019).

Em um contexto de busca por culturas oleaginosas de interesse industrial, o crambe destaca-se não apenas pela qualidade de seu óleo rico em ácido erúico, mas também pela sua resistência a pragas e doenças, adaptabilidade climática e agrônômica (Bassegio *et al.*, 2020). A crescente demanda por biocombustíveis, impulsionada pelas mudanças climáticas e pela escassez de petróleo, que pressiona o uso de terras agrícolas para produção de biomassa energética, elevando os custos

dos alimentos, posiciona o crambe como uma cultura promissora. Na Europa, o biodiesel representa 80% do consumo total de biocombustíveis de transporte, evidenciando o papel dos biocombustíveis na diversificação da matriz energética (Costa *et al.*, 2019).

Entre as plantas utilizadas na biorremediação de solos contaminados, o crambe (*Crambe abyssinica*) tem sido objeto de estudos devido às suas características favoráveis. O crambe é uma planta oleaginosa pertencente à família Brassicaceae, conhecida por sua alta capacidade de tolerância a condições adversas, como solos contaminados. Estudos têm demonstrado que o crambe é capaz de acumular metais tóxicos em sua biomassa (espécie hiperacumuladora), removendo-os do solo e reduzindo sua disponibilidade. Essa capacidade de fitoextração está relacionada à formação de complexos metal-ligante na planta, resultando em redução da concentração de metais no solo (Gonçalves Jr *et al.*, 2020; Gonçalves Jr. *et al.*, 2013; Hu *et al.*, 2015; Paulose; Kandasamy; Dhankher, 2010)

Diversos estudos têm sido conduzidos para investigar o potencial do crambe na biorremediação de solos contaminados por metais tóxicos. Por exemplo, em um estudo realizado por Schwantes *et al.* (2020), verificou-se que biomassa modificada de crambe apresentou resultados satisfatórios na remoção de Zn^{2+} da água, indicando que esses materiais são alternativas viáveis para a remediação ambiental, uma vez que os adsorventes baseados em crambe podem conter grupos funcionais, que podem ser responsáveis pela adsorção de Zn^{2+} . (Schwantes *et al.*, 2020)

Em outro estudo, os autores analisaram a eficácia do subproduto das sementes de *Crambe abyssinica* Hochst como biossorvente para a remoção de íons Cd de águas residuais. Ela concluiu que o uso do subproduto de crambe como biossorvente para remoção de Cd em águas residuais não apenas é uma alternativa viável ao carvão ativado, mas também não requer tratamento prévio, tornando-se assim um material sustentável com alta aplicabilidade e baixo impacto ambiental (Rubio *et al.*, 2013).

Esses estudos evidenciam o potencial do crambe na biorremediação de solos contaminados com metais tóxicos, seja por meio da fitoextração ou da fitoestabilização. A capacidade de acumular esses metais em sua biomassa e reduzir sua disponibilidade no solo torna o crambe uma opção viável para a recuperação de áreas contaminadas.

Embora a literatura científica tenha demonstrado a eficácia de várias espécies

vegetais e microrganismos na biorremediação de solos contaminados por metais potencialmente tóxicos, constata-se uma lacuna significativa no que diz respeito ao estudo da associação entre *Crambe abyssinica* e microrganismos no contexto da biorremediação. Conforme pesquisas realizadas em bancos de dados científicos e literatura correlata descritas anteriormente, não há evidências ou estudos anteriores que examinem a sinergia entre esses dois agentes na tarefa de descontaminação do solo, apenas de casos em que o crambe está sendo isolado de forma isolada. Essa lacuna no conhecimento justifica a importância deste trabalho, que busca avaliar o potencial sinérgico entre essas duas entidades. Caso comprovada tal sinergia, poder-se-ia apresentar uma alternativa eficaz e sustentável para a descontaminação do solo, ampliando as ferramentas de biorremediação existentes e contribuindo para a saúde do nosso planeta.

1.2.7 Interação entre metais tóxicos, solo, plantas e microrganismos

Metais pesados tóxicos, como Cd e Pb, são reconhecidos como poluentes ambientais significativos que podem afetar negativamente a saúde e a produtividade das plantas quando presentes em níveis elevados no solo agrícola (Maksymiec, 2007; Shahid *et al.*, 2015). Esses metais, devido à sua resistência à degradação, podem se acumular e persistir no solo por longos períodos, resultando em contaminação contínua se não forem absorvidos pelas plantas ou removidos (Ghori *et al.*, 2019; Wuana; Okieimen, 2011). Elementos como Cd e Pb são particularmente prejudiciais, causando impactos adversos em praticamente todos os níveis de contaminação (Tiwari; Lata, 2018; Tóth *et al.*, 2016).

A contaminação natural dos solos por Cd e Pb pode ocorrer devido aos materiais que formaram o solo ao longo de milhares de anos. Esses metais pesados tóxicos estão presentes na crosta terrestre e podem ser liberados no ambiente através do intemperismo e erosão de rochas, bem como de processos atmosféricos e vulcânicos. Emissões de gases de atividade vulcânica, queima de florestas e transporte pelo vento de partículas de fuligem e solo são fontes naturais de contaminação (Bouida *et al.*, 2022).

As concentrações de metais pesados tóxicos no solo podem variar amplamente devido à diversidade de tipos de solos e métodos de extração e análise utilizados. O Cd e o Pb, frequentemente associados à poluição e ao risco ecológico, têm concentrações naturais que podem ser difíceis de determinar devido à influência

antropogênica em quase toda a superfície terrestre. Assim, usa-se o termo "concentração de base" (*background*) para descrever os níveis naturais observados durante estudos de monitoramento (Guilherme *et al.*, 2005; Rice, 1999).

No Brasil, a contaminação natural por Cd e Pb nos solos pode ser atribuída à geologia local e aos processos de formação dos solos. A presença desses metais em solos brasileiros varia conforme o material de origem e os processos de intemperismo envolvidos. Solos formados "*in situ*" sobre rochas básicas tendem a apresentar maiores teores de metais pesados tóxicos em comparação com aqueles formados sobre granitos, gnaisses, arenitos e siltitos (Oliveira; Mattiazzo, 2001; Valadares, 1975).

Estudos indicam que solos com maior teor de argila e matéria orgânica podem apresentar maiores concentrações de Cd e Pb, onde, em amostras de Latossolos, Podzólicos, Cambissolo, Litossolo e Terra Roxa Estruturada no Paraná, foram encontradas correlações positivas entre a quantidade de argila e os teores de Cr, Pb, Zn e Mo (Fadigas *et al.*, 2002).

No Paraná, estudos revelam que solos derivados de diferentes materiais de origem apresentam variações significativas nas concentrações de metais pesados tóxicos. Solos argilosos, por exemplo, podem conter concentrações naturais de Pb variando entre 1,5 e 70 mg/kg, com um valor de base mundial de 25 mg/kg. Para o Cd, os teores esperados em solos argilosos não contaminados variam de 0,08 a 1,61 mg/kg (Kabata-Pendias, 1993).

A presença natural de Pb nos solos do Paraná pode ser atribuída ao intemperismo químico de rochas magmáticas e sedimentos argilosos, resultando em concentrações que variam entre 10 e 40 mg/kg. Em rochas calcárias, os teores de Pb geralmente variam entre 0,1 e 10 mg/kg. A abundância média de Pb na crosta terrestre é estimada em cerca de 15 mg/kg, refletindo os teores encontrados em solos naturais sem a ação antrópica (Kabata-Pendias; Pendias, 2001a).

Entre as atividades que aumentam as concentrações de Cd no meio ambiente, as mais proeminentes incluem as emissões atmosféricas, o uso de agroquímicos nas plantações, o descarte inadequado de pilhas e baterias contendo Cd, bem como o descarte irregular de resíduos domésticos, urbanos e industriais (Bergkvist *et al.*, 2003; Gimeno-García; Andreu; Boluda, 1996; Lee; Choi; Kang, 2015; Liang *et al.*, 2017). Por outro lado, as contaminações por Pb são majoritariamente causadas por atividades de mineração, indústrias metalúrgicas, uso de fertilizantes e pesticidas na

agricultura, e pela queima de combustíveis fósseis (Paoliello; De Capitani, 2007). Esses metais tóxicos, quando presentes na atmosfera, podem se depositar em solos, corpos d'água e superfícies vegetais, sendo absorvidos e contaminando organismos vivos ao entrarem na cadeia alimentar, integrando assim o ciclo ar, solo, água, biota (Peralta-Videa *et al.*, 2009).

A contaminação por metais tóxicos no solo agrícola é um problema global, exacerbado por fatores geogênicos, mudanças climáticas, rápida urbanização e aumento das atividades industriais, agrícolas, domésticas, médicas e tecnológicas (Järup, 2003; Kumar *et al.*, 2016; Sharma; Agrawal; Marshall, 2008). Solos agrícolas, sendo um recurso natural não renovável, podem ser contaminados tanto por causas naturais, como o intemperismo de rochas, quanto por atividades antropogênicas, incluindo atividades industriais, descarte inadequado de resíduos, emissões veiculares e práticas agrícolas (Obinna; Ebere, 2019).

Conforme o Relatório Nacional da Pesquisa de Poluição do Solo, divulgado pelo Ministério da Proteção Ambiental e pelo Ministério de Terras e Recursos, 16,1% dos locais de amostragem em solos agrícolas ultrapassaram os padrões de qualidade ambiental (Gusmão, 2023). Dentre esses locais contaminados, os metais pesados tóxicos e os poluentes inorgânicos representam 82,8% dos compostos que excedem os padrões estabelecidos (Zeng *et al.*, 2023). Especificamente, as concentrações de Cd e Pb excederam os limites permitidos em 7,0% e 1,5% dos locais, respectivamente (Gusmão, 2023). Esses metais tendem a se acumular na camada superficial dos solos agrícolas e são prontamente absorvidos pelas plantas (Mahfooz *et al.*, 2020). Sob condições de chuva, Cd e Pb podem ser transportados por escoamento superficial e fluxos subterrâneos, contribuindo significativamente para a migração desses metais dos solos agrícolas para os ambientes circundantes (Bai *et al.*, 2022).

Contaminação Antropogênica por fertilizantes Químicos

A aplicação de fertilizantes químicos é essencial para a produção agrícola, mas pode introduzir metais pesados tóxicos no solo. Fertilizantes contendo P frequentemente possuem altos níveis de Cd e Pb como contaminantes (Mar; Okazaki; Motobayashi, 2012). A aplicação contínua desses fertilizantes tem mostrado aumentar os níveis de Cd no solo (Zhuang *et al.*, 2020). Outros fertilizantes, como sulfato de cobre (Cu), ferro (Fe) e zinco (Zn), também podem conter metais pesados tóxicos

(Atafar *et al.*, 2010). Essas contaminações provêm das matérias-primas usadas na fabricação dos fertilizantes (Samreen; Kausar, 2019).

Contaminação Antropogênica por pesticidas

Os pesticidas, amplamente utilizados na agricultura, também podem introduzir metais pesados tóxicos no ambiente. Alguns fungicidas e inseticidas contêm esses metais como ingredientes ativos, enquanto outros pesticidas podem ser contaminados durante o processo de fabricação (Abdallah Alnuwaiser, 2019). Por exemplo, análises detectaram a presença de Cr e Pb em formulações de herbicidas à base de glifosato (Defarge; Spiroux De Vendômois; Séralini, 2018b).

Contaminação Antropogênica por esterco de animais e compostagem

O uso de estercos de animais e compostagem é comum na agricultura, mas esses fertilizantes orgânicos podem conter altos níveis de metais pesados tóxicos, como Cd e Pb (Liu *et al.*, 2020). Esses metais vêm dos minerais presentes nas rações comerciais fornecidas aos animais, que os excretam através do esterco (Jensen; Larsen; Bak, 2016). Como esses metais não se decompõem durante a compostagem, aplicações repetidas podem levar à acumulação de metais pesados a níveis tóxicos no solo (Yang; Wang, 2016; Zhao *et al.*, 2015b).

Contaminação antropogênica por biossólidos de lodo de esgoto

Biossólidos de lodo de esgoto, derivados de resíduos municipais e industriais, podem ser altamente contaminados com metais pesados tóxicos como Cd e Pb, afetando a saúde das culturas quando aplicados repetidamente no solo (Oun *et al.*, 2014).

Contaminação antropogênica por irrigação com água contaminada

A irrigação com água contaminada de fontes superficiais e subterrâneas é uma via significativa de contaminação por metais pesados tóxicos, especialmente em países em desenvolvimento (Alaboudi; Ahmed; Brodie, 2018). Elementos como Pb e Cd podem ser transportados para corpos de água através do escoamento e lixiviação,

afetando o crescimento e a produtividade das culturas (Mohankumar; Hariharan; Rao, 2016).

Fatores que Afetam as Interações de Metais Pesados tóxicos com Plantas Cultivadas

O solo é um sistema heterogêneo composto por matéria orgânica, minerais, gases, líquidos e uma variedade de microrganismos que influenciam as interações entre as partículas do solo e os íons. Esses íons podem passar por processos de redução, oxidação, adsorção, precipitação ou dessorção, o que afeta sua mobilidade no ambiente e sua disponibilidade para os organismos (Tavares, 2013).

Diversos fatores do solo, plantas e metais influenciam a interação de metais pesados tóxicos com as plantas. Fatores do solo, como pH, teor de matéria orgânica e capacidade de troca catiônica (CTC), são cruciais (Rieuwerts *et al.*, 1998). A biodisponibilidade dos metais pesados tóxicos é geralmente maior em pH ácido (Blake; Goulding, 2002).

A força de retenção dos íons na interface solo-solução depende do tipo de interação entre os íons e a composição do solo, variando conforme o nível de energia dessas interações (Tavares, 2013). Dessa forma, o comportamento dos íons no solo é flexível e varia de acordo com as propriedades específicas de cada tipo de solo.

Os solos tropicais, como os encontrados no Brasil, são formados por intenso intemperismo, o que resulta em frações minerais com altos teores de óxidos e hidróxidos. Esses minerais têm seus sítios de troca bastante sensíveis à alteração do pH do solo, podendo adquirir cargas (Lange, 2012). Portanto, o pH é o fator mais importante a ser considerado nas reações de precipitação-dissolução, pois influencia diretamente na adsorção de íons metálicos (Tavares, 2013).

A composição da rocha matriz e o tamanho das partículas do solo determinam a presença de carbonatos e sulfatos, que interagem com os íons metálicos presentes, influenciando também sua mobilidade no solo (Lange, 2012). A matéria orgânica é um componente crucial da fase sólida do solo, pois seus componentes têm alta afinidade para a complexação com metais tóxicos, afetando a mobilidade dos cátions metálicos (Lange, 2012).

O Cd é encontrado principalmente como íon solúvel na forma Cd^{2+} , mas também pode estar complexado com compostos orgânicos e inorgânicos. O Cd

apresenta elevada mobilidade em solos ácidos, mas tende a se acumular na fase sólida do solo (Rieuwerts *et al.*, 2006). O Pb, por sua vez, é encontrado como íon livre (Pb^{2+}), mas pode estar complexado com óxidos e matéria orgânica devido à sua alta afinidade por esses compostos, resultando em baixa mobilidade no meio (Lange, 2012).

Respostas das Plantas à Toxicidade de Metais Pesados tóxicos

As plantas possuem mecanismos de defesa contra a toxicidade dos metais pesados tóxicos, como a ligação às paredes celulares, transporte para vacúolos e síntese de proteínas ligantes de metais, como metalotioneínas e fitoquelatinas (Cobbett; Goldsbrough, 2002). A glutathione reduzida (GSH), um derivado de aminoácidos, possui forte afinidade pelos metais pesados tóxicos, atuando como ligante para quelar esses metais e aliviar seus efeitos tóxicos (Yadav, 2010). As plantas também ativam sistemas de defesa antioxidante para dissipar o estresse oxidativo causado pelos metais pesados tóxicos (Berni *et al.*, 2019).

Absorção, Translocação e Bioacumulação

A absorção de metais pesados tóxicos pelas plantas ocorre predominantemente através das raízes, utilizando tanto mecanismos passivos quanto ativos (Yan *et al.*, 2020). A fitotoxicidade, ou o potencial tóxico dos metais para as plantas, está intrinsecamente ligada à eficiência de absorção pelas raízes, sua subsequente translocação para diferentes partes da planta e à acumulação de metais a níveis tóxicos (Siddique *et al.*, 2021).

Os transportadores de metais desempenham um papel fundamental nos processos de absorção, translocação e desintoxicação de metais pesados tóxicos dentro das plantas (Jin; Dalgarno; Atwood, 2010). A absorção inicial dos metais ocorre na epiderme das raízes, onde os íons metálicos penetram nas células radiculares. Após a entrada nos tecidos radiculares, os metais são transportados radialmente das células epidérmicas até o cilindro vascular, utilizando as vias apoplástica e simplástica (Clemens; Palmgren; Krämer, 2002). Este transporte radial é crucial para que os metais atinjam o xilema, o tecido condutor responsável pela translocação dos metais para as partes aéreas da planta. Este processo de translocação é impulsionado pela

transpiração e pelo potencial osmótico (Lombi *et al.*, 2001).

Dentro das células das raízes, os metais pesados tóxicos podem ser sequestrados em vacúolos, onde são isolados do citoplasma para minimizar sua toxicidade. Esses metais podem formar complexos com ligantes como ácidos orgânicos, peptídeos e proteínas, que auxiliam na redução de sua mobilidade e toxicidade (Hall, 2002). Nas folhas, os metais pesados tóxicos são frequentemente sequestrados tanto em vacúolos quanto nas paredes celulares. Este sequestro é essencial para impedir que os metais interfiram nas funções metabólicas vitais da planta (Clemens; Palmgren; Krämer, 2002).

As plantas também produzem compostos quelantes, como fitoquelatinas e metalotioneínas, que se ligam aos metais pesados tóxicos, formando complexos estáveis e menos tóxicos (Cobbett; Goldsbrough, 2002). Esses quelantes desempenham um papel crucial na detoxificação dos metais, facilitando o sequestro dos íons metálicos em compartimentos celulares específicos, reduzindo assim sua disponibilidade para causar danos metabólicos.

Interações com Microrganismos do Solo

Microrganismos benéficos do solo, como bactérias e fungos, são essenciais para a fertilidade do solo e a saúde das plantas. Eles auxiliam na liberação de nutrientes, reciclagem de nutrientes vegetais e fixação de nitrogênio (Dellagi; Quillere; Hirel, 2020). No entanto, metais pesados tóxicos podem inibir o crescimento e a diversidade dessas populações microbianas, afetando indiretamente a saúde e a produtividade das culturas (Abdu; Abdullahi; Abdulkadir, 2017). Algumas espécies bacterianas são naturalmente tolerantes a altos níveis de metais pesados tóxicos e podem ser utilizadas na biorremediação de solos contaminados (Wang *et al.*, 2022).

Os biossurfactantes são compostos tensoativos produzidos por microrganismos, como bactérias, fungos e leveduras, que possuem a capacidade de reduzir a tensão superficial e interfacial entre líquidos, sólidos e gases. Diferente dos surfactantes sintéticos, os biossurfactantes são biodegradáveis, possuem baixa toxicidade e são produzidos a partir de substratos renováveis, o que os torna ambientalmente mais sustentáveis e atraentes para diversas aplicações industriais e ambientais (Nitschke; Pastore, 2002).

Os microrganismos produzem biossurfactantes como metabólitos secundários

durante seu crescimento em diferentes substratos. A produção destes compostos pode ser influenciada por vários fatores, como a fonte de carbono (C), nitrogênio (N), P, magnésio (Mg), Fe e manganês (Mn) presentes no meio de cultivo, bem como pelas condições de pH, temperatura e aeração. Dentre os principais microrganismos produtores de biossurfactantes estão espécies do gênero *Pseudomonas* (Asçi *et al.*, 2008).

Os biossurfactantes mais eficientes na biorremediação de metais pesados tóxicos, particularmente Cd e Pb, são os lipopeptídios. Estes compostos são capazes de complexar e solubilizar metais pesados tóxicos, aumentando sua biodisponibilidade e facilitando sua remoção do ambiente contaminado (Mulligan; Yong; Gibbs, 2001b).

Os biossurfactantes atuam na biorremediação de metais pesados tóxicos por meio de vários mecanismos, como:

Emulsificação e Solubilização: Biossurfactantes como a surfactina têm a capacidade de emulsificar e solubilizar metais pesados tóxicos, facilitando sua mobilização e transporte no solo e na água (Rodrigues *et al.*, 2006).

Complexação e Precipitação: Os biossurfactantes formam complexos estáveis com íons metálicos, reduzindo sua toxicidade e mobilidade no meio ambiente. Por exemplo, a surfactina pode formar complexos com Cd e Pb, diminuindo sua disponibilidade para absorção por plantas e outros organismos (Shaligram; Singhal, 2010).

Aumento da Biodisponibilidade: Ao reduzir a tensão superficial, os biossurfactantes aumentam a biodisponibilidade dos metais pesados tóxicos, facilitando sua extração e remoção do solo contaminado (Bulcão; Cardoso; Moreira, 2022).

Degradação de Compostos Orgânicos Associados: Em solos contaminados com hidrocarbonetos e metais pesados tóxicos, os biossurfactantes também ajudam na degradação dos compostos orgânicos associados, melhorando a eficácia da biorremediação (Barros; Quadros; Pastore, 2008).

Os biossurfactantes representam uma alternativa promissora e sustentável para a biorremediação de solos contaminados com metais pesados tóxicos.

Estratégias de Mitigação e Remediação

Para minimizar os danos causados por metais pesados tóxicos, é essencial que

os produtores agrícolas mantenham registros detalhados da aplicação de fertilizantes, pesticidas, esterco e biossólidos, além de seguir boas práticas agrícolas (Yuan *et al.*, 2022). Testes microbiológicos e químicos podem ajudar a monitorar e remediar solos contaminados, garantindo a sustentabilidade e produtividade das terras agrícolas (McLaughlin *et al.*, 2000).

1.3. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABD ELNABI, M. K. *et al.* Toxicity of Heavy Metals and Recent Advances in Their Removal: A Review. **Toxics**, v. 11, n. 7, p. 580, 3 jul. 2023.

ABDALLAH ALNUWAISER, M. An Analytical Survey of Trace Heavy Elements in Insecticides. **International Journal of Analytical Chemistry**, v. 2019, p. 8150793, 2019.

ABDELALEY, L. *et al.* Heavy metal resistance and gene expression analysis of metal resistance genes in gram-positive and gram-negative bacteria present in Egyptian soils. **J. Appl. Sci. Environ. Sanitation**, v. 6, 1 jan. 2011.

ABDU, N.; ABDULLAHI, A. A.; ABDULKADIR, A. Heavy metals and soil microbes. **Environmental Chemistry Letters**, v. 15, n. 1, p. 65–84, mar. 2017.

ABID, M. *et al.* Integrated Nutrient Management Enhances Soil Quality and Crop Productivity in Maize-Based Cropping System. **Sustainability**, v. 12, n. 23, p. 10214, 7 dez. 2020.

ACCIOLY, A. M. A.; SIQUEIRA, J. O. Contaminação química e biorremediação do solo. Em: **Tópicos em Ciência do Solo**. Viçosa - MG: Embrapa, 2000. p. 299–352.

AÇIKEL, Ü.; ERŞAN, M.; AÇIKEL, Y. S. The effects of the composition of growth medium and fermentation conditions on the production of lipase by *R. delemar*. **Turkish Journal of Biology**, v. 35, n. 1, p. 35–44, 2011.

AHMAD, M. Microbes in Soil and Their Agricultural Prospects – Nova Science Publishers. Em: **Microbes in Soil and Their Agricultural Prospects**. [s.l.: s.n.].

ALABOUDI, K. A.; AHMED, B.; BRODIE, G. Phytoremediation of Pb and Cd contaminated soils by using sunflower (*Helianthus annuus*) plant. **Annals of agricultural sciences**, v. 63, n. 1, p. 123–127, 2018.

ALADESANMI, O. T. *et al.* Bioaccumulation Factor of Selected Heavy Metals in Zea mays. **Journal of Health & Pollution**, v. 9, n. 24, p. 191207, dez. 2019.

ALEMU, B. The Effect of Land Use Land Cover Change on Land Degradation in the Highlands of Ethiopia. 2015.

ALENGEBAWY, A. *et al.* Heavy Metals and Pesticides Toxicity in Agricultural Soil and Plants: Ecological Risks and Human Health Implications. **Toxics**, v. 9, n. 3, p. 42, 25 fev. 2021.

ALFONSO MURILLO-TOVAR, M.; SILDARRIAGA-NOREÑA, H.; SAEID, A. (EDS.). **Trace Metals in the Environment - New Approaches and Recent Advances**. [s.l.] IntechOpen, 2021.

ALLOWAY, B. J.; JACKSON, A. P. The behaviour of heavy metals in sewage sludge-amended soils. **Science of The Total Environment**, An Honour Volume For Eric I. Hamilton. v. 100, p. 151–176, 1 mar. 1991.

ALMEIDA, N. M. DE. Relações internacionais e impactos ambientais: uma análise das consequências do desmatamento da Amazônia em 2015 e 2016. 2017.

AMARAL SOBRINHO, N. M. B. DO; BARRA, C. M.; LÃ, O. R. XVI – QUÍMICA DOS METAIS PESADOS NO SOLO. Em: **Química e Mineralogia do Solo**. 1. ed. [s.l.] Sociedade Brasileira de Ciência do Solo, 2019. p. 1381.

ANDRADE, L. C. R. *et al.* Avaliação da Qualidade do Solo na Bacia do Córrego Palmital, Viçosa - MG. **Revista Geografias**, v. 9, n. 1, p. 8–22, 1 jun. 2013.

AOSHIMA, K. Itai-itai disease: Renal tubular osteomalacia induced by environmental exposure to cadmium—historical review and perspectives. **Soil Science and Plant Nutrition**, v. 62, n. 4, p. 319–326, 3 jul. 2016.

ARAIN, N.; MIRZA, W. A.; ASLAM, M. Vitamin D and the prevention of preeclampsia: A systematic review. **Pak. J. Pharm. Sci.**, 2015.

ARAUJO, S. E. E. S.; BALSAMO, R. BIOSSEGURANÇA APLICADA À PRODUÇÃO DE BIOINSUMOS: ESTRATÉGIA PARA REDUÇÃO DO USO DE INSUMOS SINTÉTICOS (AGRONOMIA). **Repositório Institucional**, v. 2, n. 2, 4 mar. 2024.

ASARE, M. O.; SZÁKOVÁ, J.; TLUSTOŠ, P. Mechanisms of As, Cd, Pb, and Zn hyperaccumulation by plants and their effects on soil microbiome in the rhizosphere. **Frontiers in Environmental Science**, v. 11, p. 1157415, 17 abr. 2023.

ASÇI, F. H. *et al.* Physical self-concept in adolescence and young adulthood: A comparison of Turkish and German students. **International Journal of Sport Psychology**, v. 39, n. 3, p. 217–236, 2008.

ASEMAN-BASHIZ, E. *et al.* Biorremediação de Solos Contaminados por Cádmio e Cromo, pelo Anelídeo Eisenia fetida. **Anuário do Instituto de Geociências**, v. 37, n. 2, p. 216–222, 1 dez. 2014.

ASMOAY, A. S. A. *et al.* Evaluation of heavy metal mobility in contaminated soils between Abu Qurqas and Dyer Mawas Area, El Minya Governorate, Upper Egypt. **Bulletin of the National Research Centre**, v. 43, n. 1, p. 88, dez. 2019.

ATAFAR, Z. *et al.* Effect of fertilizer application on soil heavy metal concentration. **Environmental Monitoring and Assessment**, v. 160, n. 1–4, p. 83–89, jan. 2010.

AGENCY FOR TOXIC SUBSTANCES AND DISEASE REGISTRY (ATSDR). **TOXICOLOGICAL PROFILE FOR CADMIUM**. Disponível em: <<https://www.atsdr.cdc.gov/toxprofiles/tp5.pdf>>. Acesso em: 5 fev. 2024.

AUGUSTO, B. M. G. **Metais de transição e o sistema nervoso central: toxicidade, uso em diagnóstico e opções terapêuticas**. masterThesis—[s.l.: s.n.].

BACA, B. E.; ELMERICH, C. MICROBIAL PRODUCTION OF PLANT HORMONES. Em: **Associative and Endophytic Nitrogen-fixing Bacteria and Cyanobacterial Associations**. [s.l.] Springer International Publishing, 2007.

BACH, E. M. *et al.* Soil Biodiversity Integrates Solutions for a Sustainable Future.

Sustainability, v. 12, n. 7, p. 2662, 27 mar. 2020.

BAI, Z. *et al.* Leaching Mechanism and Health Risk Assessment of As and Sb in Tailings of Typical Antimony Mines: A Case Study in Yunnan and Guizhou Province, Southwest China. **Toxics**, v. 10, n. 12, p. 777, dez. 2022.

BARROS, F. F. C.; QUADROS, C. P. DE; PASTORE, G. M. Propriedades emulsificantes e estabilidade do biossurfactante produzido por *Bacillus subtilis* em manipueira. **Food Science and Technology**, v. 28, p. 979–985, dez. 2008.

BASSEGIO, C. *et al.* Growth and accumulation of Pb by roots and shoots of *Brassica juncea* L. **International Journal of Phytoremediation**, v. 22, n. 2, p. 134–139, 28 jan. 2020.

BASTIAN, F. *et al.* Production of indole-3-acetic acid and gibberellins A₁ and A₃ by *Acetobacter diazotrophicus* and *Herbaspirillum seropedicae* in chemically-defined culture media. **Plant Growth Regulation**, v. 24, 1 jan. 1998.

BERGKVIST, P. *et al.* Bergkvist P, Jarvis N, Berggren D, Carlgren K.. Long-term effects of sewage sludge applications on soil properties, cadmium availability and distribution in arable soil. *Agric Ecosyst Environ* 97: 167-179. **Agriculture, Ecosystems & Environment**, v. 97, p. 167–179, 1 jul. 2003.

BERNI, R. *et al.* Reactive oxygen species and heavy metal stress in plants: Impact on the cell wall and secondary metabolism. **Environmental and Experimental Botany**, v. 161, p. 98–106, 2019.

BERTOLAZI, A. *et al.* O papel das ectomicorrizas na biorremediação dos metais pesados no solo. v. 8, 1 jan. 2010.

BIGALKE, M. *et al.* Accumulation of cadmium and uranium in arable soils in Switzerland. **Environmental Pollution**, v. 221, p. 85–93, 1 fev. 2017.

BLAKE, L.; GOULDING, K. W. T. Effects of atmospheric deposition, soil pH and acidification on heavy metal contents in soils and vegetation of semi-natural ecosystems at Rothamsted Experimental Station, UK. **Plant and Soil**, v. 240, n. 2, p. 235–251, 1 mar. 2002.

BONO, J. A. M.; MACEDO, M. C. M.; TORMENA, C. A. Qualidade física do solo em um latossolo vermelho da região sudoeste dos cerrados sob diferentes sistemas de uso e manejo. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v. 37, p. 743–753, jun. 2013.

BORRELLI, P. *et al.* An assessment of the global impact of 21st century land use change on soil erosion. **Nature Communications**, v. 8, n. 1, p. 2013, 8 dez. 2017.

BORTOLOTI, G. A.; BARON, D. Phytoremediation of toxic heavy metals by *Brassica* plants: A biochemical and physiological approach. **Environmental Advances**, v. 8, p. 100204, 1 jul. 2022.

BOUIDA, L. *et al.* A Review on Cadmium and Lead Contamination: Sources, Fate, Mechanism, Health Effects and Remediation Methods. **Water**, v. 14, n. 21, p. 3432, 28 out. 2022.

BRITISH GEOLOGICAL SURVEY. **WORLD MINERAL PRODUCTION 2017–21**. Disponível em: <<https://www2.bgs.ac.uk/mineralsuk/statistics/worldStatistics.html>>. Acesso em: 4 jul. 2023.

BUCHANAN, R. A.; DUKE, J. A. Botanochemical crops. Em: **Handbook of Biosolar Resources**. [s.l.: s.n.]. v. 2p. 157–179.

BULCÃO, T. L. M.; CARDOSO, C. K. M.; MOREIRA, Í. T. A. MAPEAMENTO DE TECNOLOGIAS UTILIZANDO BIODISSURFATANTES PARA REMEDIAÇÃO DE SOLOS CONTAMINADOS. 2022.

CAI, L. *et al.* Multivariate and geostatistical analyses of the spatial distribution and source of arsenic and heavy metals in the agricultural soils in Shunde, Southeast China. **Journal of Geochemical Exploration**, v. 148, p. 189–195, 1 jan. 2015.

CASADO, N. *et al.* What Are We Eating? Surveying the Presence of Toxic Molecules in the Food Supply Chain Using Chromatographic Approaches. **Molecules**, v. 29, n. 3, p. 579, 24 jan. 2024.

CASSIDY, E. *et al.* Redefining Agricultural Yields: from Tonnes to People Nourished per Hectare. **Environmental Research Letters**, v. 8, p. 034015, 1 set. 2013.

CASTLEMAN, G.; PYMER, S.; GREENWOOD, C. **POTENTIAL FOR CRAMBE (C. abyssinica) IN MALLEE / WIMMERA OF AUSTRALIA**. . Em: 10TH INT. RAPESED CONGRESS. Camberra - Australia, 1999. Disponível em: <<https://www.gcirc.org/fileadmin/documents/Proceedings/IRC1999Canberravol2/155.htm>>. Acesso em: 4 jul. 2023

CETESB. **Qualidade do Solo » Qualidade do Solo**. , 3 dez. 2013. Disponível em: <<https://cetesb.sp.gov.br/solo/qualidade-do-solo/>>. Acesso em: 3 jul. 2023

CHANDRASEKARAN, A. *et al.* Multivariate statistical analysis of heavy metal concentration in soils of Yelagiri Hills, Tamilnadu, India--spectroscopical approach. **Spectrochimica Acta. Part A, Molecular and Biomolecular Spectroscopy**, v. 137, p. 589–600, 25 fev. 2015.

CHANEY, R. L.; OLIVER, D. P. Sources, potential adverse effects and remediation of agricultural soil contaminants. Em: NAIDU, R. *et al.* (Eds.). **Contaminants and the Soil Environment in the Australasia-Pacific Region: Proceedings of the First Australasia-Pacific Conference on Contaminants and Soil Environment in the Australasia-Pacific Region, held in Adelaide, Australia, 18–23 February 1996**. Dordrecht: Springer Netherlands, 1996. p. 323–359.

CHANG, A. C. *et al.* Sequential Extraction of Soil Heavy Metals Following a Sludge Application. **Journal of Environmental Quality**, v. 13, n. 1, p. 33–38, 1984.

CHEN, J. *et al.* Bacterial Heavy-Metal and Antibiotic Resistance Genes in a Copper Tailing Dam Area in Northern China. **Frontiers in Microbiology**, v. 10, 20 ago. 2019.

CHEN, S. *et al.* Heavy Metal Induced Antibiotic Resistance in Bacterium LSJC7. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 16, n. 10, p. 23390–23404, 29 set.

2015.

CHEN, S.; WILSON, D. B. Genetic engineering of bacteria and their potential for Hg²⁺ bioremediation. **Biodegradation**, v. 8, n. 2, p. 97–103, 1 mar. 1997.

CHENG, S. *et al.* Application Research of Biochar for the Remediation of Soil Heavy Metals Contamination: A Review. **Molecules**, v. 25, n. 14, p. 3167, 10 jul. 2020.

CLEMENS, S.; PALMGREN, M. G.; KRÄMER, U. A long way ahead: understanding and engineering plant metal accumulation. **Trends in plant science**, v. 7, n. 7, p. 309–315, 2002.

COBBETT, C.; GOLDSBROUGH, P. PHYTOCHELATINS AND METALLOTHIONEINS: Roles in Heavy Metal Detoxification and Homeostasis. **Annual Review of Plant Biology**, v. 53, n. Volume 53, 2002, p. 159–182, 1 jun. 2002.

COLIN, V. L. *et al.* Production of bioemulsifiers by *Amycolatopsis tucumanensis* DSM 45259 and their potential application in remediation technologies for soils contaminated with hexavalent chromium. **Journal of Hazardous Materials**, v. 261, p. 577–583, 15 out. 2013.

COLLA, L. M. *et al.* Isolamento e seleção de fungos para biorremediação a partir de solo contaminado com herbicidas triazínicos. **Ciência e Agrotecnologia**, v. 32, n. 3, p. 809–813, jun. 2008.

CONSELHO NACIONAL DO MEIO AMBIENTE (CONAMA). Resolução CONAMA nº 420 de 28/12/2009 - Federal - LegisWeb. . 2009.

COSTA, E. *et al.* The cycle of biodiesel production from *Crambe abyssinica* in Portugal. **Industrial Crops and Products**, v. 129, p. 51–58, 1 mar. 2019.

COSTA, F. X. *et al.* Disponibilidade de nutrientes no solo em função de doses de matéria orgânica no plantio da mamona. **Revista Verde de Agroecologia e Desenvolvimento Sustentável**, v. 5, n. 3, p. 29, 2010.

COSTA, R. A.; ROSOLEN, V. CONCENTRAÇÃO DE METAIS PESADOS EM SEDIMENTOS DE CORREGOS URBANOS COMO INDICADOR DA QUALIDADE AMBIENTAL E RISCOS A SAÚDE HUMANA. **Hygeia: Revista Brasileira de Geografia Médica e da Saúde**, v. 8, n. 15, 2012.

CRINI, G. Recent developments in polysaccharide-based materials used as adsorbents in wastewater treatment. **Progress in Polymer Science**, v. 30, n. 1, p. 38–70, 1 jan. 2005.

CRUZ-HERNÁNDEZ, M. A. *et al.* *Azospirillum* spp. from Plant Growth-Promoting Bacteria to Their Use in Bioremediation. **Microorganisms**, v. 10, n. 5, p. 1057, 20 maio 2022.

DA PAZ SCHILLER, A. *et al.* Influence of hydrological flows from tropical watersheds on the dynamics of Cu and Zn in sediments. **Environmental Monitoring and Assessment**, v. 191, n. 2, p. 86, 18 jan. 2019.

DALLA VECCHIA, F. *et al.* Morphogenetic, ultrastructural and physiological damages suffered by submerged leaves of *Elodea canadensis* exposed to cadmium. **Plant Science**, v. 168, n. 2, p. 329–338, fev. 2005.

DAS, K.; ROYCHOUDHURY, A. Reactive oxygen species (ROS) and response of antioxidants as ROS-scavengers during environmental stress in plants. **Frontiers in Environmental Science**, v. 2, 2 dez. 2014.

DASH, H. R.; DAS, S. Bioremediation of inorganic mercury through volatilization and biosorption by transgenic *Bacillus cereus* BW-03(pPW-05). **International Biodeterioration & Biodegradation**, v. 103, p. 179–185, 1 set. 2015.

DAVIES, B. E.; BAILINGER, R. C. Heavy metals in soils in north Somerset, England, with special reference to contamination from base metal mining in the Mendips. **Environmental Geochemistry and Health**, v. 12, n. 4, p. 291–300, 1 dez. 1990.

DE ALMEIDA DUARTE, L. F. *et al.* Metal toxicity assessment by sentinel species of mangroves: In situ case study integrating chemical and biomarkers analyses. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 145, p. 367–376, 1 nov. 2017.

DE KONING, H. W. Lead and cadmium contamination in the area immediately surrounding a lead smelter. **Water, Air, and Soil Pollution**, v. 3, n. 1, p. 63–70, 1 mar. 1974.

DEFARGE, N.; SPIROUX DE VENDÔMOIS, J.; SÉRALINI, G. E. Toxicity of formulants and heavy metals in glyphosate-based herbicides and other pesticides. **Toxicology Reports**, v. 5, p. 156–163, 2018a.

DEFARGE, N.; SPIROUX DE VENDÔMOIS, J.; SÉRALINI, G. E. Toxicity of formulants and heavy metals in glyphosate-based herbicides and other pesticides. **Toxicology Reports**, v. 5, p. 156–163, 2018b.

DELLAGI, A.; QUILLERE, I.; HIREL, B. Beneficial soil-borne bacteria and fungi: a promising way to improve plant nitrogen acquisition. **Journal of Experimental Botany**, v. 71, n. 15, p. 4469–4479, 25 jul. 2020.

DHALIWAL, S. S. *et al.* Remediation techniques for removal of heavy metals from the soil contaminated through different sources: a review. **Environmental Science and Pollution Research**, v. 27, n. 2, p. 1319–1333, jan. 2020.

DHIMAN, S. S. *et al.* Metal accumulation by sunflower (*Helianthus annuus* L.) and the efficacy of its biomass in enzymatic saccharification. **PLoS ONE**, v. 12, n. 4, p. e0175845, 24 abr. 2017.

DOBBELAERE, S.; VANDERLEYDEN, J.; OKON, Y. Plant Growth-Promoting Effects of Diazotrophs in the Rhizosphere. **Critical Reviews in Plant Sciences**, v. 22, n. 2, p. 107–149, 1 mar. 2003.

DONALD G. ROGICH; GRECIA R. MATOS. **The Global Flows of Metals and Minerals**: Open-File Report. [s.l.] U.S. Department of the Interior, 2008.

ELSA DOMINISH; SVEN TESKE; NICK FLORIN. **Responsible minerals sourcing**

for renewable energy. Disponível em: <https://earthworks.org/wp-content/uploads/2019/04/Responsible-minerals-sourcing-for-renewable-energy-MCEC_UTS_Earthworks-Report.pdf>. Acesso em: 4 jul. 2023.

ENSINAS, S. C. *et al.* Atributos Químicos, Carbono e Nitrogênio Total em Latossolo Submetido a Diferentes Sistemas de Uso do Solo. **Global Science and Technology**, v. 7, p. 24–36, 30 ago. 2014.

EUGENIO, N. R.; MCLAUGHLIN, M.; PENNOCK, D. **Soil Pollution: a hidden reality**. Disponível em: <<https://www.fao.org/3/I9183EN/i9183en.pdf>>. Acesso em: 4 jul. 2023.

FADIGAS, F. D. S. *et al.* Concentrações naturais de metais pesados em algumas classes de solos brasileiros. **Bragantia**, v. 61, n. 2, p. 151–159, ago. 2002.

FALASCA, S. L. *et al.* Crambe abyssinica: An almost unknown crop with a promissory future to produce biodiesel in Argentina. **International Journal of Hydrogen Energy**, 3rd Argentinean and 2nd Latin American Congress in Hydrogen and Sustainable Energy Sources. v. 35, n. 11, p. 5808–5812, 1 jun. 2010.

FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION (FAO). **FAO: Como alimentar a crescente população global? | As Nações Unidas no Brasil**. Disponível em: <<https://brasil.un.org/pt-br/73384-fao-como-alimentar-crescente-popula%C3%A7%C3%A3o-global>, <https://brasil.un.org/pt-br/73384-fao-como-alimentar-crescente-popula%C3%A7%C3%A3o-global>>. Acesso em: 4 jul. 2023.

FARIAS, A. S. Análise da contaminação do solo por metais potencialmente tóxicos em locais de reciclagem de resíduos eletrônicos. 2023.

FAYER, S. *et al.* **Monitoramento de Deslocamento Vertical de Médio Prazo em Aterro de Resíduos Classe I**. [s.l: s.n.].

FERREIRA, A. L. A.; MATSUBARA, L. S. Radicais livres: conceitos, doenças relacionadas, sistema de defesa e estresse oxidativo. **Revista da associação médica brasileira**, v. 43, p. 61–68, 1997.

FOLEY, J. A. *et al.* Solutions for a cultivated planet. **Nature**, v. 478, n. 7369, p. 337–342, out. 2011.

FUENTES-RAMIREZ, L. E. *et al.* Acetobacter diazotrophicus, an indoleacetic acid producing bacterium isolated from sugarcane cultivars of México. **Plant and Soil**, v. 154, n. 2, p. 145–150, 1993.

GHORI, N.-H. *et al.* Heavy metal stress and responses in plants. **International Journal of Environmental Science and Technology**, v. 16, n. 3, p. 1807–1828, mar. 2019.

GIMENO-GARCÍA, E.; ANDREU, V.; BOLUDA, R. Heavy metals incidence in the application of inorganic fertilizers and pesticides to rice farming soils. **Environmental Pollution**, v. 92, n. 1, p. 19–25, 1 jan. 1996.

GOMES, M. R.; ROGERO, M. M.; TIRAPEGUI, J. Considerações sobre cromo,

insulina e exercício físico. **Revista Brasileira de Medicina do Esporte**, v. 11, p. 262–266, out. 2005.

GONÇALVES, A. C. *et al.* Phytoavailability of Toxic Heavy Metals and Productivity in Wheat Cultivated Under Residual Effect of Fertilization in Soybean Culture. **Water, Air, & Soil Pollution**, v. 220, n. 1, p. 205–211, 1 set. 2011a.

GONÇALVES, A. C. *et al.* Phytoavailability of Toxic Heavy Metals and Productivity in Wheat Cultivated Under Residual Effect of Fertilization in Soybean Culture. **Water, Air, & Soil Pollution**, v. 220, n. 1, p. 205–211, 1 set. 2011b.

GONÇALVES JR, A. *et al.* Phytoremediation capacity, growth and physiological responses of *Crambe abyssinica* Hochst on soil contaminated with Cd and Pb. **Journal of Environmental Management**, v. 262, p. 110342, 1 maio 2020.

GONÇALVES JR., A. C. *et al.* The use of *Crambe abyssinica* seeds as adsorbent in the removal of metals from waters. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, v. 17, n. 3, p. 306–311, mar. 2013.

GONÇALVES JR, A. C. *et al.* Heavy Metal Contamination in Brazilian Agricultural Soils due to Application of Fertilizers. Em: **Environmental Risk Assessment of Soil Contamination**. [s.l.] IntechOpen, 2014.

GONÇALVES JÚNIOR, A. C.; SELZLEIN, C.; NACKE, H. Uso de biomassa seca de aguapé (*Eichornia crassipes*) visando à remoção de metais pesados de soluções contaminadas. **Acta Scientiarum. Technology**, v. 31, n. 1, p. 103–108, 28 abr. 2009.

GUILHERME, L. R. G. *et al.* ELEMENTOS-TRAÇO EM SOLOS E SISTEMAS AQUÁTICOS. 2005.

GUPTA, V. K. *et al.* Biosorption of copper(II) from aqueous solutions by *Spirogyra* species. **Journal of Colloid and Interface Science**, v. 296, n. 1, p. 59–63, 1 abr. 2006.

GUPTA, V. K.; RASTOGI, A.; NAYAK, A. Adsorption studies on the removal of hexavalent chromium from aqueous solution using a low cost fertilizer industry waste material. **Journal of Colloid and Interface Science**, v. 342, n. 1, p. 135–141, 1 fev. 2010.

GUSMÃO, A. G. **Caraterização química e biológica de lamas de Estações de Tratamento de Águas Residuais (ETAR' s)**. PhD Thesis—[s.l: s.n.].

HAGHIRI, F. Cadmium Uptake by Plants. **Journal of Environmental Quality**, v. 2, n. 1, p. 93–95, jan. 1973.

HAJEB, P. *et al.* Toxic Elements in Food: Occurrence, Binding, and Reduction Approaches. **Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety**, v. 13, n. 4, p. 457–472, 2014.

HALL, J. ÁL. Cellular mechanisms for heavy metal detoxification and tolerance. **Journal of experimental botany**, v. 53, n. 366, p. 1–11, 2002.

HAMA AZIZ, K. H. *et al.* Heavy metal pollution in the aquatic environment: efficient and low-cost removal approaches to eliminate their toxicity: a review. **RSC Advances**, v. 13, n. 26, p. 17595–17610, 2023.

HASSEN, A. *et al.* Resistance of environmental bacteria to heavy metals. **Bioresource Technology**, v. 64, n. 1, p. 7–15, 1 abr. 1998.

HOU, D. *et al.* Metal contamination and bioremediation of agricultural soils for food safety and sustainability. **Nature Reviews Earth & Environment**, v. 1, n. 7, p. 366–381, 23 jun. 2020.

HU, J. *et al.* Influence of Heavy Metals on Seed Germination and Early Seedling Growth in *Crambe abyssinica*, a Potential Industrial Oil Crop for Phytoremediation. **American Journal of Plant Sciences**, v. 06, n. 01, p. 150–156, 2015.

HUANG, X.-D. *et al.* A multi-process phytoremediation system for decontamination of persistent total petroleum hydrocarbons (TPHs) from soils. **Microchemical Journal**, 2004 American Microchemical Society Awardee. v. 81, n. 1, p. 139–147, 1 ago. 2005.

HUSSAIN, S. *et al.* Zinc Essentiality, Toxicity, and Its Bacterial Bioremediation: A Comprehensive Insight. **Frontiers in Microbiology**, v. 13, p. 900740, 31 maio 2022.

HUTCHINSON, T. C.; SYMINGTON, M. S. Persistence of metal stress in a forested ecosystem near Sudbury, 66 years after closure of the O'Donnell roast bed. **Journal of Geochemical Exploration**, v. 58, n. 2, p. 323–330, 1 abr. 1997.

IDOWU, G. A. Heavy metals research in Nigeria: a review of studies and prioritization of research needs. **Environmental Science and Pollution Research**, v. 29, n. 44, p. 65940–65961, set. 2022.

JANSEN, E. *et al.* Effects of heavy metals in soil on microbial diversity and activity as shown by the sensitivity-resistance index, an ecologically relevant parameter. **Biology and Fertility of Soils**, v. 17, n. 3, p. 177–184, 1 mar. 1994.

JANSSON, J. K.; HOFMOCKEL, K. S. Soil microbiomes and climate change. **Nature Reviews Microbiology**, v. 18, n. 1, p. 35–46, jan. 2020.

JÄRUP, L. Hazards of heavy metal contamination. **British medical bulletin**, v. 68, n. 1, p. 167–182, 2003.

JENSEN, J.; LARSEN, M. M.; BAK, J. National monitoring study in Denmark finds increased and critical levels of copper and zinc in arable soils fertilized with pig slurry. **Environmental pollution**, v. 214, p. 334–340, 2016.

JIN, P.; DALGARNO, S. J.; ATWOOD, J. L. Mixed metal-organic nanocapsules. **Coordination Chemistry Reviews**, The Life and Career of Daryle H. Busch: v. 254, n. 15, p. 1760–1768, 1 ago. 2010.

JOHNSON, A. W. *et al.* State of remediation and metal toxicity in the Tri-State Mining District, USA. **Chemosphere**, v. 144, p. 1132–1141, 1 fev. 2016.

KABATA-PENDIAS, A. Behavioural properties of trace metals in soils. **Applied Geochemistry**, Environmental Geochemistry. v. 8, p. 3–9, 1 jan. 1993.

KABATA-PENDIAS, A.; PENDIAS, H. **Trace elements in soils and plants**. 3rd ed. Boca Raton, Fla: CRC Press, 2001a.

KABATA-PENDIAS, A.; PENDIAS, H. **Trace elements in soils and plants**. 3rd ed. Boca Raton, Fla: CRC Press, 2001b.

KHAN, K. *et al.* Heavy metals in agricultural soils and crops and their health risks in Swat District, northern Pakistan. **Food and Chemical Toxicology**, v. 58, p. 449–458, 1 ago. 2013.

KHAN, N. A.; JHUNG, S. H. Adsorptive removal and separation of chemicals with metal-organic frameworks: Contribution of π -complexation. **Journal of Hazardous Materials**, v. 325, p. 198–213, 5 mar. 2017.

KIZILKAYA, R. The role of different organic wastes on zinc bioaccumulation by earthworm *Lumbricus terrestris* L. (Oligochaeta) in successive Zn added soil. **Ecological Engineering**, v. 25, n. 4, p. 322–331, 1 nov. 2005.

KOPITKE, P. M. *et al.* Soil and the intensification of agriculture for global food security. **Environment International**, v. 132, p. 105078, 1 nov. 2019.

KRASILNIKOV, P.; TABOADA, M. A.; AMANULLAH. Fertilizer Use, Soil Health and Agricultural Sustainability. **Agriculture**, v. 12, n. 4, p. 462, 25 mar. 2022.

KRASTANOV, A.; ALEXIEVA, Z.; YEMENDZHIEV, H. Microbial degradation of phenol and phenolic derivatives. **Engineering in Life Sciences**, v. 13, n. 1, p. 76–87, jan. 2013.

KUMAR, A.; BISHT, B. S.; DHEWA, T. Review on Bioremediation of Polluted Environment: A Management Tool. 6. v. 1, 2011.

KUMAR, D. *et al.* Heavy Metal and Their Regulation in Plant System: An Overview. Em: SINGH, A.; PRASAD, S. M.; SINGH, R. P. (Eds.). **Plant Responses to Xenobiotics**. Singapore: Springer Singapore, 2016. p. 19–38.

KUMAR, S. *et al.* Efficient nutrient management for enhancing crop productivity, quality and nutrient dynamics in lentil (*Lens culinaris* Medik.) in the semi-arid region of northern India. **PLOS ONE**, v. 18, n. 2, p. e0280636, 10 fev. 2023.

LAL, R. Soil Erosion Impact on Agronomic Productivity and Environment Quality. **Critical Reviews in Plant Sciences**, v. 17, n. 4, p. 319–464, 1 jul. 1998.

LANGE, C. N. **Contaminação do solo e mobilidade de As, Cd, Mo, Pb e Zn em colunas de solo franco arenoso com cinza de carvão**. Mestrado em Tecnologia Nuclear - Materiais—São Paulo: Universidade de São Paulo, 20 jun. 2012.

LANNA, A. S. R. DE *et al.* Pesquisa de microrganismos resistentes aos metais pesados e de mecanismo de co-resistência e resistência cruzada aos antimicrobianos na baía de guanabara. 2022.

- LASTOCHKINA, O. *et al.* Novel Approaches for Sustainable Horticultural Crop Production: Advances and Prospects. **Horticulturae**, v. 8, n. 10, p. 910, 5 out. 2022.
- LE QUÉRÉ, C. *et al.* Global Carbon Budget 2018. **Earth System Science Data**, v. 10, n. 4, p. 2141–2194, 5 dez. 2018.
- LEE, P.-K.; CHOI, B.-Y.; KANG, M.-J. Assessment of mobility and bio-availability of heavy metals in dry depositions of Asian dust and implications for environmental risk. **Chemosphere**, v. 119, p. 1411–1421, jan. 2015.
- LEONEL, L. V. *et al.* Biorremediação do solo. **Revista Terra & Cultura: Cadernos de Ensino e Pesquisa**, v. 26, n. 51, p. 37–52, 1 ago. 2018.
- LI, B. *et al.* High performance electrochemical capacitor materials focusing on nickel based materials. **Inorganic Chemistry Frontiers**, v. 3, n. 2, p. 175–202, 11 fev. 2016.
- LIANG, J. *et al.* Atmospheric deposition of mercury and cadmium impacts on topsoil in a typical coal mine city, Lianyuan, China. **Chemosphere**, v. 189, p. 198–205, dez. 2017.
- LIMA, E. DE B. *et al.* Investigação de metais em água de abastecimento no município do Rio Formoso - PE. **Hig. aliment**, p. 68–72, 2001.
- LIU, Q.; LI, X.; HE, L. Health risk assessment of heavy metals in soils and food crops from a coexist area of heavily industrialized and intensively cropping in the Chengdu Plain, Sichuan, China. **Frontiers in Chemistry**, v. 10, p. 988587, 1 set. 2022.
- LIU, W.-R. *et al.* Comparisons of pollution characteristics, emission situations, and mass loads for heavy metals in the manures of different livestock and poultry in China. **Science of the Total Environment**, v. 734, p. 139023, 2020.
- LOMBI, E. *et al.* Phytoremediation of Heavy Metal–Contaminated Soils: Natural Hyperaccumulation versus Chemically Enhanced Phytoextraction. **Journal of Environmental Quality**, v. 30, n. 6, p. 1919–1926, nov. 2001.
- LOREAU, M. Microbial diversity, producer–decomposer interactions and ecosystem processes: a theoretical model. **Proceedings of the Royal Society of London. Series B: Biological Sciences**, v. 268, n. 1464, p. 303–309, 7 fev. 2001.
- LOTFY, S. M.; MOSTAFA, A. Z. Phytoremediation of contaminated soil with cobalt and chromium. **Journal of Geochemical Exploration**, Potentially Harmful Elements in Soils: Concentration, Distribution, Risk Assessment and Remediation. v. 144, p. 367–373, 1 set. 2014.
- M. TAHAT, M. *et al.* Soil Health and Sustainable Agriculture. **Sustainability**, v. 12, n. 12, p. 4859, 15 jun. 2020.
- MAESTRI, J. C. (Reciclagem Local dos Resíduos Orgânicos com Participação Comunitária). [s.d.].
- MAFRA, M. S. H. *et al.* Metais potencialmentetóxicos em hortas escolares na região

urbana de Lages, Santa Catarina, Brasil. **Ciência Rural**, v. 50, p. e20190211, 6 abr. 2020.

MAHFOOZ, Y. *et al.* Critical risk analysis of metals toxicity in wastewater irrigated soil and crops: a study of a semi-arid developing region. **Scientific Reports**, v. 10, n. 1, p. 12845, 30 jul. 2020.

MAKSYMIEC, W. Signaling responses in plants to heavy metal stress. **Acta Physiologiae Plantarum**, v. 29, n. 3, p. 177–187, 21 maio 2007.

MALAVOLTA, E.; VITTI, G. C.; OLIVEIRA, S. A. **Avaliação do estado nutricional das plantas: princípios e aplicações**. 2. ed. Piracicaba: Associação Brasileira para Pesquisa da Potassa e do Fosfato, 1997.

MANFRIN, J. *et al.* Contamination by lead in sediments at Toledo River, hydrographic basin of PARANÁ III. **Environmental Monitoring and Assessment**, v. 190, n. 4, p. 243, 23 mar. 2018.

MINISTÉRIO DA AGRICULTURA E PECUÁRIA (MAPA). 6.894. Base Legislação da Presidência da República - Lei nº 6.894 de 16 de dezembro de 1980. . 1980.

INSTRUÇÃO NORMATIVA SDA Nº 27, 05 DE JUNHO DE 2006. . 27 maio 2006. 12.890. Legislação Federal - Senado Federal. . 2013.

INSTRUÇÃO NORMATIVA SDA Nº 7 DE 2016. INSTRUÇÃO NORMATIVA SDA Nº 7, DE 12-04-2016. . 12 abr. 2016.

PORTARIA CONJUNTA SDA/MAPA - IBAMA - ANVISA Nº 1, DE 10 DE ABRIL DE 2023 - PORTARIA CONJUNTA SDA/MAPA - IBAMA - ANVISA Nº 1, DE 10 DE ABRIL DE 2023 - DOU - Imprensa Nacional. . 10 abr. 2023, Sec. 1, p. 7.

MAR, S. S.; OKAZAKI, M.; MOTOBAYASHI, T. The influence of phosphate fertilizer application levels and cultivars on cadmium uptake by Komatsuna (*Brassica rapa* L. var. *perviridis*). **Soil Science and Plant Nutrition**, v. 58, n. 4, p. 492–502, ago. 2012.

MCBRIDE, M. B. Toxic metals in sewage sludge-amended soils: has promotion of beneficial use discounted the risks? **Advances in Environmental Research**, Heavy Metals in Soils. v. 8, n. 1, p. 5–19, 1 out. 2003.

MCLAUGHLIN, M. J. *et al.* Soil testing for heavy metals. **Communications in Soil Science and Plant Analysis**, v. 31, n. 11–14, p. 1661–1700, jun. 2000.

MEENA, V. *et al.* Impact of Lead Contamination on Agroecosystem and Human Health. Em: GUPTA, D. K.; CHATTERJEE, S.; WALTHER, C. (Eds.). **Lead in Plants and the Environment**. Radionuclides and Heavy Metals in the Environment. Cham: Springer International Publishing, 2020. p. 67–82.

MENDONÇA, R. S. **Efeitos da compostagem termofílica industrial na qualidade do lodo de esgoto e na dissipação de resistência antimicrobiana em solos**. Mestrado em Solos e Nutrição de Plantas—Piracicaba: Universidade de São Paulo, 22 fev. 2024.

MERKEL, B.; SPERLING, B. Hydrogeochemische stoffsysteme teil II. **Schriftenreihe des Deutschen Verbandes für Wasserwirtschaft und Kulturbau e. V.(DEVK)(Hrsg.)**, n. 117, 1998.

MILLER, C. D. *et al.* Copper and cadmium: responses in *Pseudomonas putida* KT2440. **Letters in Applied Microbiology**, v. 49, n. 6, p. 775–783, dez. 2009a.

MILLER, C. D. *et al.* Copper and cadmium: responses in *Pseudomonas putida* KT2440. **Letters in Applied Microbiology**, v. 49, n. 6, p. 775–783, dez. 2009b.

MINDLIN, S. *et al.* Mercury resistance transposons of Gram-negative environmental bacteria and their classification. **Research in Microbiology**, v. 152, n. 9, p. 811–822, 1 nov. 2001.

MINISTRY OF ENVIRONMENTAL PROTECTION. **MEP and MLR announce the report on national general survey on soil contamination**. Disponível em: <http://english.www.gov.cn/policies/latest_releases/2014/08/23/content_281474983026954.htm>. Acesso em: 4 jul. 2023.

MIRANDA, C.; OLIVEIRA, R. M. DE; CABRAL, J. B. P. **Uso de agrotóxicos na agricultura familiar em monocultivos e policultivos no sudoeste de goiás**. [s.l.] Editora CRV, 2024.

MIRLEAN, N.; ROISENBERG, A. The effect of emissions of fertilizer production on the environment contamination by cadmium and arsenic in southern Brazil. **Environmental Pollution**, v. 143, n. 2, p. 335–340, 1 set. 2006.

MIRSAL. **Soil Pollution**. Berlin, Heidelberg: Springer Berlin Heidelberg, 2008.

MISHRA, J.; SINGH, R.; ARORA, N. K. Alleviation of Heavy Metal Stress in Plants and Remediation of Soil by Rhizosphere Microorganisms. **Frontiers in Microbiology**, v. 8, p. 1706, 6 set. 2017.

MOHANKUMAR, K.; HARIHARAN, V.; RAO, N. P. Heavy metal contamination in groundwater around industrial estate vs residential areas in Coimbatore, India. **Journal of clinical and diagnostic research: JCDR**, v. 10, n. 4, p. BC05, 2016.

MONTESINOS, E. Development, registration and commercialization of microbial pesticides for plant protection. **International Microbiology**, v. 6, n. 4, p. 245–252, 1 dez. 2003.

MOURATO, M. P. *et al.* Effect of Heavy Metals in Plants of the Genus Brassica. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 16, n. 8, p. 17975–17998, 4 ago. 2015.

MULLIGAN, C. N.; YONG, R. N.; GIBBS, B. F. Remediation technologies for metal-contaminated soils and groundwater: an evaluation. **Engineering Geology, Geoenvironmental Engineering**. v. 60, n. 1, p. 193–207, 1 jun. 2001a.

MULLIGAN, C. N.; YONG, R. N.; GIBBS, B. F. Remediation technologies for metal-contaminated soils and groundwater: an evaluation. **Engineering Geology, Geoenvironmental Engineering**. v. 60, n. 1, p. 193–207, 1 jun. 2001b.

NACKE, H. *et al.* Availability of heavy metals (Cd, Pb, And Cr) in agriculture from commercial fertilizers. **Archives of Environmental Contamination and Toxicology**, v. 64, n. 4, p. 537–544, maio 2013.

NAÇÕES UNIDAS. **População mundial atinge 8 bilhões de pessoas | ONU News**. Disponível em: <<https://news.un.org/pt/story/2022/11/1805342>>. Acesso em: 29 jul. 2023.

NAÇÕES UNIDAS BRASIL. **População mundial deve chegar a 9,7 bilhões de pessoas em 2050, diz relatório da ONU | As Nações Unidas no Brasil**. Disponível em: <<https://brasil.un.org/pt-br/83427-popula%C3%A7%C3%A3o-mundial-deve-chegar-97-bilh%C3%B5es-de-pessoas-em-2050-diz-relat%C3%B3rio-da-onu>, <https://brasil.un.org/pt-br/83427-popula%C3%A7%C3%A3o-mundial-deve-chegar-97-bilh%C3%B5es-de-pessoas-em-2050-diz-relat%C3%B3rio-da-onu>>. Acesso em: 4 jul. 2023.

NELSON, D.; COX, M. **Princípios de Bioquímica** 6ª Edição. **Porto Alegre, 1298p**, 2014.

NIES, D. H. Microbial heavy-metal resistance. **Applied Microbiology and Biotechnology**, v. 51, n. 6, p. 730–750, 1 jun. 1999.

NIÑO-MARTÍNEZ, N. *et al.* Molecular Mechanisms of Bacterial Resistance to Metal and Metal Oxide Nanoparticles. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 20, n. 11, p. 2808, 8 jun. 2019.

NITHYA, C.; GNANALAKSHMI, B.; PANDIAN, S. K. Assessment and characterization of heavy metal resistance in Palk Bay sediment bacteria. **Marine Environmental Research**, v. 71, n. 4, p. 283–294, 1 maio 2011.

NITSCHKE, M.; PASTORE, G. M. Biossurfactantes: propriedades e aplicações. **Química nova**, v. 25, p. 772–776, 2002.

OBINNA, I. B.; EBERE, E. C. A review: Water pollution by heavy metal and organic pollutants: Brief review of sources, effects and progress on remediation with aquatic plants. **Analytical Methods in Environmental Chemistry Journal**, v. 2, n. 03, p. 5–38, 2019.

O'CONNOR, D. *et al.* The effects of iniquitous lead exposure on health. **Nature Sustainability**, v. 3, n. 2, p. 77–79, 10 fev. 2020.

OLIVEIRA, A. G. DE *et al.* Potencial de solubilização de fosfato e produção de AIA por *Trichoderma* spp. **Revista Verde de Agroecologia e Desenvolvimento Sustentável**, v. 7, n. 3, p. 149–155, 6 nov. 2012.

OLIVEIRA, F. C.; MATTIAZZO, M. E. Metais pesados em LATOSSOLO tratado com lodo de esgoto e em plantas de cana-de-açúcar. **Scientia Agricola**, v. 58, n. 3, p. 581–593, set. 2001.

OLIVEIRA NETO, J. R. DE *et al.* EXTRAÇÃO DE METAIS TÓXICOS EM SOLOS CONTAMINADOS UTILIZANDO O MILHO COMO POSSÍVEL FITORREMEIADOR. **COLLOQUIUM EXACTARUM**, v. 13, n. 3, p. 59–69, 20 dez.

2021.

OUN, A. *et al.* Effects of biosolids and manure application on microbial water quality in rural areas in the US. **Water**, v. 6, n. 12, p. 3701–3723, 2014.

PAL, A.; PAUL, A. K. Microbial extracellular polymeric substances: central elements in heavy metal bioremediation. **Indian Journal of Microbiology**, v. 48, n. 1, p. 49–64, mar. 2008.

PAN, J.; YU, L. Effects of Cd or/and Pb on Soil Enzyme Activities and Microbial Community Structure. **Ecological Engineering - ECOL ENG**, v. 37, p. 1889–1894, 1 nov. 2011.

PANG, Y. L. *et al.* Review on Phytoremediation Potential of Floating Aquatic Plants for Heavy Metals: A Promising Approach. **Sustainability**, v. 15, n. 2, p. 1290, 10 jan. 2023.

PAOLIELLO, M. M. B.; DE CAPITANI, E. M. Occupational and environmental human lead exposure in Brazil. **Environmental Research**, v. 103, n. 2, p. 288–297, fev. 2007.

PARVATIYAR, K. *et al.* Global Analysis of Cellular Factors and Responses Involved in *Pseudomonas aeruginosa* Resistance to Arsenite. **Journal of Bacteriology**, v. 187, n. 14, p. 4853–4864, jul. 2005.

PAULOSE, B.; KANDASAMY, S.; DHANKHER, O. P. Expression profiling of *Crambe abyssinica* under arsenate stress identifies genes and gene networks involved in arsenic metabolism and detoxification. **BMC Plant Biology**, v. 10, n. 1, p. 108, dez. 2010.

PERALTA-VIDEA, J. R. *et al.* The biochemistry of environmental heavy metal uptake by plants: implications for the food chain. **The International Journal of Biochemistry & Cell Biology**, v. 41, n. 8–9, p. 1665–1677, 2009.

PÉREZ, O. C. Atenuación natural de suelos contaminados con residuos tóxicos de origen minero. **Aislamiento y caracterización microbiana. Relatório interno de atividades da Faculdade de Biologia, Universidad de La Habana, Habana, Cuba**, 2006.

PIERANGELI, M. A. P. *et al.* Teor total e capacidade máxima de adsorção de chumbo em Latossolos brasileiros. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v. 25, p. 279–288, jun. 2001.

PIRES, F. R.; PROCÓPIO, S. DE O.; DE SOUZA, C. M. ADUBOS VERDES NA FITORREMEDIAÇÃO DE SOLOS CONTAMINADOS COM O HERBICIDA TEBUTHIURON. **REVISTA CAATINGA**, 2006.

PLETSCH, M.; CHARLWOOD, B. V.; ARAÚJO, B. DE. Fitorremediação de águas e solos poluídos. **Biotecnologia, Ciência & Desenvolvimento, Brasília**, v. 2, n. 11, p. 26–29, 1999.

PRIYA, A. K. *et al.* Clean-Up of Heavy Metals from Contaminated Soil by

Phytoremediation: A Multidisciplinary and Eco-Friendly Approach. **Toxics**, v. 11, n. 5, p. 422, 2 maio 2023.

RAFFAELLA ROSSETTO; ANTONIO DIAS SANTIAGO. **Adubação - resíduos alternativos - Portal Embrapa**. Disponível em: <<https://www.embrapa.br/agencia-de-informacao-tecnologica/cultivos/cana/producao/correcao-e-adubacao/diagnose-das-necessidades-nutricionais/recomendacao-de-correcao-e-adubacao/adubacao-residuos-alternativos>>. Acesso em: 4 jul. 2023.

RAJAEI, Q.; POURKHABBAZ, A. R.; MOTLAGH, S. Assessment of Heavy Metals Health Risk of Groundwater in Ali Abad Katoul Plian. **Journal of North Khorasan University of Medical Sciences**, v. 4, p. 155–162, 1 set. 2012.

REHMAN, H. F. *et al.* Assessment of zinc solubilization potential of zinc-resistant *Pseudomonas oleovorans* strain ZSB13 isolated from contaminated soil. **Brazilian Journal of Biology**, v. 83, p. e240015, 2023.

RENGEL, Z.; MARSCHNER, P. Nutrient availability and management in the rhizosphere: exploiting genotypic differences. **The New Phytologist**, v. 168, n. 2, p. 305–312, nov. 2005.

RICE, K. C. Trace-Element Concentrations in Streambed Sediment Across the Conterminous United States. **Environmental Science & Technology**, v. 33, n. 15, p. 2499–2504, 1 ago. 1999.

RICHARDSON, A. E.; HADOBAS, P. A.; HAYES, J. E. Extracellular secretion of *Aspergillus* phytase from *Arabidopsis* roots enables plants to obtain phosphorus from phytate. **The Plant Journal**, v. 25, n. 6, p. 641–649, 2001.

RIEUWERTS, J. S. *et al.* Factors influencing metal bioavailability in soils: preliminary investigations for the development of a critical loads approach for metals. **Chemical Speciation & Bioavailability**, v. 10, n. 2, p. 61–75, jan. 1998.

RIEUWERTS, J. S. *et al.* The influence of soil characteristics on the extractability of Cd, Pb and Zn in upland and moorland soils. **The Science of the Total Environment**, v. 366, n. 2–3, p. 864–875, 1 ago. 2006.

RODRIGUES, L. *et al.* Kinetic study of fermentative biosurfactant production by *Lactobacillus* strains. **Biochemical Engineering Journal**, v. 28, n. 2, p. 109–116, fev. 2006.

RODRIGUES, VALERA, F. Environmental genomics, the big picture? **FEMS Microbiology Letters**, v. 231, n. 2, p. 153–158, fev. 2004.

RUBIO, F. *et al.* Removal of cadmium from water using by-product *Crambe abyssinica* Hochst seeds as biosorbent material. **Water Science and Technology**, v. 68, n. 1, p. 227–233, 1 jul. 2013.

RUIZ-HUERTA, E. A. *et al.* Bioaccumulation of heavy metals and As in maize (*Zea mays* L.) grown close to mine tailings strongly impacts plant development. **Ecotoxicology (London, England)**, v. 31, n. 3, p. 447–467, abr. 2022.

- SABREENA *et al.* Phytoremediation of Heavy Metals: An Indispensable Contrivance in Green Remediation Technology. **Plants**, v. 11, n. 9, p. 1255, 6 maio 2022.
- SAHOO, D. K.; KAR, R. N.; DAS, R. P. Bioaccumulation of heavy metal ions by *Bacillus circulans*. **Bioresource Technology**, v. 41, n. 2, p. 177–179, 1 jan. 1992.
- SAMREEN, S.; KAUSAR, S. Phosphorus fertilizer: The original and commercial sources. **Phosphorus-recovery and Recycling**, p. 1–14, 2019.
- SANON, A. *et al.* Rhizosphere microbiota interferes with plant-plant interactions. **Plant and Soil**, v. 321, n. 1, p. 259–278, 1 ago. 2009.
- SANTOS, A. L. F. *et al.* METAIS PESADOS NO RIBEIRÃO PIANCÓ, ANÁPOLIS-GO E SUAS IMPLICAÇÕES AMBIENTAIS. 1. v. 8, 2015.
- SANTOS, A. P. A.; BATISTA, S. B. ISOLAMENTO E CARACTERIZAÇÃO FENOTÍPICA DE MICRO-ORGANISMOS ISOLADOS DE SOLO POLUÍDO POR RESÍDUOS SÓLIDOS DO BAIRRO CARRAPICHO MUNICÍPIO DE VÂRZEA GRANDE – MATO GROSSO. **CONNECTION LINE - REVISTA ELETRÔNICA DO UNIVAG**, n. 12, 27 mar. 2015.
- SANTOS, S. C. DOS *et al.* Mapeamento Tecnológico de Processos Microbianos Aplicados na Biorremediação de Metais Pesados. **Cadernos de Prospecção**, v. 11, n. 5, p. 1740–1740, 10 dez. 2018.
- SCHWANTES, D. *et al.* Eco-friendly, renewable *Crambe abyssinica* Hochst-based adsorbents remove high quantities of Zn²⁺ in water. **Journal of Environmental Health Science and Engineering**, v. 18, n. 2, p. 809–823, 21 jul. 2020.
- SHAHID, M. *et al.* Heavy Metal Stress and Crop Productivity. Em: HAKEEM, K. R. (Ed.). **Crop Production and Global Environmental Issues**. Cham: Springer International Publishing, 2015. p. 1–25.
- SHALIGRAM, N. S.; SINGHAL, R. S. Surfactin – A Review on Biosynthesis, Fermentation, Purification and Applications. **Food Technology and Biotechnology**, v. 48, n. 2, p. 119–134, 10 jun. 2010.
- SHARMA, P.; DUBEY, R. S. Lead toxicity in plants. **Brazilian Journal of Plant Physiology**, v. 17, p. 35–52, mar. 2005.
- SHARMA, R. K.; AGRAWAL, M.; MARSHALL, F. M. Atmospheric deposition of heavy metals (Cu, Zn, Cd and Pb) in Varanasi City, India. **Environmental Monitoring and Assessment**, v. 142, n. 1–3, p. 269–278, jul. 2008.
- SIDDIQUE, A. B. *et al.* Varietal variation and formation of iron plaques on cadmium accumulation in rice seedling. **Environmental Advances**, v. 5, p. 100075, 2021.
- SILVA, A. M.; FIGUEIREDO, J. C.; GADOTTI, G. I. **GERMINAÇÃO DE SEMENTES DE CRAMBE SUBMETIDAS CONCENTRAÇÕES TÓXICAS E SUBTÓXICAS DE METAIS PESADOS**. . Em: 7ª SEMANA INTEGRADA UFPEL 2021 - XXIII ENPÓS. , 2021.

SILVER, S.; MISRA, T. K. Bacterial Transformations of and Resistances to Heavy Metals. Em: OMENN, G. S. *et al.* (Eds.). **Genetic Control of Environmental Pollutants**. Basic Life Sciences. Boston, MA: Springer US, 1984. p. 23–46.

SILVER, S.; MISRA, T. K. Plasmid-Mediated Heavy Metal Resistances. **Annual Review of Microbiology**, v. 42, n. 1, p. 717–743, out. 1988.

SOARES, A. DE F. *et al.* Características químicas do solo sob sistema agroflorestal e floresta primária no município de Pacajá, Pará, Brasil. **Revista Ibero-Americana de Ciências Ambientais**, v. 12, n. 6, p. 45–59, 28 maio 2021.

SOARES, I. A. *et al.* FUNGOS NA BIORREMEDIAÇÃO DE ÁREAS DEGRADADAS. **Arquivos do Instituto Biológico**, v. 78, n. 2, p. 341–350, jun. 2011.

SOARES, R. *et al.* A FITORREMEDIAÇÃO COMO INSTRUMENTO ALTERNATIVO NO SANEAMENTO AMBIENTAL. 2013.

SOTERO-MARTINS, A.; VIANA, M. DE O.; CARVAJAL, E. Bioprospecção de bactérias com potencial tecnológico para biorremediação de ecossistemas impactados por mercúrio e cromo. **Geochimica Brasiliensis**, v. 28, n. 1, p. 36–42, 5 set. 2014.

SOUZA, A. F. C. **Caracterização molecular e avaliação de resistência a chumbo e cádmio em bactérias isoladas de rizosferas de plantas coletadas em Santo Amaro (BA)**. Mestrado em Biotecnologia—[s.l.] Universidade Estadual de Feira de Santana, 2013.

SPRYNSKY, M. *et al.* The Adsorption Properties of Agricultural and Forest Soils Towards Heavy Metal Ions (Ni, Cu, Zn, and Cd). **Soil and Sediment Contamination: An International Journal**, v. 20, n. 1, p. 12–29, 3 jan. 2011.

STEFFAN, J. J. *et al.* The effect of soil on human health: an overview. **European Journal of Soil Science**, v. 69, n. 1, p. 159–171, 2018.

STOHS, S. J.; BAGCHI, D. Oxidative mechanisms in the toxicity of metal ions. **Free Radical Biology & Medicine**, v. 18, n. 2, p. 321–336, fev. 1995.

STOLARSKI, M. J. *et al.* Camelina and crambe production – Energy efficiency indices depending on nitrogen fertilizer application. **Industrial Crops and Products**, v. 137, p. 386–395, out. 2019.

TAMÁS, M. J. *et al.* Heavy Metals and Metalloids As a Cause for Protein Misfolding and Aggregation. **Biomolecules**, v. 4, n. 1, p. 252–267, mar. 2014.

TANGAHU, B. *et al.* A Review on Heavy Metals (As, Pb, and Hg) Uptake by Plants Through Phytoremediation. **International Journal of Chemical Engineering**, v. 2011, 1 jan. 2011.

TAVARES, S. R. DE L. **FITORREMEDIAÇÃO EM SOLO E ÁGUA DE ÁREAS CONTAMINADAS POR METAIS PESADOS PROVENIENTES DA DISPOSIÇÃO DE RESÍDUOS PERIGOSOS**. [s.l.] Universidade Federal do Rio de Janeiro, 2009.

TAVARES, S. R. DE L. **Remediação de solos e águas contaminadas por metais pesados: conceitos básicos e fundamentos**. Joinville: Clube de Autores, 2013.

TAVARES, S. R. DE L.; OLIVEIRA, S. A. DE; SALGADO, C. M. AVALIAÇÃO DE ESPÉCIES VEGETAIS NA FITORREMEDIAÇÃO DE SOLOS CONTAMINADOS POR METAIS PESADOS. **HOLOS**, v. 5, p. 80–97, 4 dez. 2013a.

TAVARES, S. R. DE L.; OLIVEIRA, S. A. DE; SALGADO, C. M. AVALIAÇÃO DE ESPÉCIES VEGETAIS NA FITORREMEDIAÇÃO DE SOLOS CONTAMINADOS POR METAIS PESADOS. **HOLOS**, v. 5, p. 80–97, 4 dez. 2013b.

TCHOUNWOU, P. B. *et al.* Heavy Metal Toxicity and the Environment. Em: LUCH, A. (Ed.). **Molecular, Clinical and Environmental Toxicology: Volume 3: Environmental Toxicology**. Experientia Supplementum. Basel: Springer, 2012. p. 133–164.

TIEDJE, J. *et al.* Soil teeming with life: new frontiers for soil science. **Sustainable management of soil organic matter**, CABI Books. p. 393–425, jan. 2001.

TILMAN, D. *et al.* Global food demand and the sustainable intensification of agriculture. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 108, n. 50, p. 20260–20264, 13 dez. 2011.

TIWARI, S.; LATA, C. Heavy Metal Stress, Signaling, and Tolerance Due to Plant-Associated Microbes: An Overview. **Frontiers in Plant Science**, v. 9, 6 abr. 2018.

TONINI, R. M. C. W.; REZENDE, C. E.; GRATIVOL, A. D. DEGRADAÇÃO E BIORREMEDIAÇÃO DE COMPOSTOS DO PETRÓLEO POR BACTÉRIAS: REVISÃO. **Oecologia Australis**, v. 14, n. 04, p. 1010–1020, dez. 2010.

TORSVIK, V.; ØVREÅS, L. Microbial diversity and function in soil: from genes to ecosystems. **Current Opinion in Microbiology**, v. 5, n. 3, p. 240–245, 1 jun. 2002.

TÓTH, G. *et al.* Heavy metals in agricultural soils of the European Union with implications for food safety. **Environment International**, v. 88, p. 299–309, mar. 2016a.

TÓTH, G. *et al.* Heavy metals in agricultural soils of the European Union with implications for food safety. **Environment International**, v. 88, p. 299–309, mar. 2016b.

TÜRKDOĞAN, M. K. *et al.* Heavy metals in soil, vegetables and fruits in the endemic upper gastrointestinal cancer region of Turkey. **Environmental Toxicology and Pharmacology**, v. 13, n. 3, p. 175–179, 1 abr. 2003.

TÜZEN, M. Determination of heavy metals in fish samples of the middle Black Sea (Turkey) by graphite furnace atomic absorption spectrometry. **Food Chemistry**, v. 80, n. 1, p. 119–123, 1 jan. 2003.

URBANO, M. R. D. *et al.* Ferro, cobre e zinco em adolescentes no estirão pubertário. **Jornal de Pediatria**, v. 78, n. 4, p. 327–334, 2002.

VALADARES, J. M. A. S. Cobre em solos do estado de São Paulo I: cobre total. **Bragantia**, v. 34, n. unico, p. 125–132, 1975.

VELAYATZADEH, M. Heavy Metals in Surface Soils and Crops. Em: A. ALMAYYAH, B. (Ed.). **Heavy Metals - Recent Advances**. [s.l.] IntechOpen, 2023.

WANG, J.; CHEN, C. Biosorption of heavy metals by *Saccharomyces cerevisiae*: A review. **Biotechnology Advances**, v. 24, n. 5, p. 427–451, 1 set. 2006.

WANG, Y. *et al.* Plant growth-promoting bacteria in metal-contaminated soil: Current perspectives on remediation mechanisms. **Frontiers in Microbiology**, v. 13, 2022.

WANI, A. L.; ARA, A.; USMANI, J. A. Lead toxicity: a review. **Interdisciplinary Toxicology**, v. 8, n. 2, p. 55–64, 31 maio 2015.

WHITE, G. A.; HIGGINS, J. J. **Culture of Crambe: A New Industrial Oilseed Crop**. [s.l.] Agricultural Research Service, U.S. Department of Agriculture, 1966.

WILSON, C. *et al.* Effects of Microbial and Phosphate Amendments on the Bioavailability of Lead (Pb) in Shooting Range Soil. **Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology**, v. 76, n. 3, p. 392–399, 1 mar. 2006.

WU, X. *et al.* A review of toxicity and mechanisms of individual and mixtures of heavy metals in the environment. **Environmental Science and Pollution Research**, v. 23, n. 9, p. 8244–8259, 1 maio 2016.

WUANA, R. A.; OKIEIMEN, F. E. Heavy metals in contaminated soils: a review of sources, chemistry, risks and best available strategies for remediation. **International Scholarly Research Notices**, v. 2011, 2011.

XIN, X. *et al.* Sources, Indicators, and Assessment of Soil Contamination by Potentially Toxic Metals. **Sustainability**, v. 14, n. 23, p. 15878, 29 nov. 2022.

YADAV, S. K. Heavy metals toxicity in plants: an overview on the role of glutathione and phytochelatins in heavy metal stress tolerance of plants. **South African journal of botany**, v. 76, n. 2, p. 167–179, 2010.

YAN, A. *et al.* Phytoremediation: a promising approach for revegetation of heavy metal-polluted land. **Frontiers in plant science**, v. 11, p. 359, 2020.

YANG, J. H.; WANG, H. Molecular Mechanisms for Vascular Development and Secondary Cell Wall Formation. **Frontiers in Plant Science**, v. 7, 22 mar. 2016.

YARA, K. **A NOVA CONFIGURAÇÃO DA INDÚSTRIA DE FERTILIZANTES FOSFATADOS NO BRASIL**. [s.l.] Ministério da Ciência e Tecnologia, 1999.

YIN, W.-J. *et al.* Halide perovskite materials for solar cells: a theoretical review. **Journal of Materials Chemistry A**, v. 3, n. 17, p. 8926–8942, 22 abr. 2015.

YUAN, F. *et al.* Rural women and chemical fertiliser use in rural China. **Journal of Cleaner Production**, v. 344, p. 130959, 10 abr. 2022.

ZAKARIA, Z. *et al.* Understanding Potential Heavy Metal Contamination, Absorption, Translocation and Accumulation in Rice and Human Health Risks. **Plants**, v. 10, n. 6, p. 1070, 26 maio 2021.

ZALIDIS, G. *et al.* Impacts of agricultural practices on soil and water quality in the Mediterranean region and proposed assessment methodology. **Agriculture, Ecosystems & Environment**, Soil Health as an Indicator of Sustainable Management. v. 88, n. 2, p. 137–146, 1 fev. 2002.

ZEITTOUNI, C. DE F.; BERTON, R. S.; ABREU, C. A. DE. Fitoextração de cádmio e zinco de um latossolo vermelho-amarelo contaminado com metais pesados. **Bragantia**, v. 66, p. 649–657, 2007.

ZENG, X. *et al.* Ecological risk evaluation and sensitivity analysis of heavy metals on soil organisms under human activities in the Tibet Plateau, China. **Plos one**, v. 18, n. 8, p. e0285116, 2023.

ZHANG, Y. *et al.* Meteorological and hydrological conditions driving the formation and disappearance of black blooms, an ecological disaster phenomena of eutrophication and algal blooms. **Science of The Total Environment**, v. 569–570, p. 1517–1529, nov. 2016.

ZHAO, F.-J. *et al.* Soil Contamination in China: Current Status and Mitigation Strategies. **Environmental Science & Technology**, v. 49, n. 2, p. 750–759, 20 jan. 2015a.

ZHAO, F.-J. *et al.* Soil Contamination in China: Current Status and Mitigation Strategies. **Environmental Science & Technology**, v. 49, n. 2, p. 750–759, 20 jan. 2015b.

ZHONG, X. *et al.* Factors influencing heavy metal availability and risk assessment of soils at typical metal mines in Eastern China. **Journal of Hazardous Materials**, v. 400, p. 123289, 5 dez. 2020.

ZHOU, Y. *et al.* Occurrence, source and ecotoxicological risk assessment of pesticides in surface water of Wujin District (northwest of Taihu Lake), China. **Environmental Pollution (Barking, Essex: 1987)**, v. 265, n. Pt A, p. 114953, out. 2020.

ZHUANG, Z. *et al.* Accumulation of potentially toxic elements in agricultural soil and scenario analysis of cadmium inputs by fertilization: A case study in Quzhou county. **Journal of environmental management**, v. 269, p. 110797, 2020.

2. CAPÍTULO II: INFLUÊNCIA DE BACTÉRIAS NA BIORREMEDIAÇÃO DE SOLO CONTAMINADO COM CÁDMIO E CULTIVADO COM *CRAMBE ABYSSINICA* EM CULTIVO PROTEGIDO

Resumo

A preocupação crescente com a contaminação por Cd, um metal tóxico que se acumula no ambiente e entra na cadeia alimentar, representando riscos à saúde e ao meio ambiente. A pesquisa se concentra em métodos de remediação, como a fitorremediação usando *Crambe abyssinica* e biorremediação com bactérias promotoras de crescimento vegetal (BPCV), destacando seus potenciais contribuições para reduzir a biodisponibilidade do Cd. Os experimentos foram conduzidos em um cultivo protegido com delineamento experimental em blocos casualizados, no Estado do Paraná, Brasil. Utilizou-se inoculação das bactérias *A. brasilense* e *P. fluorescens* em sementes, com doses variadas de Cd. As variáveis avaliadas incluíram crescimento vegetal (CV), características anatômicas das plantas e a concentração de macronutrientes e Cd no tecido vegetal e no solo. Os resultados mostraram que a inoculação com as bactérias promoveu um aumento significativo no crescimento das plantas, mesmo em condições de contaminação por Cd. As plantas inoculadas exibiram maior comprimento de raízes e parte aérea, e também houve melhorias na estrutura vascular do xilema e floema. A análise dos nutrientes revelou melhor absorção de macronutrientes nas plantas inoculadas, além de uma maior capacidade de acumulação de Cd, especialmente na parte aérea das plantas. Os resultados confirmaram que a fitorremediação e biorremediação são estratégias eficazes para mitigar a contaminação por Cd em solos agrícolas. A inoculação com *BPCV* não apenas melhorou a saúde e o crescimento das plantas, mas também aumentou a capacidade das plantas de acumular Cd, potencializando sua utilização em estratégias de biorremediação. As técnicas apresentadas oferecem abordagens sustentáveis para gerenciar riscos ambientais associados aos metais tóxicos.

Palavras-chave: bactérias promotoras de crescimento vegetal; fitorremediação; metais tóxicos; nome das bactérias

Abstract

The article addresses the growing concern regarding contamination by Cd, a toxic metal that accumulates in the environment and enters the food chain, posing risks to health and the environment. The research focuses on remediation methods, such as phytoremediation using *Crambe abyssinica* and bioremediation with microorganisms, highlighting their potential contributions to reducing the bioavailability of Cd. The study was conducted in a protected cultivation in Paraná, Brazil, using a randomized block experimental design. Seed inoculation was performed with *A. brasilense* and *P. fluorescens*, with various doses of Cd applied to the soil. The variables evaluated included plant growth, plant anatomical characteristics, and the concentration of macronutrients and Cd in plant tissue and soil. The results showed that inoculation with the bacteria significantly increased plant growth, even under conditions of Cd contamination. The inoculated plants exhibited greater root and shoot length, and there were also improvements in the vascular structure of the xylem and phloem. The nutrient analysis revealed better absorption of macronutrients in the inoculated plants, along with a greater capacity for Cd accumulation, especially in the aerial parts of the plants. The research confirmed that phytoremediation and bioremediation are effective strategies to mitigate Cd contamination in agricultural soils. Inoculation with *A. brasilense* and *P. fluorescens* not only improved the health and growth of the plants but also enhanced the plants' ability to accumulate Cd, enhancing its use in remediation strategies. The techniques presented offer sustainable approaches to managing environmental risks associated with toxic metals.

Keywords: Plant growth-promoting bacteria; phytoremediation; toxic metals; microorganisms.

2.1. INTRODUÇÃO

A poluição por metais tóxicos, especialmente o Cd, emergiu como uma preocupação ambiental e de saúde pública mundial, dada a sua persistência e capacidade de bioacumulação em solos, águas e atmosfera, e subsequente entrada na cadeia alimentar (Lima, 2023). O Cd destaca-se entre os metais tóxicos devido à sua ampla liberação industrial e consequente risco à saúde através da alimentação (Chien *et al.*, 2003). A contaminação do solo por Cd, exacerbada pelo uso de fertilizantes fosfatados e práticas agrícolas inapropriadas, ressalta a urgência de intervenções para mitigar seus efeitos adversos no ambiente e na saúde (Rafiq *et al.*, 2014).

A prevalência do Cd em solos agrícolas, frequentemente oriunda do uso de fertilizantes fosfatados, lodo de esgoto e resíduos industriais, somada à contribuição da agricultura intensiva, ressalta a natureza antropogênica desse problema (Kumar; Bisht; Dhewa, 2011; Zhong *et al.*, 2020). A situação é agravada pela insuficiência regulatória sobre o uso desses insumos, culminando em altas concentrações de Cd no solo (Yang *et al.*, 2004).

Diante desse cenário, torna-se essencial adotar métodos eficientes de remediação para solos contaminados por Cd. A fitorremediação e a biorremediação destacam-se como soluções sustentáveis, visando diminuir a biodisponibilidade de Cd e atenuar seus impactos. A fitorremediação, utilizando plantas como o Crambe (*Crambe abyssinica*), apresenta-se como uma opção viável, explorando o alto teor de óleo das sementes para aplicações como o biodiesel (Ciciliano *et al.*, 2023). Paralelamente, a biorremediação com bactérias dos gêneros *Azospirillum* e *Pseudomonas* tem demonstrado eficácia na diminuição das concentrações de Cd, graças à tolerância desses microrganismos a metais tóxicos (Cruz-Hernández *et al.*, 2022; Miller *et al.*, 2009).

Desta maneira, este estudo visa elucidar as alternativas para a remediação de Cd, abordando tanto a fitorremediação quanto a biorremediação. Serão abordados os mecanismos de absorção vegetal, bioacumulação e os efeitos deletérios do Cd em plantas. Contudo, é crucial reconhecer que tanto a fitorremediação quanto a biorremediação são influenciadas por variáveis ambientais como pH do solo e matéria orgânica, e que a eficácia desses métodos pode variar conforme as condições locais.

Assim, uma avaliação detalhada de cada situação é indispensável para a seleção da estratégia mais efetiva.

Ao abordar a remediação de solos afetados por cádmio, este estudo contribui para a compreensão sobre a relevância de técnicas de fitorremediação e biorremediação, enfatizando o papel de plantas como o crambe e bactérias como *Azospirillum* e *Pseudomonas* no processo.

2.2. MATERIAL E MÉTODOS

2.2.1 Delineamento experimental e obtenção de plantas

O estudo foi realizado entre abril e julho de 2023, em cultivo protegido em uma propriedade rural no distrito de Espigão Azul (24°50'26"S 53°27'26"W), na macrorregião de Cascavel, Paraná. As análises laboratoriais ocorreram no SBS Laboratório – Análises Agronômicas e Veterinárias, na cidade de Cascavel, PR.

A configuração experimental adotada foi o delineamento em blocos casualizados, organizado em um esquema fatorial com quatro repetições. Os tratamentos consistiram na inoculação de duas espécies de bactérias: *Azospirillum brasilense* (cepas Ab-V5 e Ab-V6, ambas com concentração de 2×10^9 UFC/mL) e *Pseudomonas fluorescens* (ATCC 13525, com concentração de 2×10^9 UFC/mL), sendo cada semente inoculada com 10^6 UFC/mL de células viáveis. A verificação da viabilidade celular foi confirmada por análises de contagem de células viáveis 48 h antes da inoculação, aplicadas diretamente no sulco no momento do plantio.

Quanto à contaminação por Cd, foram estabelecidas quatro doses: controle (sem adição do metal), metade da dose máxima permitida para solos agrícolas ($1,5 \text{ mg kg}^{-1}$), conforme a resolução CONAMA 420 (CONAMA, 2009), a dose máxima permitida ($3,0 \text{ mg kg}^{-1}$) e o dobro da dose máxima permitida ($6,0 \text{ mg kg}^{-1}$).

A contaminação do solo? foi realizada pela adição de uma solução padrão de cloreto de cádmio (CdCl_2) 24 h antes do plantio e da inoculação. O plantio consistiu em dez sementes por vaso, reduzindo-se para quatro plantas por vaso após dez dias, como demonstrado na Figura 1. A unidade experimental compreendeu um vaso com quatro plantas, totalizando 48 vasos conforme esquematizado na Figura 2.



Figura 1: Estágios fenológicos do crambe em cada etapa do experimento. (A) implementação; (B) início da germinação – 4 dias após semeadura; (C) desenvolvimento e desbaste – 15 dias após semeadura; (D) desenvolvimento após o desbaste – 20 dias; (E) surgimento das primeiras flores; (F) desenvolvimento de flores de maneira uniforme; (G) planta antes para a coleta. **FONTE:** O autor, 2023.



Figura 2: Delineamento experimental em blocos casualizados, organizado em um esquema fatorial com quatro repetições, quatro doses de metal e dois microrganismos. (Sem= 0 mg kg⁻¹ de Cd; Metade= 1,5 mg kg⁻¹ de Cd; Dose= 3 mg kg⁻¹ de Cd; Dobro= 6 mg kg⁻¹ de Cd). **FONTE:** O autor, 2023.

Para o cultivo, utilizaram-se sacos plásticos cilíndricos para mudas, com 30 cm de altura e 20 cm de diâmetro, com capacidade para 5 L, preenchidos com 5 kg de latossolo vermelho previamente peneirado (Figura 1.A). Este substrato, inicialmente com boas características agrônômicas para o cultivo de crambe, foi ajustado com fertilização para condições ideais de cultivo. Os detalhes sobre a fertilidade do solo empregado estão apresentados na Tabela 1 de fertilidade a seguir.

Tabela 1: Caracterizações químicas para fins de fertilidade e granulometria do solo utilizado.

Atributo	Solo
pH em CaCl	5,21
Alumínio (Al) (cmolc/dm ³)	0,00
Acidez potencial (H+Al) (cmolc/dm ³)	4,53
Soma de bases (S) (cmolc/dm ³)	10,84
CTC pH 7,0 (cmolc/dm ³)	15,37
CTC efetiva (cmolc/dm ³)	10,84
Saturação de bases (V) (%)	70,53
Matéria orgânica (MO) (g /kg)	39,63
Carbono orgânico (CO) (g kg ⁻¹)	22,99
Cálcio (Ca) (cmolc/dm ³)	8,00
Magnésio (Mg) (cmolc/dm ³)	2,16
Potássio (K) (cmolc/dm ³)	0,68
Fósforo disponível (P) (mg/dm ³)	9,19
Cobre (Cu) (mg/dm ³)	11,13
Ferro (Fe) (mg/dm ³)	26,25
Manganês (Mn) (mg/dm ³)	70,69
Zinco (Zn) (mg/dm ³)	5,45
Boro (B) (mg/dm ³)	0,55
Enxofre (S) (mg/dm ³)	7,70
Areia (%)	16,30
Silte (%)	16,70
Argila (%)	67,00

FONTE: o autor, 2023.

Os tratamentos receberam irrigação a cada 48 h para manutenção da umidade do solo, do plantio até o início do florescimento (Figura 1.F).

2.2.2 Análises morfométricas

No 50º dia após a emergência (DAE), as plantas foram removidas dos vasos para medição do comprimento total, altura da parte aérea, comprimento da raiz (utilizando-se régua graduada) e diâmetro do caule (com paquímetro digital). Posteriormente, as plantas foram seccionadas em raiz e parte aérea, as quais foram acondicionadas em sacos de papel e pesadas para determinação da massa fresca. As amostras foram então secas em estufa de circulação forçada de ar a 65°C até atingir massa constante, seguido pela determinação da massa seca com uma balança de precisão.

A análise da anatomia dos feixes vasculares foi realizada por meio de secções na região do colo. O processamento das amostras seguiu o protocolo proposto por Gordon e McCandless (1973), com adaptações.

No início, os fragmentos foram tratados com uma solução de paraformaldeído a 4%, ajustada para pH 7,20, e deixados imersos por 20 h para garantir uma fixação completa. Em seguida, as amostras foram processadas através de uma sequência de etapas que envolveram desidratação com álcool etílico em diferentes concentrações: 30%, 50%, 70%, 80% e 90%, cada etapa durando 2 h, seguidas por duas etapas em álcool etílico a 100% por 2 h cada. Após a desidratação, as amostras foram submetidas à clarificação em xilol I (uma mistura de 50% de álcool etílico a 100% e 50% de xilol) por 1 h e em xilol II (puro) por mais 1 h.

Em seguida, as amostras foram incluídas em parafina, passando por três etapas de imersão em parafina, cada uma com duração de 6 h. Os blocos de parafina foram preparados, e após 24 h, quando estavam completamente solidificados, foram feitos cortes utilizando um micrótomo manual. Antes da coloração, as lâminas foram aquecidas a 50°C em uma estufa por cerca de 1 h.

O processo de coloração começou com a remoção da parafina das lâminas em xilol puro I e II por 10 min. cada, seguida por uma série de etapas de hidratação em concentrações decrescentes de álcool etílico e, finalmente, imersão em água. Para a coloração, foi utilizado azul de toluidina a 0,05% em pH 4,00, aplicado às lâminas por 5 min. a 55°C. Após a coloração, as lâminas foram lavadas em água corrente, desidratadas em álcool e fixadas em xilol. Por fim, as lâminas foram montadas com entelan e lamínula.

As amostras foram observadas sob microscópio óptico, permitindo a identificação das paredes do xilema, que se tingiram em verde ou azul esverdeado, enquanto as paredes do floema apresentaram coloração roxa avermelha. Esta diferenciação pode ser observada nas Figuras 3 e 4.

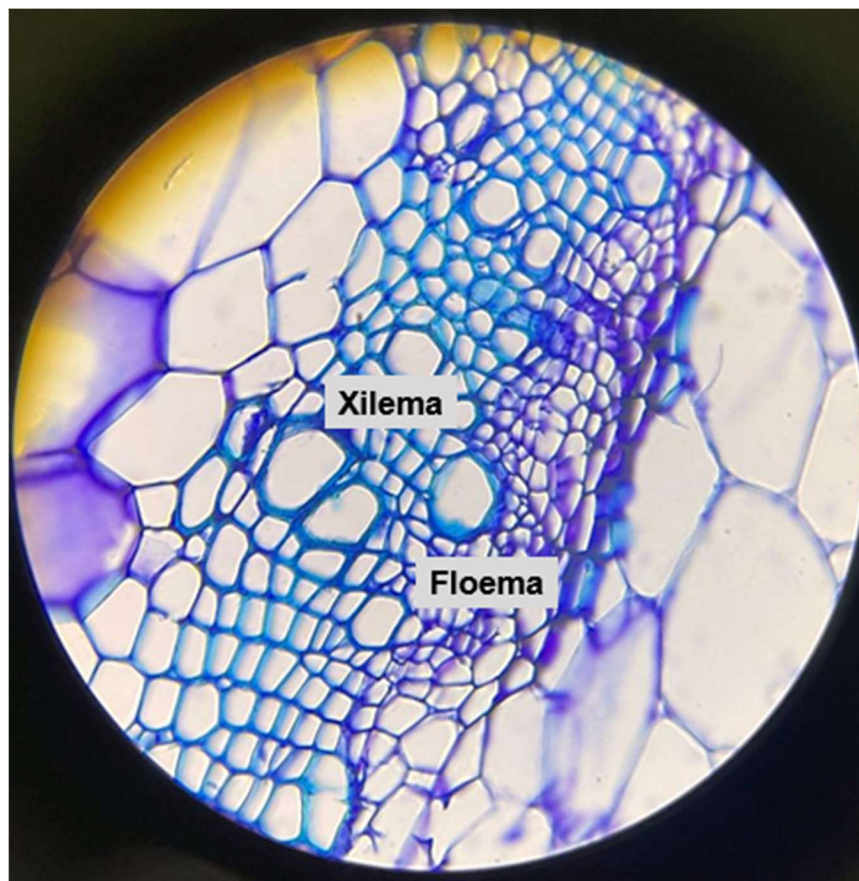


Figura 3: Diferenciação entre coloração dos vasos de xilema em azul e floema em roxo. **FONTE:** O autor, 2023.

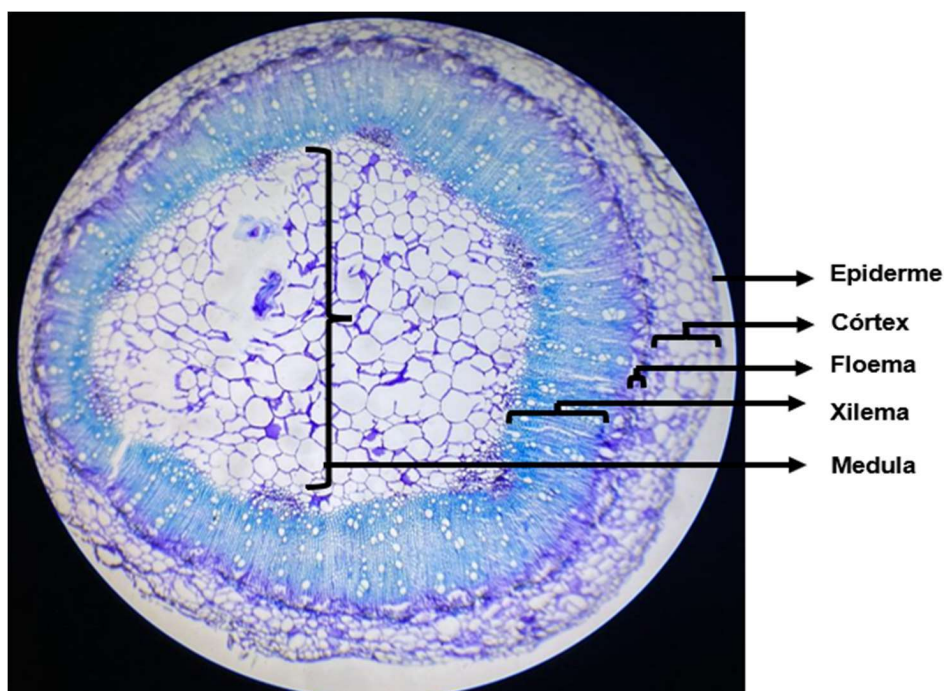


Figura 4: Corte histológico e diferenciação morfológica do colo de crame na implementação da floração coradas com azul de toluidina. **FONTE:** O autor, 2023.

2.2.3 Avaliação de teores totais de macronutrientes, micronutrientes e cádmio em solos e tecido vegetal

Para avaliar os teores totais de macronutrientes, micronutrientes e Cd em tecido vegetal (parte aérea e raiz), realizou-se a extração por meio de digestão nitroperclórica, conforme o método Association Of Official Analytical Collaboration (AOAC, 2023). As determinações de Ca, Mg, Fe, Cu, Zn, Mn e Cd foram realizadas por espectrometria de absorção atômica com atomização por chama (modelo GBC, SavantAA), enquanto K foi medido por fotometria de chama (Benfer, BFC 150). A quantificação de P ocorreu por espectroscopia UV/Vis. O teor de N foi quantificado pelo método de Kjeldahl, conforme modificado por Vogel (Vogel, 1981).

2.2.4 Avaliação de teores disponíveis de macronutrientes em solo

Para determinar os teores de macronutrientes, micronutrientes e Cd disponíveis no solo, e pH adotou-se a metodologia descrita pela Embrapa (Silva, 2009). Empregou-se o extrator de KCl para Ca e Mg, e o extrator Mehlich 1 para P, K.

As determinações de Ca e Mg foram realizadas por espectrometria de absorção atômica com atomização por chama (modelo GBC, SavantAA), enquanto o K foi quantificado por fotometria de chama (Benfer, BFC 150). A quantificação do P ocorreu por espectroscopia UV/Vis.

2.2.5 Limites de Quantificação

O limite de quantificação (LQ) é definido como a menor concentração do analito, que pode ser quantificada na amostra, com exatidão e precisão aceitável. O LQ é considerado como dez vezes o desvio-padrão de uma série de medidas de branco.

O limite de quantificação do método utilizando a espectrofotometria de absorção atômica por chama de ar-acetileno descritos na Tabela 2 a seguir.

Tabela 2: Limite de quantificação para elementos em espectrofotometria de absorção atômica por chama de ar-acetileno.

Elemento	Limite de quantificação (mg kg ⁻¹)
Cálcio	0,009
Magnésio	0,005
Ferro	0,01
Cobre	0,01
Zinco	0,01
Manganês	0,01
Cádmio	0,005

Fonte: O autor, 2024.

2.2.6 índices de acumulação e translocação

O índice de acumulação e de translocação foram calculados conforme as equações 01 e 02 proposta por Zhang *et al.* (Zhang *et al.*, 2007):

$$\text{Índice de acumulação} = \frac{\text{metal acumulado na planta}}{\text{metal acumulado no substrato}} \quad \text{Eq. 1}$$

Da mesma forma, o índice de translocação foi determinado pela equação 2:

$$\text{Índice de translocação} = \frac{\text{concentração de metal na parte aérea}}{\text{concentração de metal na raiz}} \quad \text{Eq. 2}$$

Para a análise estatística dos dados, foi aplicada a Análise de Variância (ANOVA), e as médias foram comparadas pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade, utilizando-se o software estatístico Sisvar 5.6 (Ferreira, 2019).

2.3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

2.3.1 Análises morfométricas

A inoculação resultou em um aumento significativo no comprimento total das plantas de crambe, conforme mostrado na Figura 5.A, independentemente da concentração do metal. Plantas não expostas ao metal também exibiram crescimento em comprimento total quando inoculadas com *A. brasilense* e *P. fluorescens*. Esse efeito no comprimento total das plantas é atribuído ao crescimento acentuado da parte aérea, conforme observado na Figura 5.B. Nos tratamentos sem adição de metal, houve um incremento de 32,70% com *A. brasilense* e 33,17% com *P. fluorescens*. Para a concentração mais alta de metal testada, o aumento foi ainda mais expressivo, alcançando 44,65% com *A. brasilense* e 58,13% com *P. fluorescens*. O comprimento das raízes também aumentou significativamente nos tratamentos sem adição de metal, registrando-se um crescimento de 64,27% com *A. brasilense* e 79,21% com *P. fluorescens*. Com a maior concentração de metal, esse aumento foi excepcionalmente maior, atingindo 166,66% com *A. brasilense* e 286,69% com *P. fluorescens* estes valores podem ser encontrados na Figura 5.C.

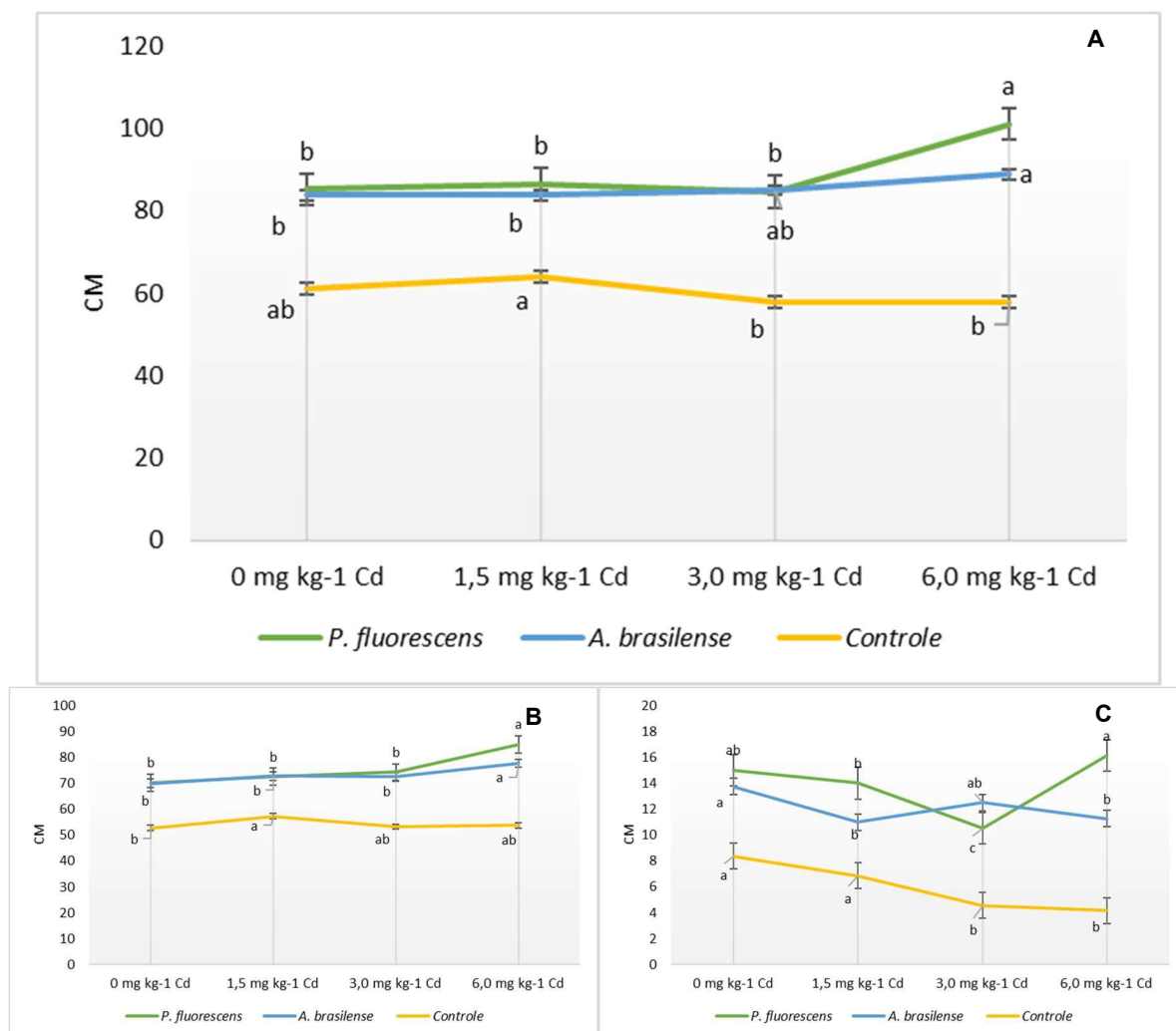


Figura 5: (A) Comprimento total, (B) comprimento de parte aérea e (C) comprimento de raiz das plantas de crambe inoculadas com *A. brasilense* e *P. fluorescens* em resposta a diferentes doses de Cd. **FONTE:** O autor, 2024.

Médias seguidas de letras iguais, não diferem estatisticamente pelo teste de tukey, à 5% de probabilidade ($n=4$), dentro do mesmo grupo. O grupo corresponde sempre a médias encontradas na mesma linha.

A utilização de bactérias promotoras do crescimento vegetal (BPCV), como *A. brasilense* e *Pseudomonas* sp., tem se mostrado eficaz no aumento de raízes e no comprimento das plantas, especialmente sob estresse ambiental. Esses microrganismos auxiliam na absorção de nutrientes e na otimização da fisiologia vegetal, características essenciais para culturas em solos com presença de Cd.

A inoculação com *A. brasilense*, em particular, é vantajosa por facilitar o crescimento das plantas por meio de vários mecanismos, incluindo a síntese de fitohormônios e a melhoria da absorção de N. Essas interações resultam na redução do estresse e no controle biológico de patógenos, impulsionando a produtividade das plantas (Bashan; De-Bashan, 2010; Domenico, 2019; Kargapolova *et al.*, 2020).

Ferreira *et al.* (2020) destacam que *P. fluorescens* contribui para retardar a

senescência das plantas, principalmente através da enzima ACC deaminase, um importante promotor do crescimento vegetal segundo Glick (2014).

Além disso, bactérias como *Azospirillum* e *Pseudomonas* podem estimular o crescimento vegetal e reduzir o estresse por meio da produção de hormônios como auxina, giberelina e citocinina (Khoshru *et al.*, 2020; Lopes; Dias-Filho; Gurgel, 2021).

Estudos conduzidos por Almeida (2020) e Silva (2022) em sementes de milho inoculadas com cepas de *Azospirillum* sp., *Pseudomonas* sp. e *Bacillus aryabhattai* sp. revelaram melhorias significativas no crescimento foliar e no peso da matéria verde da parte aérea. Ambos os estudos indicaram um incremento de mais de 10% em comparação aos grupos controle, evidenciando não apenas o aumento na altura das plantas e na área foliar, mas também na produção, destacando a eficácia destes microrganismos na promoção do crescimento vegetal.

Os resultados obtidos ao utilizar a inoculação com *P. fluorescens* com *A. brasilense* são consistentes com as descobertas de Guimarães *et al.* (2021). Este estudo específico examinou a co-inoculação de sementes de soja com *P. fluorescens*, cepa ATCC 13525, e *Bradyrhizobium japonicum* em conjunto com fertilizante fosfatado. Foi observado que *P. fluorescens* se mostrou eficiente do ponto de vista agrônomo, promovendo melhorias significativas no crescimento e desenvolvimento da cultura de soja. Esse achado reforça a eficácia de usar tais BPCV para aprimorar a produtividade agrícola.

A. brasilense desempenha um papel fundamental na fixação biológica de nitrogênio (FBN), atendendo parcialmente às necessidades de N das plantas, além de sintetizar fitohormônios como auxinas, giberelinas e citocininas, que são cruciais para o estímulo do crescimento radicular (Hungria, 2011). Hungria (2011) notou um aumento significativo no desenvolvimento das raízes e na altura das plantas de milho após a inoculação com *Azospirillum*. Similarmente, Cotrim *et al.* (2016) observaram que plântulas de trigo tratadas com ácido húmico e *A. brasilense* exibiram melhorias no crescimento radicular, da parte aérea e na matéria seca da parte aérea.

Vasconcelos (2022) constatou que o comprimento das raízes em plantas de arroz inoculadas com insumos biológicos, especificamente *Azospirillum* e *Pseudomonas*, foi 35,71% maior em comparação com tratamentos sem inoculação. Este dado ressalta a eficácia do uso de inoculantes na promoção do crescimento vegetal.

Por outro lado, Gautam *et al.* (2016) destacaram que a exposição a metais

tóxicos como o Cd pode adversamente afetar o crescimento radicular. Essa redução no crescimento é atribuída à inibição da divisão celular e da taxa de alongamento celular, frequentemente causada pela obstrução irreversível da bomba de prótons, um componente vital para o metabolismo celular.

Além disso, todas as plantas inoculadas mostraram um aumento significativo tanto na massa fresca quanto na massa seca, resultando em um volume aumentado de massa total, conforme ilustrado nos Figura 6 para massa fresca e para massa seca.

O semelhante ocorreu com os valores de incrementos obtidos para a massa seca, seguindo padrões similares a massa fresca, estes valores encontram-se na Figura 6.

Estudos conduzidos por Babu *et al.* (2015) mostraram que *Miscanthus sinensis*, em associação com *P. koreensis* em solos contaminados por metais tóxicos de atividades de mineração, exibiu alta tolerância a metais pesados e aumentou significativamente a solubilização de Cd. Essa associação também resultou em um aumento de 54% na biomassa de *M. sinensis*, além de melhorias na absorção de nutrientes e na produção de biomassa aérea, beneficiando a microbiota do solo (Hungria, 2011).

No que diz respeito a outros estudos, Chiarini *et al.* (1998) observaram aumentos significativos na massa da matéria fresca tanto da parte aérea quanto da raiz em plantas de sorgo tratadas com *P. fluorescens*. De maneira similar, Gasoni *et al.* (2001) reportaram benefícios apenas na massa da matéria fresca da parte aérea em culturas de alface inoculadas com *P. fluorescens*. Bulegon *et al.* (2016) também encontraram resultados promissores na cultura da soja com a inoculação de *A. brasilense*.

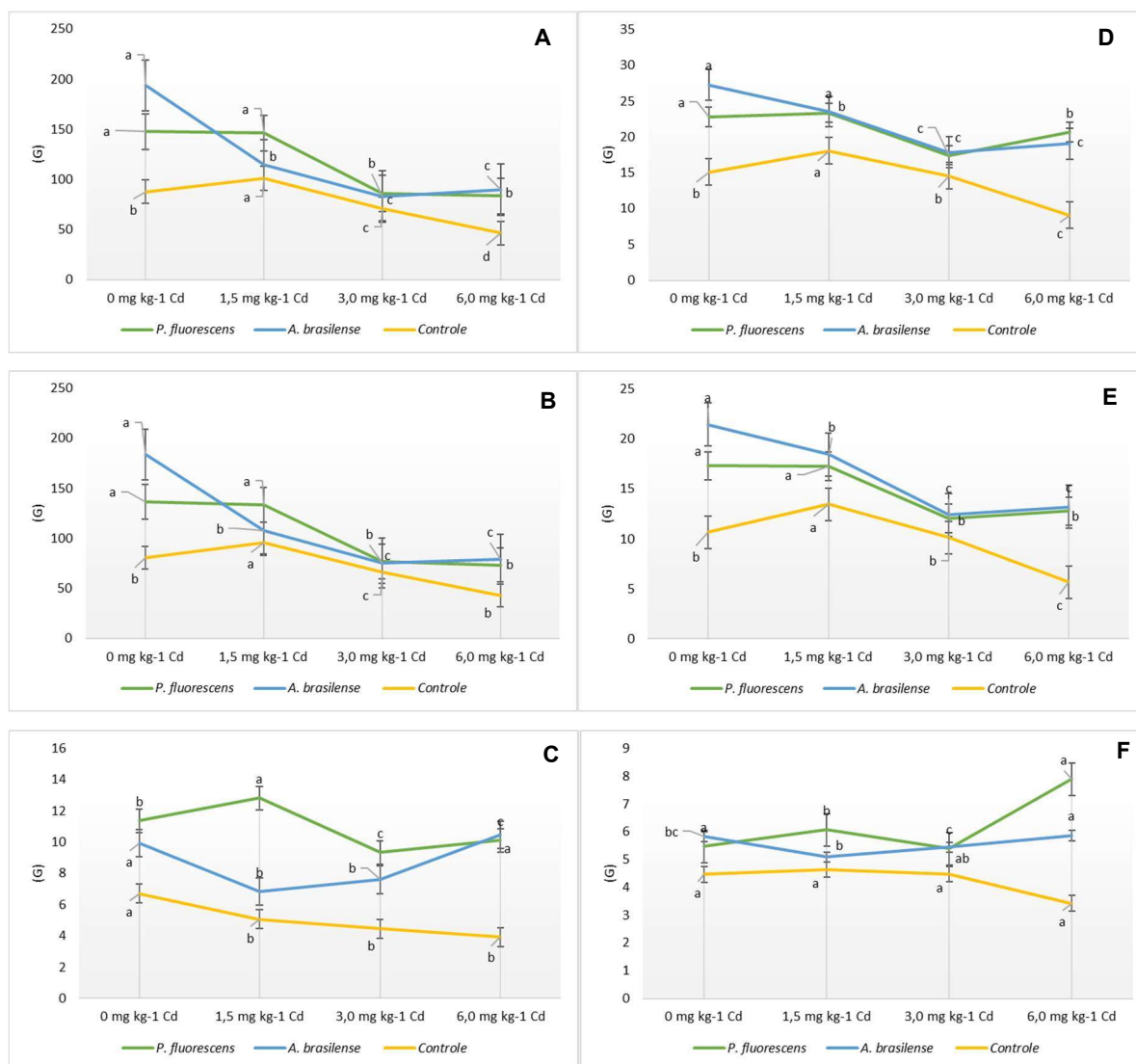


Figura 6: Relação de (A) massa fresca total, (B) massa fresca de parte aérea, (C) massa fresca de raiz, (D) massa seca total, (E) massa seca de parte aérea, (F) massa seca de raiz, das plantas de crame inoculadas com *A. brasilense* e *P. fluorescens* em resposta a diferentes doses de Cd. **FONTE:** O autor, 2024.

Médias seguidas de letras iguais, não diferem estatisticamente pelo teste de Tukey, à 5% de probabilidade ($n=4$), dentro do mesmo grupo. O grupo corresponde sempre a médias encontradas na mesma linha.

Os efeitos nocivos do Cd nas plantas são bem documentados, incluindo sintomas visíveis como inibição do crescimento, clorose, necrose e murcha, além da redução na taxa de fotossíntese e na respiração celular (Navarro-León *et al.*, 2019). Além desses efeitos visíveis, o Cd também causa impactos menos aparentes, como a diminuição da biomassa, alterações na composição mineral e danos a nível subcelular (Sanità di Toppi; Gabbrielli, 1999). Em situações extremas, a presença de Cd pode reduzir drasticamente a produção de biomassa e até levar à morte das plantas (Dias *et al.*, 2012).

Vasconcelos (2022) notou um incremento na massa fresca da parte aérea de plantas de arroz em tratamentos inoculados com insumos biológicos comparativamente aos tratamentos sem inoculação. Além disso, Domingues *et al.* (2019) verificaram que a inoculação com *A. brasilense* promoveu melhorias significativas no crescimento radicular das plantas de soja, incluindo aumento no comprimento radicular e na massa seca da radícula.

Avaliar a biomassa é essencial para compreender as estratégias de fitoremediação e o desenvolvimento vegetal em ambientes contaminados. Greger (2003) destaca a diferença entre plantas hiperacumuladoras, que apesar de sua baixa produção de biomassa têm alta capacidade de acumulação de metais, e as plantas acumuladoras, que produzem mais biomassa mas acumulam menos metal. Esta diferenciação é crucial para otimizar a remoção de metais por área, não apenas focando na acumulação, mas também na quantidade de biomassa produzida.

A. brasilense é notório por sua capacidade de melhorar a absorção de nutrientes, o que leva a um aumento na produção de biomassa aérea, beneficiando a microbiota do solo, mantendo a umidade e reduzindo a lixiviação de nutrientes (Hungria, 2011). Esta eficácia também foi observada em estudos de Novinscak, Joly e Fillion (2019), onde a inoculação de *P. fluorescens* via semente mostrou aumentar a biomassa vegetal e o rendimento de óleo em culturas como soja e canola.

Vasconcelos (2022) notou que a matéria seca da parte aérea das plantas de arroz inoculadas com *P. fluorescens* e *A. brasilense* teve um aumento significativo de 70,27%. Em contrapartida, Marques *et al.* (2020) relataram que a produção de matéria seca da parte aérea de espécies arbóreas foi negativamente impactada pela contaminação do solo com Cd, comprometendo o crescimento de algumas espécies.

Da mesma forma, Koščak *et al.* (2023) demonstraram que a inoculação de *A. brasilense* em alface cultivada hidroponicamente aumentou significativamente a massa fresca e seca, o número de folhas e a produção de clorofila. Esse resultado sugere que essas bactérias podem ser eficazes em várias plantas e condições de cultivo.

Rafique *et al.* (2016) também corroboraram esses achados, ao demonstrar que a inoculação com *A. brasilense* em trigo levou a um aumento significativo do peso fresco e seco das plantas, além de promover maior comprimento de raiz e folha. Esse efeito benéfico é atribuído à capacidade das bactérias de produzir fitohormônios e melhorar a eficiência nutricional das plantas.

O diâmetro do caule das plantas inoculadas seguiu um padrão similar, sendo significativamente maior do que nas plantas não inoculadas. Nos tratamentos sem adição de metal, observou-se um aumento de 61,03% com *A. brasilense* e 76,33% com *Pseudomonas* spp. Na maior concentração de metal testada, o incremento foi ainda mais acentuado, sendo de 96,75% com *A. brasilense* e 92,82% com *P. fluorescens* como observado na Figura 7.

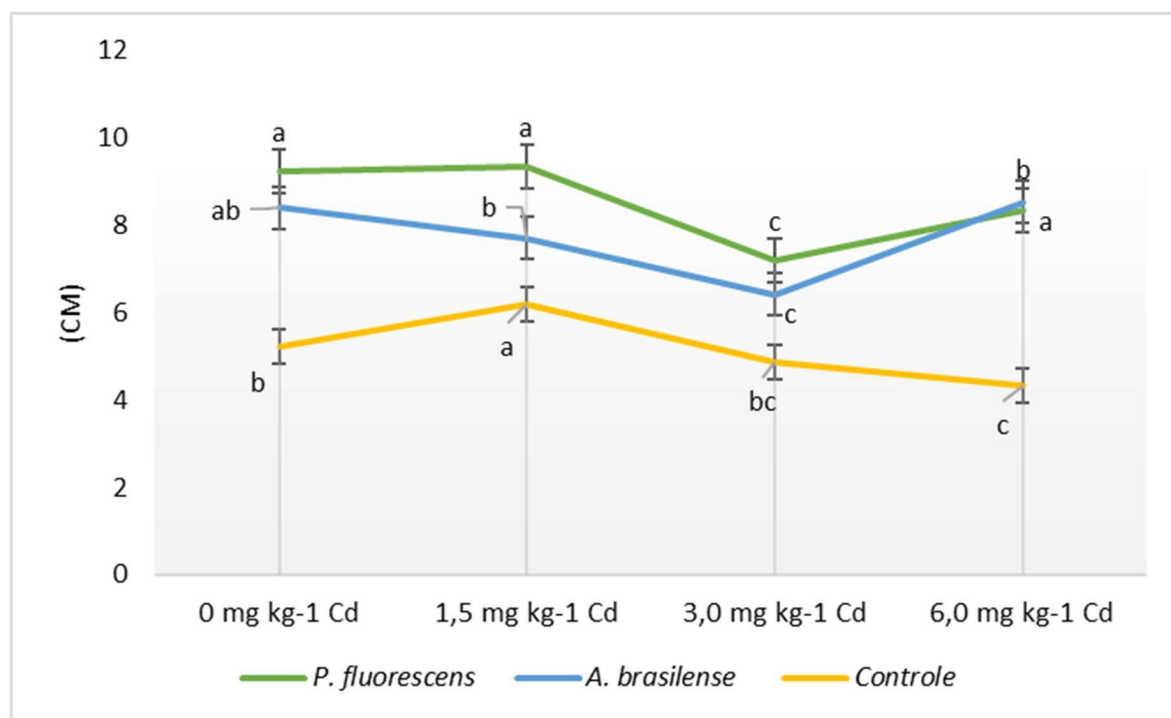


Figura 7: Relação do diâmetro do caule das plantas de crambe inoculadas com *A. brasilense* e *P. fluorescens* em resposta a diferentes doses de Cd. **FONTE:** O autor, 2024

Médias seguidas de letras iguais, não diferem estatisticamente pelo teste de tukey, à 5% de probabilidade (n=4), dentro do mesmo grupo. O grupo corresponde sempre a médias encontradas na mesma linha.

A pesquisa na área de inoculação com BPCV, como *A. brasilense* e *P. fluorescens*, tem destacado sua eficácia em promover alterações significativas na fisiologia das plantas. Um dos efeitos observados é o aumento no diâmetro do caule, um indicador de um desenvolvimento vegetativo mais robusto e de uma possível maior resistência a estresses ambientais, como a presença de metais tóxicos, incluindo o Cd.

Estudos recentes confirmam que essas bactérias não apenas aumentam o diâmetro do caule, mas também contribuem para a melhoria da qualidade e do rendimento dos frutos. Por exemplo, um estudo conduzido com tomateiros inoculados

com *P. fluorescens* e *A. brasilense* demonstrou que estas bactérias melhoraram substancialmente tanto o diâmetro do caule quanto o desempenho geral da planta, provavelmente devido à melhoria na nutrição e à modulação hormonal promovida pelas bactérias (Pérez-Rodriguez *et al.*, 2020).

Embora esses estudos não tenham focado especificamente em plantas da família Brassicaceae ou na presença de Cd, eles demonstram o potencial das inoculações bacterianas em fortalecer as plantas. Esse fortalecimento pode ser particularmente vantajoso em ambientes contaminados com metais pesados. A capacidade dessas bactérias de modificar a fisiologia das plantas pode conferir uma proteção melhorada contra os efeitos tóxicos de metais como o Cd, aumentando assim a tolerância das plantas a esses estresses.

2.3.2. Análises anatômicas

Quanto às análises anatômicas, observou-se alterações na anatomia do colo das plantas, tanto em resposta à presença de Cd quanto à inoculação com as bactérias. De maneira geral, a inoculação resultou em um aumento no número de camadas celulares no xilema observadas na Figura 8.B e no floema observadas na Figura 8.A, enquanto a adição de Cd tendeu a reduzir essas camadas. A diferenciação e o desenvolvimento dos vasos condutores, xilemáticos ou floemáticos, são processos complexos, influenciados por hormônios vegetais. As giberelinas atuam nas fases iniciais, enquanto auxinas e citocininas regulam as etapas subsequentes do desenvolvimento, culminando com a participação do etileno na formação final dos vasos condutores (Sorce *et al.*, 2013).

Em média, plantas inoculadas com *A. brasilense* apresentaram um aumento de 229,34% no floema e de 231,54% no xilema. A inoculação com *P. fluorescens* resultou em um aumento de 156,94% no floema e 130,07% no xilema. No caso das células da medula observadas (Figura 8.C), apenas *P. fluorescens* induziu um incremento de 18,83%, enquanto para o córtex observado na Figura 8.D, *A. brasilense* ocasionou um aumento de 24,79% observadas na Figura 9.

A inoculação de BPCV pode efetivamente aumentar o tamanho e número de células nos feixes vasculares de xilema e floema. Essa capacidade é atribuída a várias estratégias empregadas pelos microrganismos, incluindo a produção de fitohormônios como auxinas, giberelinas e citocininas, que regulam o crescimento das plantas e

influenciam a diferenciação do tecido vascular a melhoria da nutrição de plantas.

Tais processos melhoram a nutrição geral da planta, o que é fundamental para o desenvolvimento robusto do sistema vascular. E as modificações do sistema radicular onde alguns microrganismos influenciam a arquitetura do sistema radicular, promovendo o desenvolvimento de raízes laterais e pelos radiculares. Essas mudanças podem aumentar a absorção de água e nutrientes, suportando um sistema vascular mais desenvolvido e funcional (Bush; Sethi; Sablowski, 2022; Yang; Wang, 2016)

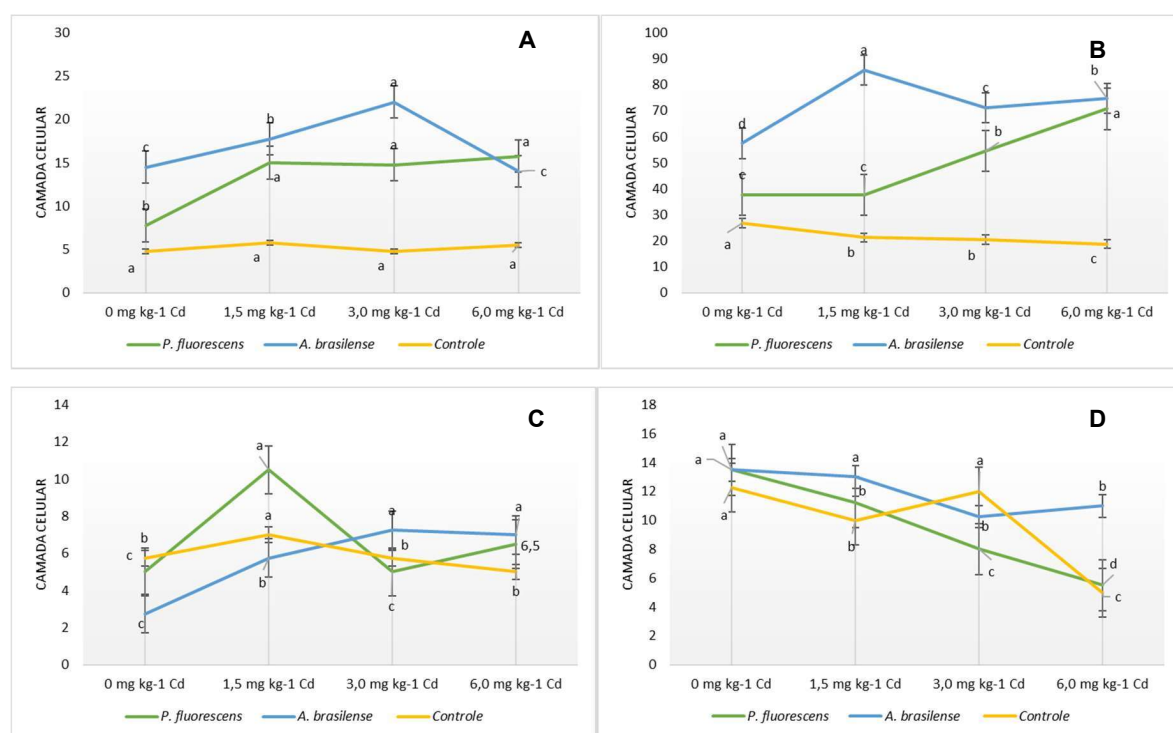


Figura 8: Relação das análises histomorfológica para (A) floema, (B) xilema, (C) medula e (D) córtex de colo de plantas de crambe inoculadas com *A. brasilense* e *P. fluorescens* em resposta a diferentes doses de Cd. **FONTE:** O autor, 2024.

Médias seguidas de letras iguais, não diferem estatisticamente pelo teste de tukey, à 5% de probabilidade (n=4), dentro do mesmo grupo. O grupo corresponde sempre a médias encontradas na mesma linha.

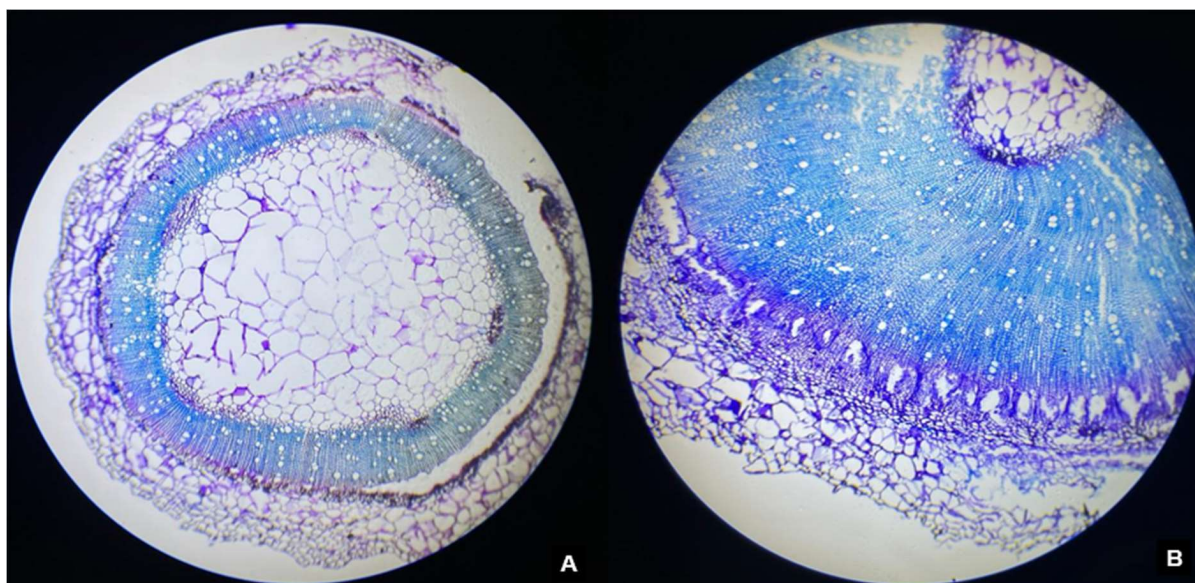


Figura 9: Corte histológico de colo de plantas de crambe, (a) plantas sem inoculação e com o dobro da dose máxima de Cd (9 mg kg^{-1}), (b) plantas inoculadas com *P. fluorescens* e em contato com o dobro da dose máxima de Cd (9 mg kg^{-1}); ambas observadas com um aumento de 40x. **FONTE:** O autor, 2024

A formação do xilema, um componente crucial do sistema vascular das plantas, é regulada por uma complexa interação hormonal que envolve a diminuição de citocininas e auxinas e o aumento de etileno, promovendo a morte celular programada necessária para a formação dos vasos xilemáticos especializados no transporte passivo de água e nutrientes (Sorce *et al.*, 2013). A presença de *A. brasilense* tem se mostrado benéfica para o xilema, especialmente em condições de estresse hídrico ou ataques de patógenos, pois aumenta a condutividade hidráulica das plantas, essencial para manter o equilíbrio hídrico (Pereyra *et al.*, 2012; Romero; Vega; Correa, 2014). Estudos como os de Battistus (2019) e outros (Boghdady; Ali, 2013; El-Afry *et al.*, 2012) também indicam melhorias na estrutura vascular do xilema em plantas de milho e trigo inoculadas com *A. brasilense*.

Similarmente, estudos sobre o floema, outra parte vital do sistema vascular, revelam que a inoculação com *A. brasilense* pode aprimorar significativamente a estrutura vascular, aumentando o diâmetro dos feixes vasculares de floema, o que sugere uma melhoria na capacidade de transporte de nutrientes dentro da planta, além de uma melhor resposta em condições de estresse, como a presença de Cd (Battistus, 2019; Boghdady; Ali, 2013; El-Afry *et al.*, 2012).

Quanto à medula, embora não existam estudos específicos que detalhem os efeitos das inoculações em plantas da família Brassicaceae com Cd, como foi discutido, é reconhecido que tratamentos com *A. brasilense* e *P. fluorescens*

melhoram o crescimento geral das plantas, influenciando a absorção de nutrientes e a regulação hormonal, o que pode levar a modificações benéficas na estrutura interna da planta, como a medula, crucial para o armazenamento de nutrientes e a condução de água e solutos.

Finalmente, o córtex das plantas também se beneficia da inoculação com essas bactérias. A capacidade dessas bactérias de alterar a absorção de nutrientes e a regulação hormonal pode resultar em mudanças significativas na estrutura do córtex, que é essencial para o armazenamento de substâncias e a condução de água e solutos dentro do caule. Embora os estudos específicos sejam limitados, é plausível que a melhoria na eficiência nutricional e hídrica promovida pelas bactérias ajude as plantas a lidarem melhor com o estresse causado por metais pesados, como o Cd, fortalecendo a capacidade das plantas de manter uma anatomia saudável, incluindo o córtex.

2.3.3. Teores totais de nutrientes em tecido vegetal - parte aérea

Nas partes aéreas, observou-se que plantas inoculadas e expostas ao Cd apresentaram menores quantidades de Ca em comparação com as não inoculadas, destacando-se que, em contato com $1,5 \text{ mg kg}^{-1}$ de Cd, as plantas sem inoculação acumularam 79,10% mais Ca do que as inoculadas. Para concentrações de $3,0 \text{ mg kg}^{-1}$ de Cd, a diferença aumentou para 84,34%, e para $6,0 \text{ mg kg}^{-1}$ de Cd, foi de 50,84% tais valores são encontrados na Tabela 3 a seguir.

O Mg exibiu um padrão similar, com uma redução na sua concentração à medida que aumentava a concentração de Cd, porém, assim como para o Ca, a inoculação reduziu a acumulação deste elemento, com aumentos observados de 120,35%, 42,32% e 78,57% respectivamente para as concentrações de $1,5 \text{ mg kg}^{-1}$, $3,0 \text{ mg kg}^{-1}$ e $6,0 \text{ mg kg}^{-1}$ de Cd, respectivamente. O N seguiu os mesmos padrões observados para o Ca e o Mg como observado na Tabela 3.

Tabela 3: Níveis nutricionais de macro e micronutrientes em parte aérea de plantas de crame inoculadas com *A. brasilense* e *P. fluorescens* em resposta a diferentes doses de Cd.

Teores totais de nutrientes em parte aérea		Zero (0,0 mg kg ⁻¹ Cd)	Metade (1,5 mg kg ⁻¹ Cd)	Dose (3,0 mg kg ⁻¹ Cd)	Dobro (6,0 mg kg ⁻¹ Cd)
Ca (g kg⁻¹)	<i>P. fluorescens</i>	15,45 (a)	13,77 (b)	12,76 (c)	10,60 (d)
	<i>A. brasilense</i>	11,61 (a)	11,58 (a)	7,92 (c)	9,42 (b)
	Controle	12,66 (c)	20,74 (a)	14,6 (b)	14,21 (b)
Mg (g kg⁻¹)	<i>P. fluorescens</i>	2,29 (a)	1,89 (b)	1,74 (b)	1,76 (b)
	<i>A. brasilense</i>	1,76 (a)	1,91 (a)	1,13 (b)	1,40 (b)
	Controle	2,39 (b)	2,69 (a)	2,49 (ab)	2,50 (ab)
N (g kg⁻¹)	<i>P. fluorescens</i>	52,71 (a)	51,34 (b)	42,38 (d)	45,08 (c)
	<i>A. brasilense</i>	48,68 (b)	55,58 (a)	45,43 (d)	47,32 (c)
	Controle	50,78 (a)	51,10 (a)	49,56 (b)	50,89 (a)
Fe (mg kg⁻¹)	<i>P. fluorescens</i>	999,60 (c)	1795,39 (a)	1748,87 (a)	1153,38 (b)
	<i>A. brasilense</i>	1223,00 (b)	467,54 (c)	441,44 (c)	7829,91 (a)
	Controle	573,50 (d)	3330,44 (a)	1676,75 (c)	2406,93 (b)
Cu (mg kg⁻¹)	<i>P. fluorescens</i>	14,25 (d)	18,61 (b)	28,81 (a)	17,55 (c)
	<i>A. brasilense</i>	14,05 (d)	23,70 (c)	25,20 (b)	41,49 (a)
	Controle	21,50 (c)	19,00 (d)	36,44 (a)	32,76 (b)
Zn (mg kg⁻¹)	<i>P. fluorescens</i>	0,41 (c)	0,58 (a)	0,48 (b)	0,51 (b)
	<i>A. brasilense</i>	0,43 (b)	0,44 (b)	0,28 (c)	0,62 (a)
	Controle	0,48 (c)	0,51 (bc)	0,56 (a)	0,55 (ab)
Mn (mg kg⁻¹)	<i>P. fluorescens</i>	78,22 (a)	72,66 (b)	78,73 (a)	65,08 (c)
	<i>A. brasilense</i>	67,43 (d)	68,43 (c)	74,22 (b)	78,77 (a)
	Controle	81,02 (b)	73,01 (c)	68,11 (d)	85,26 (a)

Notas: Limites de quantificação (LQ): Ca = 0,009; Mg = 0,005; Fe = 0,01; Cu = 0,01; Zn = 0,01, Mg = 0,01. Médias seguidas de letras iguais, não diferem estatisticamente pelo teste de tukey, à 5% de probabilidade (n=4), dentro do mesmo grupo. O grupo corresponde sempre a médias encontradas na mesma linha. **FONTE:** O autor, 2024.

Quanto ao P e K, ambos apresentaram um aumento significativo com a inoculação. De forma geral, *A. brasilense* promoveu um aumento de 53,25% na concentração de P na parte aérea, e um aumento de 34,68% na concentração de K, enquanto a inoculação com *Pseudomonas* resultou em um aumento de 235,87% para o P e 94,12% para o K.

No tecido radicular, os macronutrientes Ca, Mg, P e K seguiram o mesmo padrão observado para o tecido da parte aérea, com teores de Ca e Mg inferiores em plantas inoculadas com ambas as bactérias. Para o P e K, os teores foram superiores em plantas inoculadas, especialmente com *Pseudomonas* como observado na Tabela 3.

Ainda na Tabela 3 observamos os valores encontrados para os micronutrientes

em parte aérea, observou-se uma concentração maior nos tratamentos sem inoculação, independentemente do microrganismo empregado. A média harmônica entre todas as concentrações de Cd ilustrou bem cada tratamento. Assim, na parte aérea de plantas sem inoculação, os teores de Cu, Zn e Mn foram respectivamente 5,01%, 18,18% e 6,42% superiores em comparação com as plantas inoculadas. Por outro lado, o Fe mostrou um aumento de 24,71% em plantas inoculadas com *A. brasilense* em comparação às não inoculadas.

A inoculação de plantas com bactérias promotoras de crescimento, como *A. brasilense*, oferece melhorias notáveis na absorção de nutrientes essenciais, incluindo N, P, K, Ca, Mg, S, B, Fe, Mn e Zn. Estas bactérias não apenas aumentam a disponibilidade destes nutrientes, mas também potencializam processos fisiológicos cruciais, como a fotossíntese e a eficiência no uso da água. Um estudo sobre alface hidropônica inoculada com *A. brasilense*, por exemplo, mostrou um incremento no acúmulo desses nutrientes na parte aérea, resultando em um aumento significativo da biomassa e da produção de clorofila (Zhang *et al.*, 2014). Esse efeito é particularmente vantajoso em sistemas de cultivo como a hidroponia, onde a eficiência na absorção de nutrientes é fundamental (Hungria, 2011).

P. fluorescens, por sua vez, é reconhecida por seus múltiplos benefícios na agricultura, incluindo o controle de fitopatógenos, a solubilização de fosfatos e a produção de metabólitos com propriedades antipatogênicas (Kazi *et al.*, 2016; Oliveira *et al.*, 2015). Esta bactéria desempenha funções vitais como a produção de fitohormônios e a regulação dos níveis de etileno, o que facilita uma melhor absorção de nutrientes (Hungria; Nogueira, 2021).

Além disso, estudos têm demonstrado que a inoculação com *A. brasilense* pode aumentar significativamente os teores de nutrientes em diversas culturas. Por exemplo, a pesquisa com capim-braquiária (*Urochloa brizantha*) mostrou um aumento de 13% no teor de N e 10,4% em K após a inoculação com *A. brasilense* (Hungria; Nogueira, 2021). Resultados similares foram observados em capim tamani, com aumentos notáveis em nutrientes como N, P, K e Ca (Andrade *et al.*, 2022).

A eficácia das *Pseudomonas* na solubilização de fosfato foi evidenciada em plantas de feijão, onde a inoculação com *Pseudomonas* sp. resultou em um aumento no teor de P, melhorando a absorção desse nutriente (Silva; Vitti; Trevizam, 2007). Além disso, a inoculação com *P. fluorescens* em milho elevou a disponibilidade de N, otimizando a eficiência da fixação desse elemento no solo (De Siqueira *et al.*, 2018).

A inoculação com *P. aeruginosa* em tomateiros também promoveu um aumento significativo nos teores de K, favorecendo o desenvolvimento e a produtividade das plantas (Santos *et al.*, 2015).

Por fim, é importante considerar que a presença de metais pesados como o Cd pode adversamente afetar a absorção, transporte e utilização de macronutrientes e água, complicando o manejo nutricional das plantas (Das; Samantaray; Rout, 1997; Jiang *et al.*, 2005). Assim, a inoculação com bactérias promotoras de crescimento vegetal surge como uma estratégia potencialmente valiosa para mitigar esses efeitos negativos e melhorar a saúde e a produtividade das plantas em ambientes contaminados.

2.3.4. Teores totais de nutrientes em tecido vegetal - radicular

No tecido radicular, os resultados divergiram dos observados na parte aérea. Sem a presença de Cd, plantas não inoculadas acumularam Fe 7,75 vezes mais do que as inoculadas. Com 1,5 mg kg⁻¹ de Cd, *Pseudomonas* aumentou 2,49 vezes a acumulação de Fe, e em concentrações de 3,0 mg kg⁻¹ e 6,0 mg kg⁻¹ de Cd, *A. brasilense* foi responsável pelos maiores incrementos, com 1,43 vezes e 2,52 vezes, respectivamente, em comparação com plantas não inoculadas (Tabela 4).

Para o Cu, observou-se um aumento significativo em plantas não expostas ao Cd e inoculadas com *A. brasilense*, apresentando um teor 11,28 vezes maior em comparação às plantas não inoculadas. Com 1,5 mg kg⁻¹ de Cd, a inoculação com *Pseudomonas* resultou em um aumento de 2,65 vezes e com *A. brasilense* em 2,09 vezes no teor de Cu. Para plantas expostas a 6,0 mg kg⁻¹ de Cd, aquelas inoculadas com *A. brasilense* tiveram um aumento de 6,71 vezes, enquanto as inoculadas com *Pseudomonas* tiveram um aumento de 1,65 vezes no teor de Cu (Tabela 4).

Tabela 4: Níveis nutricionais de macro e micronutrientes em tecido radicular de plantas de crambe inoculadas com *A. brasilense* e *P. fluorescens* em resposta a diferentes doses de Cd.

Teores totais de nutrientes em raízes					
		Zero (0,0 mg kg ⁻¹ Cd)	Metade (1,5 mg kg ⁻¹ Cd)	Dose (3,0 mg kg ⁻¹ Cd)	Dobro (6,0 mg kg ⁻¹ Cd)
Ca (g kg⁻¹)	<i>P. fluorescens</i>	111,90 (b)	62,13 (d)	127,18 (a)	80,77 (c)
	<i>A. brasilense</i>	82,04 (c)	104,33 (b)	97,75 (b)	116,47 (a)
	Controle	110,20 (b)	101,16 (bc)	89,97 (d)	147,92 (a)
Mg (g kg⁻¹)	<i>P. fluorescens</i>	14,96 (a)	7,02 (b)	15,83 (a)	13,76 (a)
	<i>A. brasilense</i>	12,71 (b)	7,31 (c)	15,70 (a)	6,50 (c)
	Controle	24,00 (a)	9,66 (c)	13,76 (b)	12,33 (bc)
Fe (mg kg⁻¹)	<i>P. fluorescens</i>	192,50 (bc)	273,98 (b)	438,15 (a)	165,73 (c)
	<i>A. brasilense</i>	388,30 (b)	146,16 (d)	535,58 (a)	242,67 (b)
	Controle	915,10 (a)	109,67 (c)	374,16 (b)	96,17 (c)
Cu (mg kg⁻¹)	<i>P. fluorescens</i>	15,51 (c)	46,69 (b)	14,47 (c)	91,76 (a)
	<i>A. brasilense</i>	175,00 (b)	36,93 (c)	15,56 (d)	373,14 (a)
	Controle	33,86 (b)	17,60 (c)	33,16 (b)	55,60 (a)
Zn (mg kg⁻¹)	<i>P. fluorescens</i>	39,65 (c)	32,85 (c)	59,44 (a)	48,25 (b)
	<i>A. brasilense</i>	45,90 (b)	35,87 (c)	48,48 (b)	65,04 (a)
	Controle	62,33 (a)	32,99 (c)	47,90 (b)	57,91 (a)
Mn (mg kg⁻¹)	<i>P. fluorescens</i>	128,20 (a)	52,91 (c)	107,86 (b)	56,27 (c)
	<i>A. brasilense</i>	63,20 (c)	58,15 (c)	132,06 (a)	77,54 (b)
	Controle	129,20 (a)	58,59 (c)	84,89 (b)	59,38 (c)

Notas: Limites de quantificação (LQ): Ca = 0,009; Mg = 0,005; Fe = 0,01; Cu = 0,01; Zn = 0,01, Mg = 0,01. Médias seguidas de letras iguais, não diferem estatisticamente pelo teste de tukey, à 5% de probabilidade (n=4), dentro do mesmo grupo. O grupo corresponde sempre a médias encontradas na mesma linha. **FONTE:** O autor, 2024

Quanto ao Zn no tecido radicular, as alterações foram significantes apenas para plantas expostas a 3,0 mg kg⁻¹ de Cd, onde a inoculação com *P. fluorescens* resultou em um aumento de 24,90% no teor de Zn. Para plantas não expostas ao Cd ou expostas a 1,5 mg kg⁻¹, os teores de Mn não mostraram diferenças significativas entre plantas inoculadas e não inoculadas. No entanto, para exposições a 3,0 mg kg⁻¹ e 6,0 mg kg⁻¹ de Cd, a inoculação com *A. brasilense* foi eficaz em aumentar o teor de Mn, com incrementos de 55,56% e 30,58%, respectivamente, tais valores podem ser observados na Tabela 4.

A pesquisa conduzida por Guimarães *et al.* (2021) destaca a relevância crescente de estudos focados em microrganismos solubilizadores de fosfato como uma estratégia promissora para a promoção do crescimento e produção vegetal. O fosfato é um nutriente essencial, mas sua dinâmica no solo pode ser complexa devido à sua tendência a se fixar em formas pouco disponíveis para as plantas. A capacidade desses microrganismos de solubilizar o fosfato torna-o mais acessível às plantas, o

que pode significativamente melhorar o rendimento e a qualidade das culturas.

O uso desses microrganismos multifuncionais, que não apenas solubilizam fosfato, mas também podem promover o crescimento vegetal através de várias outras funções, como a produção de fitohormônios e a melhoria da absorção de outros nutrientes, é fundamental para o desenvolvimento de uma agricultura mais sustentável. Eles oferecem uma solução ecológica para superar as limitações nutricionais do solo e maximizar a eficiência agrícola, reduzindo a dependência de fertilizantes químicos, que podem ter efeitos adversos tanto no meio ambiente quanto na saúde humana.

2.3.5. Teores totais de cádmio

A concentração de Cd na parte aérea também foi influenciada pela inoculação. No tratamento com $1,5 \text{ mg kg}^{-1}$ de Cd, plantas não inoculadas apresentaram $0,10 \text{ mg kg}^{-1}$ de Cd na parte aérea, enquanto plantas inoculadas com *A. brasilense* mostraram um aumento de 50%, com teores de $0,15 \text{ mg kg}^{-1}$. Plantas inoculadas com *P. fluorescens* apresentaram $0,21 \text{ mg kg}^{-1}$, um incremento de 110%. Com a adição de $3,0 \text{ mg kg}^{-1}$ de Cd, plantas não inoculadas tiveram $0,14 \text{ mg kg}^{-1}$ de Cd na parte aérea, enquanto as inoculadas com *A. brasilense* e *P. fluorescens* apresentaram aumentos de 278,57% e 307,14%, com teores de $0,53 \text{ mg kg}^{-1}$ e $0,57 \text{ mg kg}^{-1}$, respectivamente. Para o tratamento com $6,0 \text{ mg kg}^{-1}$ de Cd, plantas não inoculadas apresentaram $0,59 \text{ mg kg}^{-1}$ de Cd na parte aérea, enquanto as inoculadas com *A. brasilense* e *P. fluorescens* mostraram aumentos de 91,52% e 106,77%, com teores de $1,13 \text{ mg kg}^{-1}$ e $1,22 \text{ mg kg}^{-1}$, respectivamente, tais valores encontram-se descritos na Tabela 5 a seguir.

Tabela 5: Teores de Cd encontrado em solo, raízes e parte aérea de plantas de crambe inoculadas com *A. brasilense* e *P. fluorescens* em resposta a diferentes doses de Cd.

		Teores totais de Cádmio (mg kg ⁻¹)							
		Zero (0,0 mg kg ⁻¹ Cd)		Metade (1,5 mg kg ⁻¹ Cd)		Dose (3,0 mg kg ⁻¹ Cd)		Dobro (6,0 mg kg ⁻¹ Cd)	
Solo	<i>P. fluorescens</i>	<LQ	(d)	0,99	(c)	2,04	(b)	3,13	(a)
	<i>A. brasilense</i>	<LQ	(d)	1,06	(c)	2,11	(b)	3,22	(a)
	Controle	<LQ	(d)	1,26	(c)	2,56	(b)	5,10	(a)
Raízes	<i>P. fluorescens</i>	<LQ	(d)	0,20	(c)	0,30	(b)	1,25	(a)
	<i>A. brasilense</i>	<LQ	(c)	0,22	(b)	0,27	(b)	1,27	(a)
	Controle	<LQ	(c)	0,10	(b)	0,30	(a)	0,30	(a)
Parte aérea	<i>P. fluorescens</i>	<LQ	(d)	0,21	(c)	0,57	(b)	1,22	(a)
	<i>A. brasilense</i>	<LQ	(d)	0,15	(c)	0,53	(b)	1,13	(a)
	Controle	<LQ	(d)	0,10	(c)	0,14	(b)	0,59	(a)

Notas: Limites de quantificação (LQ): Cd = 0,005. Médias seguidas de letras iguais, não diferem estatisticamente pelo teste de tukey, à 5% de probabilidade (n=4), dentro do mesmo grupo. O grupo corresponde sempre a médias encontradas na mesma linha. **FONTE:** O autor, 2024

A inoculação resultou em um aumento do teor de Cd no tecido radicular para ambas as bactérias, indicando que a inoculação potencializa a absorção desse metal. Em condições de exposição a 1,5 mg kg⁻¹ de Cd, as raízes não inoculadas apresentaram um teor de Cd de 0,1 mg kg⁻¹, enquanto as inoculadas com *A. brasilense* e *P. fluorescens* apresentaram teores de 0,22 mg kg⁻¹ e 0,20 mg kg⁻¹, respectivamente. Na exposição a 3,0 mg kg⁻¹ de Cd, a concentração aumentou para 0,27 mg kg⁻¹ em plantas não inoculadas e para 0,30 mg kg⁻¹ em plantas inoculadas com ambas as bactérias. Com a presença de 6,0 mg kg⁻¹ de Cd, as plantas não inoculadas exibiram um teor de 0,30 mg kg⁻¹ de Cd, enquanto aquelas inoculadas com *A. brasilense* e *P. fluorescens* mostraram teores de 1,27 mg kg⁻¹ e 1,25 mg kg⁻¹, respectivamente, mostrados na Tabela 5.

As raízes das plantas são geralmente os primeiros pontos de contato com metais pesados no solo, como o Cd, e tendem a acumular quantidades significativas deste metal. Estudos como o de Oliveira *et al.* (2021) sobre *E. crassipes* e *Salvinia auriculata* mostram que as raízes acumulam mais Cd, confirmando observações anteriores de Grant e Bailey (1998), que sugerem que o Cd pode se ligar às cargas negativas nas paredes celulares das raízes e, em seguida, ser translocado para a parte aérea. No entanto, a translocação do Cd através do xilema pode ocorrer independentemente da produção de fitoquelatinas, moléculas que complexam com metais pesados nas raízes (Salt *et al.*, 1995). Este fenômeno sugere que outros

mecanismos podem desempenhar papéis na mobilidade do Cd dentro das plantas.

Além disso, Dixit *et al.* (2001) apontam que um menor acúmulo de Cd nas folhas pode ser uma estratégia defensiva das plantas para proteger suas funções fotossintéticas do estresse oxidativo induzido pelo metal. Isso indica uma adaptação potencial das plantas para mitigar os efeitos tóxicos do Cd, priorizando a proteção de processos vitais como a fotossíntese.

Os estudos comparativos de acumulação de Cd em diferentes espécies, como relatado por Wong *et al.* (1984) e Kayser *et al.* (1999) em *Brassica juncea*, destacam variações significativas na capacidade de acumulação de Cd, mesmo em condições de contaminação semelhantes. Estes resultados ressaltam a variabilidade entre espécies e até entre genótipos dentro de uma mesma espécie em resposta à exposição ao Cd.

Adicionalmente, a pesquisa de Kang *et al.* (2018) sobre a inoculação de *Leucaena leucocephala* com *Sinorhizobium saheli* em solos de rejeitos de mineração ilustra uma estratégia promissora. A inoculação não só melhorou o crescimento da planta e a absorção de macronutrientes, como também reduziu significativamente a absorção de metais pesados, com uma redução de 80% na absorção de Cd. Isso demonstra o potencial das técnicas de bioaugmentação com microrganismos benéficos para a fitorremediação de solos contaminados, oferecendo uma abordagem eficaz e sustentável para a gestão de solos contaminados com metais pesados.

2.3.6. Teores totais de nutrientes encontrados no solo

No solo, o teor total de Ca foi mais elevado para as plantas não inoculadas. Ao avaliar a média harmônica entre todos os tratamentos de concentrações de Cd, que também reflete as médias isoladas, identificou-se um teor de 19,75 g kg⁻¹ de Ca em solo não inoculado, 19,14 g kg⁻¹ em solo com presença de *A. brasilense*, e 18,46 g kg⁻¹ em solo inoculado com *Pseudomonas*. Destes valores, o solo não inoculado apresentou um teor disponível de Ca de 7,47 cmolc/dm³, enquanto o solo inoculado com *A. brasilense* mostrou um teor de 7,38 cmolc/dm³ e, para solos inoculados com *P. fluorescens*, o teor foi de 7,30 cmolc/dm³ de Ca disponível, os valores para os teores totais de nutrientes encontram-se na Tabela 6, já os teores disponíveis encontram-se na Tabela 7 a seguir.

Tabela 6: Teores totais de macro e micronutrientes em solo após o cultivo de plantas de crame inoculadas com *A. brasilense* e *P. fluorescens* em resposta a diferentes doses de Cd.

Teores totais de nutrientes no solo		Zero (0,0 mg kg ⁻¹ Cd)	Metade (1,5 mg kg ⁻¹ Cd)	Dose (3,0 mg kg ⁻¹ Cd)	Dobro (6,0 mg kg ⁻¹ Cd)
Ca (g kg⁻¹)	<i>P. fluorescens</i>	22,30 (a)	17,67 (b)	17,07 (bc)	16,82 (c)
	<i>A. brasilense</i>	17,97 (b)	23,83 (a)	17,42 (b)	17,36 (b)
	Controle	22,25 (a)	21,24 (b)	17,24 (d)	18,28 (c)
Mg (g kg⁻¹)	<i>P. fluorescens</i>	5,32 (b)	6,39 (a)	4,78 (c)	4,33 (d)
	<i>A. brasilense</i>	5,34 (b)	6,03 (a)	5,33 (b)	4,56 (c)
	Controle	6,25 (a)	5,31 (b)	4,65 (c)	5,42 (b)
Fe (mg kg⁻¹)	<i>P. fluorescens</i>	1012,00 (c)	971,72 (d)	1030,96 (b)	1080,56 (a)
	<i>A. brasilense</i>	1047,00 (c)	916,94 (d)	1085,71 (a)	1067,05 (b)
	Controle	1061,00 (a)	767,79 (d)	1004,09 (b)	977,51 (c)
Cu (mg kg⁻¹)	<i>P. fluorescens</i>	82,27 (b)	88,60 (a)	75,61 (c)	77,64 (c)
	<i>A. brasilense</i>	82,89 (c)	102,64 (b)	72,89 (d)	112,25 (a)
	Controle	64,37 (d)	72,82 (c)	81,81 (b)	125,33 (a)
Zn (mg kg⁻¹)	<i>P. fluorescens</i>	1,77 (a)	1,09 (b)	0,82 (c)	0,72 (d)
	<i>A. brasilense</i>	0,57 (b)	0,46 (d)	0,53 (c)	0,74 (a)
	Controle	0,94 (b)	1,16 (a)	0,75 (c)	0,68 (d)
Mn (mg kg⁻¹)	<i>P. fluorescens</i>	13,26 (a)	12,73 (b)	11,82 (c)	9,50 (d)
	<i>A. brasilense</i>	11,79 (a)	11,89 (a)	12,28 (a)	10,62 (b)
	Controle	9,57 (c)	9,34 (c)	13,63 (a)	11,80 (b)

Notas: Limites de quantificação (LQ): Ca = 0,009; Mg = 0,005; Fe = 0,01; Cu = 0,01; Zn = 0,01, Mg = 0,01. Médias seguidas de letras iguais, não diferem estatisticamente pelo teste de tukey, à 5% de probabilidade (n=4), dentro do mesmo grupo. O grupo corresponde sempre a médias encontradas na mesma linha. **FONTE:** O autor, 2024

Tabela 7: Teores de macronutrientes disponíveis/trocáveis a fim de fertilidade do solo em solo após o cultivo de plantas de crambe inoculadas com *A. brasilense* e *P. fluorescens* em resposta a diferentes doses de Cd.

Teores disponíveis de macronutrientes no solo					
		Zero (0,0 mg kg ⁻¹ Cd)	Metade (1,5 mg kg ⁻¹ Cd)	Dose (3,0 mg kg ⁻¹ Cd)	Dobro (6,0 mg kg ⁻¹ Cd)
Ca (cmol_c/dm³)	<i>P. fluorescens</i>	7,36 (a)	6,79 (b)	7,51 (a)	7,54 (a)
	<i>A. brasilense</i>	7,74 (b)	6,61 (c)	6,85 (c)	8,34 (a)
	Controle	7,49 (b)	7,98 (a)	6,78 (c)	7,63 (b)
Mg (cmol_c/dm³)	<i>P. fluorescens</i>	2,89 (c)	3,44 (b)	4,19 (a)	3,34 (b)
	<i>A. brasilense</i>	2,80 (c)	4,42 (a)	3,72 (b)	4,18 (a)
	Controle	3,34 (d)	4,16 (b)	3,85 (c)	4,31 (a)
K (cmol_c/dm³)	<i>P. fluorescens</i>	0,63 (c)	0,63 (c)	0,69 (a)	0,66 (b)
	<i>A. brasilense</i>	0,63 (c)	0,66 (b)	0,72 (a)	0,64 (bc)
	Controle	0,52 (a)	0,50 (b)	0,47 (c)	0,45 (c)
P (mg/dm³)	<i>P. fluorescens</i>	24,46 (a)	24,22 (ab)	23,85 (b)	23,14 (c)
	<i>A. brasilense</i>	20,43 (a)	19,93 (b)	19,13 (c)	17,85 (d)
	Controle	14,94 (a)	13,92 (b)	11,85 (c)	8,62 (d)

Notas: Limites de quantificação (LQ): Ca = 0,009; Mg = 0,005; Fe = 0,01; Cu = 0,01; Zn = 0,01, Mg = 0,01. Médias seguidas de letras iguais, não diferem estatisticamente pelo teste de tukey, à 5% de probabilidade (n=4), dentro do mesmo grupo. O grupo corresponde sempre a médias encontradas na mesma linha. **FONTE:** O autor, 2024

O Mg seguiu um padrão parecido, com teores totais de 5,41 g kg⁻¹ em solos não inoculados, 5,31 g kg⁻¹ em solos inoculados com *A. brasilense* e 5,20 g kg⁻¹ em solos inoculados com *Pseudomonas*. Os teores disponíveis de Mg foram de 3,92 cmol_c/dm³ para solos não inoculados, 3,78 cmol_c/dm³ para solos com *A. brasilense* e 3,47 cmol_c/dm³ para solos com *Pseudomonas* (Tabela 6 e 7).

Houve uma diferença significativa para o P total em solos inoculados, onde o teor total de P em solos não inoculados foi de 52,25 mg kg⁻¹, com um nível disponível de 12,33 mg kg⁻¹. Para solos inoculados com *A. brasilense*, o teor total de P foi de 59,36 mg kg⁻¹ e o disponível de 19,33 mg kg⁻¹. Para solos com *Pseudomonas*, essa diferença foi ainda mais acentuada, apresentando 65,23 mg kg⁻¹ no total de P e 23,92 mg kg⁻¹ disponíveis (Tabela 6 e 7).

O K exibiu um comportamento similar ao P, com solos não inoculados apresentando 289,34 mg kg⁻¹ de K total e 0,48 cmol_c/dm³ disponível. Solos inoculados com *A. brasilense* mostraram um teor total de 542,12 mg kg⁻¹ e um disponível de 0,66 cmol_c/dm³, enquanto a inoculação com *Pseudomonas* resultou em 535,28 mg kg⁻¹ totais de K e 0,65 cmol_c/dm³ disponíveis (Tabela 6 e 7).

Nos micronutrientes presentes no solo, a inoculação com ambas as bactérias

induziu um aumento aproximado de 8% nos níveis de Fe e de 6,5% para Mn. A inoculação com *A. brasilense* elevou os níveis de Cu em 7,6%, enquanto a inoculação com *Pseudomonas* aumentou os níveis de Zn em 25% (Tabela 6 e 7).

Após o experimento, a dosagem de Cd no solo revelou dados impactantes. Solos sem adição de metal, não previamente contaminados, registraram 0 mg kg⁻¹ de Cd. Em solos com adição de 1,5 mg kg⁻¹ de Cd, os não inoculados apresentaram 1,26 mg kg⁻¹ de Cd, enquanto aqueles inoculados com *A. brasilense* e *P. fluorescens* mostraram concentrações de 1,06 mg kg⁻¹ e 0,99 mg kg⁻¹, respectivamente. Com a adição de 3,0 mg kg⁻¹ de Cd, os solos não inoculados exibiram 2,56 mg kg⁻¹ de Cd, reduzindo para 2,11 mg kg⁻¹ com *A. brasilense* e 2,04 mg kg⁻¹ com *Pseudomonas*. Para a maior dose de Cd de 6,0 mg kg⁻¹, os solos não inoculados tiveram 5,10 mg kg⁻¹ de Cd, enquanto a inoculação com *A. brasilense* e *P. fluorescens* reduziu as concentrações para 3,22 mg kg⁻¹ e 3,13 mg kg⁻¹, respectivamente, o que representa uma diminuição de até 63% nos níveis de Cd no solo.

Duarte (2021) também investigou os efeitos da inoculação combinada de *Pseudomonas* sp. e *A. brasilense* na disponibilidade de nutrientes no solo. Os resultados indicaram que essa sinergia entre as bactérias promotoras do crescimento aumentou significativamente a disponibilidade de nutrientes essenciais como N, P e K, favorecendo a absorção de nutrientes pelas plantas e, conseqüentemente, promovendo um desenvolvimento mais vigoroso.

Contudo, em contextos de contaminação por Cd, a inoculação pode influenciar diferentemente, em alguns casos diminuindo a capacidade das bactérias em solubilizar nutrientes.

Os estudos recentes enfatizam as características multifuncionais dos microrganismos do solo e seus impactos benéficos no desenvolvimento vegetal. Por exemplo, Terra *et al.* (2019), Rezende *et al.* (2021) e Oliveira *et al.* (2022) destacam que além de melhorarem a disponibilidade de nutrientes, esses microrganismos desempenham papéis cruciais na decomposição de resíduos orgânicos. Esse processo é essencial para a mineralização de nutrientes e a formação de quelantes, que complexam e reduzem a toxicidade de compostos poluentes (Moreira; Siqueira, 2006). A decomposição é facilitada por grupos microbianos específicos que possuem enzimas endo ou extracelulares, contribuindo efetivamente para a oxidação da matéria orgânica e melhoria da qualidade do solo.

Quando se trata da disponibilidade de nutrientes no solo, um dos aspectos mais

destacados na literatura é a solubilização de fosfatos pelas bactérias promotoras de crescimento vegetal. O P, um macronutriente essencial, desempenha um papel regulador em várias vias metabólicas e reações bioquímicas fundamentais para o crescimento das plantas (Taiz; Zeiger, 2017). No entanto, em muitos solos, especialmente em regiões tropicais como o Cerrado com Latossolos Vermelhos Distroférricos, o P frequentemente se encontra em formas que são insolúveis e, portanto, inacessíveis para as plantas. Essas formas estão muitas vezes ligadas aos óxidos de Fe e Al presentes no solo (Malavolta; Vitti; Oliveira, 1997).

A habilidade dos microrganismos para solubilizar fosfatos é geralmente atribuída à exsudação de uma variedade de ácidos orgânicos. Estes incluem ácido glucônico, ácidos 2-cetoglucônico, láctico, isovalérico, isobutírico, acético, glicólico, malônico, maléico, oxálico, propiônico, tartárico, butírico, cítrico, fumárico e succínico (Marciano Marra *et al.*, 2012). Esses ácidos orgânicos desempenham um papel chave na quebra dos complexos de fosfato insolúvel, tornando o P disponível para absorção pelas plantas.

Dessa forma, os microrganismos do solo não apenas contribuem diretamente para a saúde e o crescimento das plantas por meio de melhorias nutricionais, mas também jogam um papel vital na sustentabilidade dos sistemas agrícolas, promovendo um ciclo de nutrientes mais eficiente e ambientalmente amigável.

O pH do solo manteve-se estável entre 7,20 e 7,80 em todos os tratamentos avaliados, indicando que as variações nos teores de nutrientes e Cd não foram acompanhadas por alterações significativas no pH do solo como observado na Figura 10.

A estabilidade do pH do solo ao longo de estudos de contaminação e recuperação de solos é um indicador importante, pois sugere que as variações observadas na disponibilidade e absorção de metais pesados, como o Cd, não estão diretamente ligadas a alterações no pH. A constância do pH indica que os efeitos benéficos na modulação da absorção de chumbo são atribuíveis a outros fatores que não a simples alteração da acidez ou alcalinidade do solo.

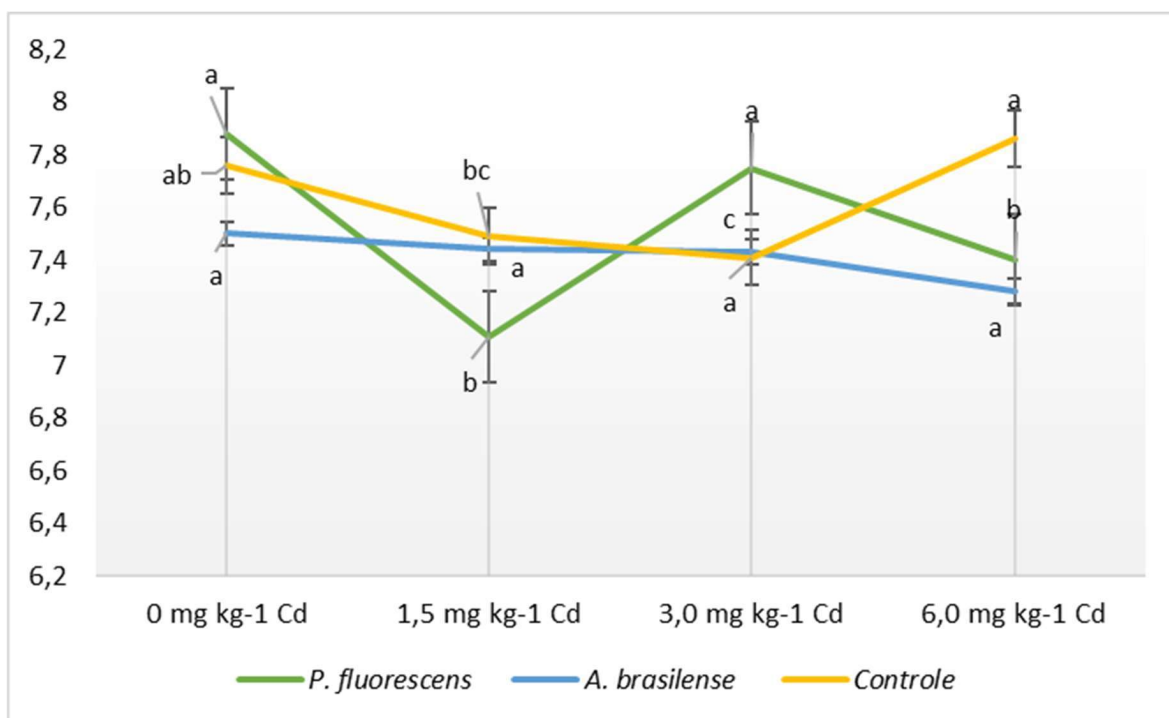


Figura 10: Influência do pH do solo em relação aos tratamentos com plantas de crame inoculadas com *A. brasilense* e *P. fluorescens* em resposta a diferentes doses de Cd. **FONTE:** O autor, 2024
Médias seguidas de letras iguais, não diferem estatisticamente pelo teste de tukey, à 5% de probabilidade (n=4), dentro do mesmo grupo. O grupo corresponde sempre a médias encontradas na mesma linha.

Esse fenômeno pode ser explicado por mecanismos bioquímicos e fisiológicos específicos induzidos pela atividade dos microrganismos inoculados. Entre esses mecanismos, destacam-se a biossorção, a bioprecipitação e a transformação química do metal, processos que podem ser mediados por enzimas ou metabolitos produzidos pelos micróbios. Por exemplo, certos microrganismos são capazes de excretar substâncias quelantes que se ligam ao metal, reduzindo sua mobilidade e toxicidade ao formar complexos estáveis (Chavez Apare, 2019; Domingos, 1997; Florida Rofner *et al.*, 2019).

Além disso, os microrganismos podem afetar a estrutura do solo e a matéria orgânica, influenciando indiretamente a retenção e mobilidade de metais pesados tóxicos. Essas alterações podem facilitar a imobilização do metal em frações do solo menos acessíveis, limitando sua biodisponibilidade.

Portanto, a ausência de alterações no pH do solo reforça a necessidade de explorar mais profundamente como as interações entre plantas, microrganismos e metais pesados tóxicos podem ser utilizadas para desenvolver estratégias mais eficazes e ambientalmente sustentáveis de biorremediação e fitorremediação.

2.3.7 Índice de acumulação e translocação

O índice de acumulação apresentado na Figura 11 revelou que a inoculação potencializa significativamente a capacidade das plantas de crambe de acumular Cd, com um aumento progressivo à medida que os níveis de Cd no solo se elevam. Entre as bactérias estudadas, *A. brasilense* mostrou um índice de acumulação menor, incrementando-se em 250%, 294,11% e 1366,66% para os níveis de 1,5 mg kg⁻¹, 3,0 mg kg⁻¹ e 6,0 mg kg⁻¹ de Cd, respectivamente. *P. fluorescens*, por sua vez, promoveu índices ainda mais elevados, alcançando 320%, 400% e 1533,33% para os mesmos níveis de Cd.

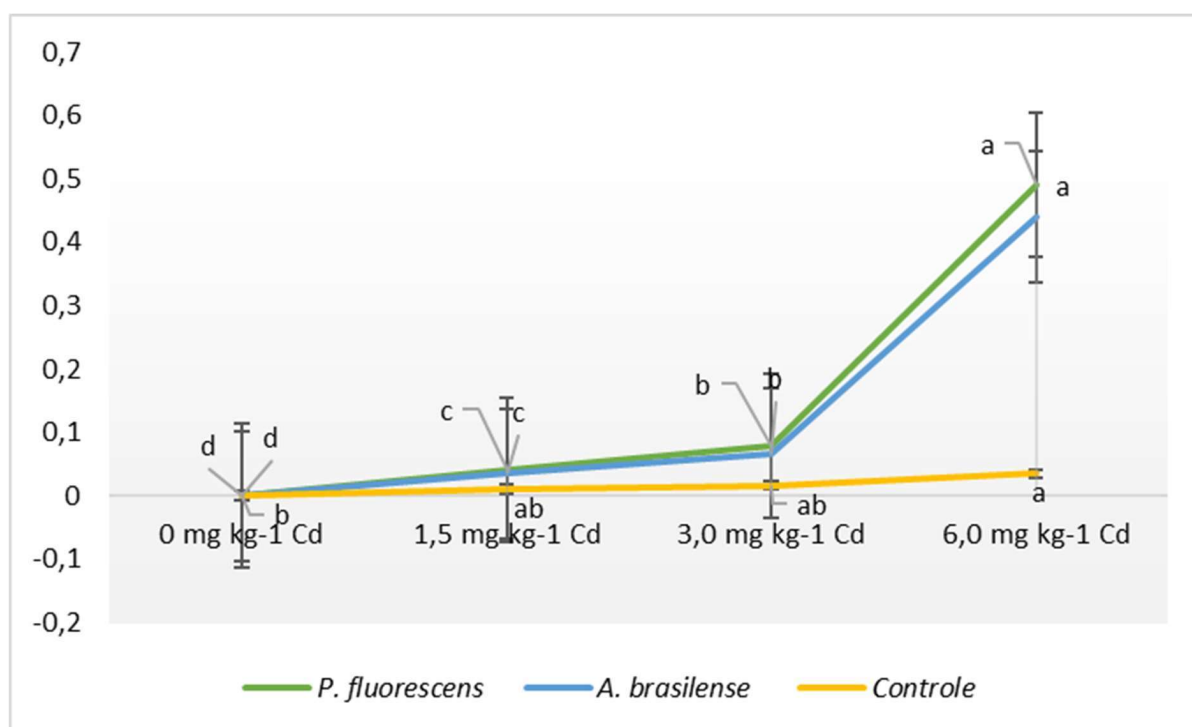


Figura 11: Índice de acumulação para plantas de crambe inoculadas com *A. brasilense* e *P. fluorescens* em resposta a diferentes doses de Cd. **FONTE:** O autor, 2024

Médias seguidas de letras iguais, não diferem estatisticamente pelo teste de tukey, à 5% de probabilidade (n=4), dentro do mesmo grupo. O grupo corresponde sempre a médias encontradas na mesma linha.

O índice de translocação apresentado na Figura 12 variou com a inoculação somente em condições de 1,5 mg kg⁻¹ de Cd, onde *P. fluorescens* alcançou um índice de 1,08, enquanto *A. brasilense* apresentou um valor inferior, de 0,37, comparado a 1,03 para plantas não inoculadas. Em tratamentos com 3,0 mg kg⁻¹ de Cd, o índice para plantas inoculadas com *A. brasilense* foi de 2,03 e, para *P. fluorescens*, de 1,90, contra 0,49 para plantas não inoculadas. Com a adição de 6,0 mg kg⁻¹ de Cd, o índice

para plantas sem inoculação foi de 1,97, enquanto para aquelas inoculadas com *A. brasilense* foi de 0,88 e com *P. fluorescens* de 0,98.

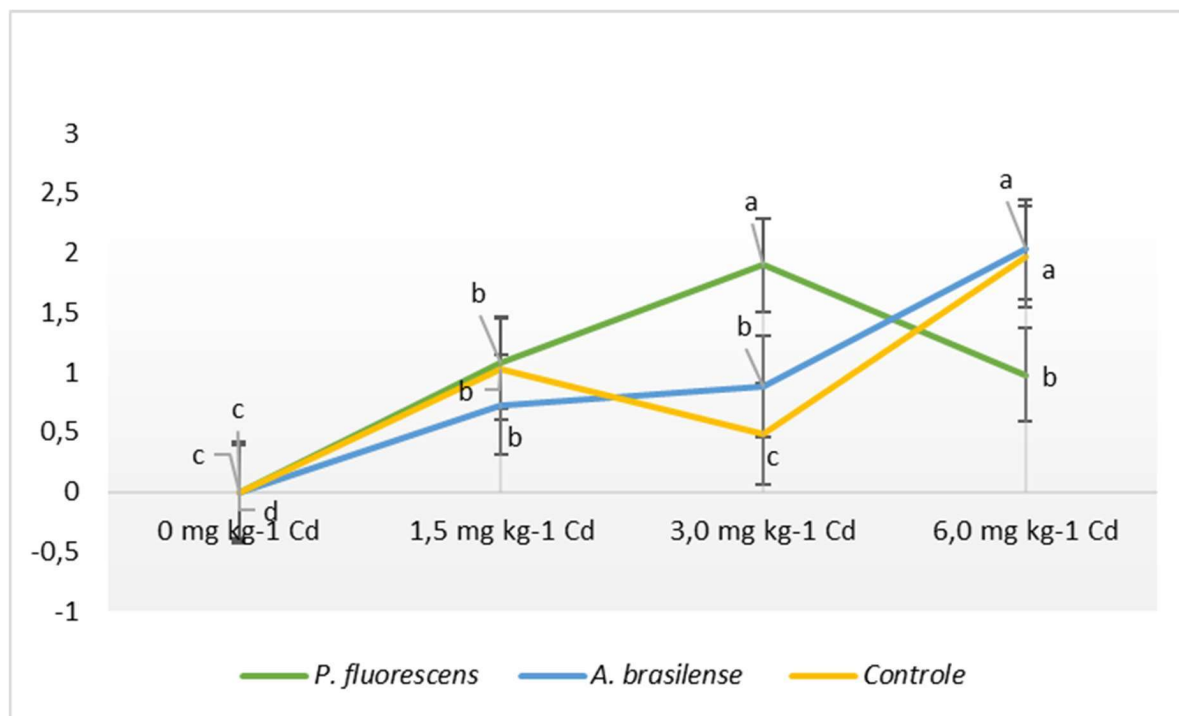


Figura 12: Índice de translocação para plantas de crame inoculadas com *A. brasilense* e *P. fluorescens* em resposta a diferentes doses de Cd. **FONTE:** O autor, 2024

Médias seguidas de letras iguais, não diferem estatisticamente pelo teste de tukey, à 5% de probabilidade (n=4), dentro do mesmo grupo. O grupo corresponde sempre a médias encontradas na mesma linha.

A fitoextração é uma técnica de fitorremediação que envolve o uso de plantas para remover contaminantes do solo. Essa estratégia se baseia na capacidade das plantas de absorver contaminantes, principalmente metais, através das raízes e acumulá-los em partes aéreas como folhas e caules. Este processo é quantificado por meio do fator de acumulação e do fator de translocação, onde um fator de acumulação maior que um e um fator de translocação também maior que um indicam que a planta é eficaz na remoção de metais do solo e na sua translocação para a parte aérea, tornando-a uma candidata ideal para a fitoextração (Vamerali; Bandiera; Mosca, 2010).

Estudos como o de Souza *et al.* (2013) e Boechat (2014) têm mostrado que plantas com um alto fator de translocação são classificadas como hiperacumuladoras e são particularmente úteis na remediação de solos contaminados, pois permitem a fácil remoção dos metais através da colheita da biomassa aérea. A importância dessa

estratégia reside na possibilidade de reciclar ou reutilizar os metais extraídos, após processos como secagem e calcinação da biomassa vegetal (Kabata-Pendias; Pendias, 2001; Zeittouni; Berton; Abreu, 2007).

A eficiência da fitoextração, no entanto, pode variar significativamente entre diferentes espécies de plantas e mesmo entre variedades da mesma espécie, como observado por Korentajer (1991). Essa variação é influenciada pela capacidade específica de cada planta de absorver e distribuir metais. Por exemplo, enquanto alguns metais como Zn, Cu, Pb e Mn são geralmente pouco translocados para a parte aérea, o Cd é notavelmente móvel dentro das plantas, facilitando sua extração via fitoextração (Hernández; Cooke, 1997; McBride, 1994).

Ainda, a capacidade de absorção e acumulação de metais pode ser influenciada pelas condições do solo, incluindo a presença de outros elementos, pH, e a microbiota do solo, que pode modificar a disponibilidade dos metais para as raízes das plantas. Por exemplo, o acréscimo de Cd ao solo aumenta sua disponibilidade e subsequente acumulação em todas as partes das plantas, como destacado por Chaves e Souza (2014).

Portanto, o sucesso da fitoextração depende da seleção apropriada das espécies vegetais, bem como do manejo adequado das condições do solo e do entendimento profundo das interações bioquímicas e fisiológicas que influenciam a mobilidade dos metais no ambiente.

2.4. CONCLUSÃO

A inoculação com *A. brasilense* e *P. fluorescens* aumentou significativamente o crescimento das plantas, mesmo em condições com elevadas doses de Cd.

As plantas inoculadas apresentaram uma melhoria na estrutura vascular, com aumento no número de camadas celulares no xilema e floema.

As plantas inoculadas mostraram uma maior capacidade de acumulação de Cd, especialmente na parte aérea, o que facilita a fitoextração.

A inoculação com *A. brasilense* e *P. fluorescens* reduziu significativamente os níveis de Cd no solo, com uma diminuição de até 63% nos níveis de Cd no solo contaminado.

As bactérias promotoras de crescimento mostraram ser eficazes na

bioremediação de Cd, tornando os solos mais seguros para uso agrícola.

A aplicação de *A. brasilense* e *P. fluorescens* representa uma abordagem sustentável para a remediação de solos contaminados com metais tóxicos, contribuindo para a segurança alimentar. Essas práticas podem ser integradas em sistemas agrícolas para melhorar a produtividade e a sustentabilidade ambiental.

A inoculação com *A. brasilense* e *P. fluorescens* provou ser uma estratégia eficaz para mitigar a contaminação por Cd em solos agrícolas. Este estudo destaca o potencial dessas bactérias em promover o crescimento das plantas e remediar solos contaminados, oferecendo uma solução sustentável para os desafios ambientais e agrícolas associados à contaminação por metais pesados tóxicos.

2.5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALMEIDA, I. V. DE. Bactérias promotoras de crescimento vegetal em milho: absorção de nitrogênio, solubilização de fosfato e produção. 31 jan. 2020.

ANDRADE, R. A. *et al.* Acúmulo de nutrientes nas folhas e produção do capim Tamani inoculado com *Azospirillum brasilense*. **Revista Verde de Agroecologia e Desenvolvimento Sustentável**, Revista Verde de Agroecologia e Desenvolvimento Sustentável. v. 17, n. 2, p. 77–85, 2022.

ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS (AOAC). **Official Methods of Analysis, 22nd Edition (2023)**. [s.l.: s.n.]. v. 22

BASHAN, Y.; DE-BASHAN, L. E. How the Plant Growth-Promoting Bacterium *Azospirillum* Promotes Plant Growth—A Critical Assessment. Em: **Advances in Agronomy**. [s.l.] Elsevier, 2010. v. 108p. 77–136.

BATTISTUS, A. G. **Modulações anatômicas, bioquímicas e fotossintéticas mediadas por *Azospirillum brasilense* inoculado via semente e pulverização foliar em milho**. Tese (Doutorado em Agronomia)—Marechal Cândido Rondon: Universidade Estadual do Oeste do Paraná, 22 fev. 2019.

BOECHAT, C. L. **Biorremediação de solos contaminados por metais pesados em áreas de beneficiamento de minério de ouro**. Tese (Doutorado em Agronomia)—Porto Alegre: Universidade Federal do Rio Grande do Sul, 2014.

BOGHADY, M.; ALI, A. S. Comparison between effect of *Azospirillum brasilense* and *Anabaena oryzae* on growth, yield and anatomical characters of wheat plants. *Journal of Applied Sciences Research*. v. 9, p. 627–637, 1 jan. 2013.

BULEGON, L. G. *et al.* **Componentes de produção e produtividade da cultura da soja submetida à inoculação de *Bradyrhizobium* E *Azospirillum***. Disponível em: <https://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0187-57792016000200169>.

BUSH, M.; SETHI, V.; SABLowski, R. A Phloem-Expressed PECTATE LYASE-LIKE Gene Promotes Cambium and Xylem Development. **Frontiers in Plant Science**, v. 13, p. 888201, 26 abr. 2022.

CHAVES, L. H. G.; SOUZA, R. S. Crescimento, distribuição e acumulação de cádmio em plantas de *Jatropha curcas*. **Revista de Ciências Agrárias**, v. 37, n. 3, p. 286–291, 2014.

CHAVEZ APARE, C. L. Tratamiento de las aguas contaminadas por Cadmio y Plomo utilizando microorganismos (*Bacillus* sp y *Pseudomonas* sp) en un biorreactor, Río Chili Arequipa – 2019. **Repositorio Institucional - UCV**, 2019.

CHIARINI, L. *et al.* Inoculation of *Burkholderia cepacia*, *Pseudomonas fluorescens* and *Enterobacter* sp. on *Sorghum bicolor*: Root colonization and plant growth promotion of dual strain inocula. **Soil Biology and Biochemistry**, v. 30, n. 1, p. 81–87, jan. 1998.

CHIEN, S. H. *et al.* Cadmium Availability from Granulated and Bulk-Blended Phosphate-Potassium Fertilizers. **Journal of Environmental Quality**, v. 32, n. 5, p. 1911–1914, 2003.

CICILIANO, L. G. *et al.* Quantificação e caracterização de óleos de canola, carinata e crambe produzidos no Centro-Oeste brasileiro. 2023.

CONSELHO NACIONAL DO MEIO AMBIENTE (CONAMA). Resolução CONAMA nº 420 de 28/12/2009 - Federal - LegisWeb. Sponsors: _:n15072. 2009.

COTRIM, M. F.; ALVAREZ, R. C. F.; SERON, A. C. C. QUALIDADE FISIOLÓGICA DE SEMENTES DE TRIGO EM RESPOSTA A APLICAÇÃO DE AZOSPIRILLUM BRASILENSE E ÁCIDO HÚMICO. **Revista Brasileira de Engenharia de Biosistemas**, v. 10, n. 4, p. 349–357, 27 dez. 2016.

CRUZ-HERNÁNDEZ, M. A. *et al.* Azospirillum spp. from Plant Growth-Promoting Bacteria to Their Use in Bioremediation. **Microorganisms**, v. 10, n. 5, p. 1057, 20 maio 2022.

DAS, P.; SAMANTARAY, S.; ROUT, G. R. Studies on cadmium toxicity in plants: A review. **Environmental Pollution**, v. 98, n. 1, p. 29–36, 1 jan. 1997.

DE SIQUEIRA, K. A. *et al.* Draft Genome Sequences of Pseudomonas sp. Strain 382 and Pantoea coffeiphila 342, Endophytic Bacteria Isolated from Brazilian Guarana [Paullinia cupana (Mart.) Ducke]. **Genome Announcements**, v. 6, n. 16, p. 10.1128/genomea.00287-18, 19 abr. 2018.

DIAS, M. *et al.* Cadmium toxicity affects photosynthesis and plant growth at different levels. **Acta Physiologiae Plantarum**, 1 dez. 2012.

DIXIT, V.; PANDEY, V.; SHYAM, R. Differential antioxidative responses to cadmium in roots and leaves of pea (Pisum sativum L. cv. Azad)1. **Journal of Experimental Botany**, v. 52, n. 358, p. 1101–1109, 1 maio 2001.

DOMENICO, P. Effect of Azospirillum brasilense on garlic (Allium sativum L.) cultivation. **World Journal of Advanced Research and Reviews**, v. 2, n. 3, p. 008–013, 2019.

DOMINGOS, R. N. **Acúmulo de cádmio por Saccharomyces cerevisiae fermentando mosto de melaço**. text—[s.l.] Universidade de São Paulo, 18 fev. 1997.

DOMINGUES, S. C. DE O. *et al.* **AZOSPIRILLUM BRASILENSE ATUANDO COMO PROMOTOR DE CRESCIMENTO NA CULTURA DA SOJA**. . Em: ANAIS DO II CONGRESSO ONLINE PARA AUMENTO DE PRODUTIVIDADE DO MILHO E SOJA (COMSOJA). 15 ago. 2019. Disponível em: <<https://www.even3.com.br/anais/comsoja/173120-azospirillum-brasilense-atuando-como-promotor-de-crecimento-na-cultura-da-soja>>. Acesso em: 15 abr. 2024

DUARTE, A. N. M. UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA (UNESP) FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS E TECNOLÓGICAS CAMPUS DE DRACENA. 2021.

EL-AFRY, M. M. *et al.* Anatomical studies on drought-stressed wheat plants (*Triticum aestivum* L.) treated with some bacterial strains. **Acta Biologica Szegediensis**. v. 56, n. 2, p. 165–174, 2012.

FERREIRA, D. F. SISVAR: A COMPUTER ANALYSIS SYSTEM TO FIXED EFFECTS SPLIT PLOT TYPE DESIGNS. **Brazilian Journal of Biometrics**, v. 37, n. 4, p. 529–535, 20 dez. 2019.

FERREIRA, J. DE P.; VIDAL, M. S.; BALDANI, J. I. Método para detecção e quantificação da atividade de ACC de aminase em bactérias diazotróficas promotoras de crescimento vegetal. **EMBRAPA**, jun. 2020.

FLORIDA ROFNER, N. *et al.* Efecto de compost y NPK sobre los niveles de microorganismos y cadmio en suelo y almendra de cacao. **Revista de Investigaciones Altoandinas**, v. 21, n. 4, p. 264–273, out. 2019.

GASONI, L. AURA *et al.* Yield response of lettuce and potato to bacterial and fungal inoculants under field conditions in Córdoba (Argentina). **Zeitschrift fur Pflanzenkrankheiten und Pflanzenschutz**, v. 108, p. 530–535, 1 set. 2001.

GAUTAM, S.; ANJANI, K.; SRIVASTAVA, N. In vitro evaluation of excess copper affecting seedlings and their biochemical characteristics in *Carthamus tinctorius* L. (variety PBNS-12). **Physiology and Molecular Biology of Plants**, v. 22, n. 1, p. 121–129, jan. 2016.

GLICK, B. R. Bacteria with ACC deaminase can promote plant growth and help to feed the world. **Microbiological Research**, v. 169, n. 1, p. 30–39, 20 jan. 2014.

GORDON, E. M.; MCCANDLESS, E. L. Ultrastructure and Histochemistry of *Chondrus crispus* Stack. *Proceedings of Nova Scotia Institute Science*. v. 27, p. 111–133, 1973.

GRANT, C.; BAILEY, L. Nitrogen, phosphorus and zinc management effects on grain yield and cadmium concentration in two cultivars of durum wheat. **Canadian Journal of Plant Science**, v. 78, n. 1, p. 63–70, jan. 1998.

GREGER, M. **Phytoremediation - Does it work?**. Em: 7TH INTERNATIONAL CONFERENCE ON THE BIOGEOCHEMISTRY OF TRACE ELEMENTS. Uppsala-Sweden, 2003.

GUIMARÃES, V. F.; KLEIN, J.; KLEIN, D. K. Promoção de crescimento e solubilização de fosfato na cultura da soja: coinoculação de sementes com *Bradyrhizobium japonicum* e *Pseudomonas fluorescens*. **Research, Society and Development**, v. 10, n. 11, p. e366101120078, 3 set. 2021.

HERNÁNDEZ, L. E.; COOKE, D. T. Modification of the root plasma membrane lipid composition of cadmium-treated *Pisum sativum*. **Journal of Experimental Botany**, v. 48, n. 7, p. 1375–1381, 1 jul. 1997.

HUNGRIA, M. Inoculação com *Azospirillum brasilense*: inovação em rendimento a baixo custo. **Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária**, 2011.

HUNGRIA, M.; NOGUEIRA, M. A. Inoculação Multifuncional para Pastagens com Braquiárias. **Embrapa Soja**, 2021.

JIANG, R. F. *et al.* Cadmium hyperaccumulation protects *Thlaspi caerulescens* from leaf feeding damage by thrips (*Frankliniella occidentalis*). **The New Phytologist**, v. 167, n. 3, p. 805–814, set. 2005.

KABATA-PENDIAS, A.; PENDIAS, H. **Trace elements in soils and plants**. 3rd ed. Boca Raton, Fla: CRC Press, 2001.

KANG, X. *et al.* Inoculation of *Sinorhizobium saheli* YH1 Leads to Reduced Metal Uptake for *Leucaena leucocephala* Grown in Mine Tailings and Metal-Polluted Soils. **Frontiers in Microbiology**, v. 9, p. 1853, 27 ago. 2018.

KARGAPOLOVA, K. *et al.* Effectiveness of inoculation of in vitro-grown potato microplants with rhizosphere bacteria of the genus *Azospirillum*. **Plant Cell Tissue and Organ Culture**, v. 141, p. 351–359, 1 maio 2020.

KAYSER, A.; SCHULIN, R.; FELIX, H. **Phytoremediation of heavy metal contaminated areas, case studies**. Pflanzenbelastung auf kontaminierten Standorten: plant impact at contaminated sites. Internationaler Workshop am 1. und 2. Dezember 1997 am Fraunhofer-Institut für Umweltchemie und Ökotoxikologie, Schmallenberg. **Anais...** Erich Schmidt Verlag GmbH & Co (Berlin), 1999. Disponível em: <<https://www.cabdirect.org/cabdirect/abstract/20013041132>>. Acesso em: 5 fev. 2024

KAZI, N. *et al.* The response of wheat genotypes to inoculation with *Azospirillum brasilense* in the field. **Field Crops Research**, v. 196, 1 jul. 2016.

KHOSHRU, B. *et al.* Current scenario and future prospects of plant growth-promoting rhizobacteria: an economic valuable resource for the agriculture revival under stressful conditions. **Journal of Plant Nutrition**, v. 43, n. 20, p. 3062–3092, 13 dez. 2020.

KORENTAJER, L. A review of the agricultural use of sewage sludge: benefits and potential hazards. 1991.

KOŠČAK, L. *et al.* Identification and Characterisation of *Pseudomonas savastanoi* pv. *savastanoi* as the Causal Agent of Olive Knot Disease in Croatian, Slovenian and Portuguese Olive (*Olea europaea* L.) Orchards. **Plants**, v. 12, n. 2, p. 307, 9 jan. 2023.

KUMAR, A.; BISHT, B. S.; DHEWA, T. Review on Bioremediation of Polluted Environment: A Management Tool. 6. v. 1, 2011.

LIMA, L. N. A. Monitoramento biológico para identificação de fonte de poluição em área residencial contígua à instalação do porto de Santos em Guarujá-SP, Brasil. 31 mar. 2023.

LOPES, M. J. D. S.; DIAS-FILHO, M. B.; GURGEL, E. S. C. Successful Plant Growth-Promoting Microbes: Inoculation Methods and Abiotic Factors. **Frontiers in Sustainable Food Systems**, v. 5, p. 606454, 25 fev. 2021.

MALAVOLTA, E.; VITTI, G. C.; OLIVEIRA, S. A. **Avaliação do estado nutricional das plantas: princípios e aplicações**. 2. ed. Piracicaba: Associação Brasileira para Pesquisa da Potassa e do Fosfato, 1997.

MARCIANO MARRA, L. *et al.* Biological nitrogen fixation and phosphate solubilization by bacteria isolated from tropical soils. **Plant and Soil**, v. 357, n. 1, p. 289–307, 1 ago. 2012.

MARQUES, D. S.; SILVA, J. A. DA. **ESTUDO DA CONTAMINAÇÃO DOS FERTILIZANTES FOSFATADOS POR CÁDMIO, CHUMBO E CRÔMIO EMPREGADOS NA AGRICULTURA**. CAMPINAS/SP: FACULDADE DE TECNOLOGIA DE CAMPINAS, 2020.

MCBRIDE, M. B. *Environmental Chemistry Of Soil* LS. **Environmental Chemistry Of Soil** LS, 1994.

MILLER, C. D. *et al.* Copper and cadmium: responses in *Pseudomonas putida* KT2440. **Letters in Applied Microbiology**, v. 49, n. 6, p. 775–783, dez. 2009.

MOREIRA, F. M. S.; SIQUEIRA, J. O. **Microbiologia e Bioquímica**. [s.l.] EDITORA UFLA, 2006.

NAVARRO-LEÓN, E. *et al.* Possible role of HMA4a TILLING mutants of *Brassica rapa* in cadmium phytoremediation programs. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 180, p. 88–94, 30 set. 2019.

NOVINSKAK, A.; JOLY, D. L.; FILION, M. Complete Genome Sequence of the Plant Growth-Promoting Rhizobacterium *Pseudomonas fluorescens* LBUM677. **Microbiology Resource Announcements**, v. 8, n. 25, p. e00438-19, 20 jun. 2019.

OLIVEIRA, M. A. DE *et al.* Adubação fosfatada associada à inoculação com *Pseudomonas fluorescens* no desempenho agronômico do milho. **Revista de Ciências Agrárias**, v. 38, n. 1, p. 18–25, 2015.

OLIVEIRA, H. B. D. *et al.* Microbial Activity in the Agricultural and Forestry System. **Research, Society and Development**, v. 11, n. 2, p. e56211226184, 5 fev. 2022.

OLIVEIRA NETO, J. R. DE *et al.* EXTRAÇÃO DE METAIS TÓXICOS EM SOLOS CONTAMINADOS UTILIZANDO O MILHO COMO POSSÍVEL FITORREMEIADOR. **COLLOQUIUM EXACTARUM**, v. 13, n. 3, p. 59–69, 20 dez. 2021.

PEREYRA, M. A. *et al.* A better water status in wheat seedlings induced by *Azospirillum* under osmotic stress is related to morphological changes in xylem vessels of the coleoptile. **Applied Soil Ecology**, v. 53, p. 94–97, fev. 2012.

PÉREZ-RODRIGUEZ, M. M. *et al.* *Pseudomonas fluorescens* and *Azospirillum brasilense* Increase Yield and Fruit Quality of Tomato Under Field Conditions. **Journal of Soil Science and Plant Nutrition**, v. 20, n. 4, p. 1614–1624, dez. 2020.

RAFIQ, M. T. *et al.* Cadmium phytoavailability to rice (*Oryza sativa* L.) grown in representative Chinese soils. A model to improve soil environmental quality

guidelines for food safety. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 103, p. 101–107, 1 maio 2014.

RAFIQUE, M. Z. *et al.* Nonsense Mutation Inside Anthocyanidin Synthase Gene Controls Pigmentation in Yellow Raspberry (*Rubus idaeus* L.). **Frontiers in Plant Science**, v. 7, 19 dez. 2016.

REZENDE, C. C. *et al.* Microrganismos multifuncionais: utilização na agricultura. **Research, Society and Development**, v. 10, n. 2, p. e50810212725, 27 fev. 2021.

ROMERO, A.; VEGA, D.; CORREA, O. Azospirillum brasilense mitigates water stress imposed by a vascular disease by increasing xylem vessel area and stem hydraulic conductivity in tomato. **Applied Soil Ecology**, p. 38–43, 10 jun. 2014.

SALT, D. E. *et al.* Mechanisms of Cadmium Mobility and Accumulation in Indian Mustard. **Plant Physiology**, v. 109, n. 4, p. 1427–1433, 1 dez. 1995.

SANITÀ DI TOPPI, L.; GABBRIELLI, R. Response to cadmium in higher plants. **Environmental and Experimental Botany**, v. 41, n. 2, p. 105–130, 1 abr. 1999.

SANTOS, A. L. F. *et al.* METAIS PESADOS NO RIBEIRÃO PIANCÓ, ANÁPOLIS-GO E SUAS IMPLICAÇÕES AMBIENTAIS. 1. v. 8, 2015.

SILVA, A. S. L. Promoção de crescimento em milho pela inoculação e coinoculação de Azospirillum, Bacillus E Pseudomonas. 12 set. 2022.

SILVA, F. C. DA. **Manual de análises químicas de solos, plantas e fertilizantes**. [s.l.] Brasília, DF: Embrapa Informação Tecnológica; Rio de Janeiro: Embrapa Solos, 2009., 2009.

SILVA, M. L. DE S.; VITTI, G. C.; TREVIZAM, A. R. Concentração de metais pesados em grãos de plantas cultivadas em solo com diferentes níveis de contaminação. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 42, n. 4, p. 527–535, abr. 2007.

SORCE, C. *et al.* Hormonal signals involved in the regulation of cambial activity, xylogenesis and vessel patterning in trees. **Plant Cell Reports**, v. 32, n. 6, p. 885–898, jun. 2013.

SOUZA, A. F. C. **Caracterização molecular e avaliação de resistência a chumbo e cádmio em bactérias isoladas de rizosferas de plantas coletadas em Santo Amaro (BA)**. Mestrado em Biotecnologia—[s.l.] Universidade Estadual de Feira de Santana, 2013.

TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Fisiologia e Desenvolvimento Vegetal 6ª Edição**. Disponível em: <<https://www.editoraufv.com.br/produto/fisiologia-e-desenvolvimento-vegetal-6-edicao/1109573>>.

TERRA, A. B. C. *et al.* PHYSIOLOGICAL CHARACTERIZATION OF DIAZOTROPHIC BACTERIA ISOLATED FROM *Brachiaria brizantha* RHIZOSPHERE. **Revista Caatinga**, v. 32, n. 3, p. 658–666, set. 2019.

VAMERALI, T.; BANDIERA, M.; MOSCA, G. Field crops for phytoremediation of metal-contaminated land. A review. **Environmental Chemistry Letters**, v. 8, n. 1, p. 1–17, 1 mar. 2010.

VASCONCELLOS, R. D. S. RESPOSTA INICIAL DE PLANTAS DE ARROZ (*Oryza sativa* L.) TRATADAS COM INSUMOS BIOLÓGICOS. 2022.

VOGEL, A. I. **Análise Química Quantitativa**. 5. ed. Câmara Brasileira do Livro, SP: Mestre JOU, 1981.

WONG, M. K. *et al.* The uptake of cadmium by *Brassica chinensis* and its effect on plant zinc and iron distribution. **Environmental and Experimental Botany**, v. 24, n. 2, p. 189–195, 1 jan. 1984.

YANG, J. H.; WANG, H. Molecular Mechanisms for Vascular Development and Secondary Cell Wall Formation. **Frontiers in Plant Science**, v. 7, 22 mar. 2016.

YANG, X. E. *et al.* Cadmium tolerance and hyperaccumulation in a new Zn-hyperaccumulating plant species (*Sedum alfredii* Hance). **Plant and Soil**, v. 259, n. 1, p. 181–189, 1 fev. 2004.

ZEITTOUNI, C. DE F.; BERTON, R. S.; ABREU, C. A. DE. Fitoextração de cádmio e zinco de um latossolo vermelho-amarelo contaminado com metais pesados. **Bragantia**, v. 66, p. 649–657, 2007.

ZHANG, F.-Q. *et al.* Effect of heavy metal stress on antioxidative enzymes and lipid peroxidation in leaves and roots of two mangrove plant seedlings (*Kandelia candel* and *Bruguiera gymnorhiza*). **Chemosphere**, v. 67, n. 1, p. 44–50, fev. 2007.

ZHANG, X. *et al.* Effect of cadmium on growth, photosynthesis, mineral nutrition and metal accumulation of an energy crop, king grass (*Pennisetum americanum* × *P. purpureum*). **Biomass and Bioenergy**, v. 67, p. 179–187, ago. 2014.

ZHONG, X. *et al.* Factors influencing heavy metal availability and risk assessment of soils at typical metal mines in Eastern China. **Journal of Hazardous Materials**, v. 400, p. 123289, 5 dez. 2020.

3. CAPÍTULO III: INFLUÊNCIA DE MICRORGANISMOS NA BIORREMEDIAÇÃO DE SOLO CONTAMINADO COM CHUMBO E CULTIVADO COM *CRAMBE ABYSSINICA* EM CULTIVO PROTEGIDO

Resumo

O estudo aborda a contaminação do solo por Pb, um sério problema ambiental e de saúde pública. A biorremediação utilizando microrganismos e plantas surge como uma solução potencialmente eficaz para este problema. O estudo foca na associação entre o crambe (*Crambe abyssinica*) e bactérias promotoras de crescimento vegetal (BPCV) para a remoção de Pb do solo. A pesquisa foi conduzida em um cultivo protegido entre abril e julho de 2023. Utilizou-se um delineamento experimental em blocos casualizados com quatro tratamentos de concentração de Pb e a inoculação de duas espécies de bactérias. As análises incluíram a medição do crescimento da planta, teores de macronutrientes e Pb tanto nas plantas quanto no solo. Os resultados demonstraram que a inoculação com microrganismos promoveu um aumento significativo no crescimento do crambe, incluindo o comprimento das raízes e da parte aérea, além de melhorar a biomassa das plantas. A presença dos microrganismos também aumentou a solubilização e a mobilização de Pb no solo, facilitando sua absorção pelas plantas. Estes efeitos foram amplificados nas concentrações mais altas de Pb. Os resultados confirmaram que a combinação de crambe e BPCV é eficaz na biorremediação de solos contaminados com Pb. Os microrganismos não apenas melhoraram o crescimento das plantas, mas também aumentaram a capacidade das plantas de acumular e translocar Pb, destacando o potencial de aplicação desta técnica em larga escala para a recuperação de áreas contaminadas por metais tóxicos.

Palavras-chave: *Azospirillum brasilense*; fitobiorremediação, chumbo; *Pseudomonas fluorescens*;

Abstract

The study addresses soil contamination by Pb, a serious environmental and public health issue. Bioremediation using microorganisms and plants emerges as a potentially effective solution for this problem. Specifically, the study focuses on the synergy between crambe (*Crambe abyssinica*) and growth-promoting microorganisms for the removal of Pb from the soil. The research was conducted in a protected cultivation between April and July 2023. An experimental design in randomized blocks with four Pb concentration treatments and the inoculation of two species of microorganisms was used. Analyses included measuring plant growth, macronutrient levels, and Pb content in both plants and soil. The results showed that inoculation with microorganisms significantly increased crambe growth, including root length and shoot length, as well as improving plant biomass. The presence of microorganisms also increased the solubilization and mobilization of Pb in the soil, facilitating its absorption by plants. These effects were amplified at higher Pb concentrations. The research confirmed that the combination of crambe and growth-promoting microorganisms is effective in bioremediating soils contaminated with Pb. The microorganisms not only improved plant growth and health but also increased the plants' capacity to accumulate and translocate Pb, highlighting the potential for applying this technique on a large scale to recover areas contaminated by heavy metals.

Keywords: *Azospirillum brasilense*; bioremediation; lead; *Pseudomonas fluorescens*.

3.1. INTRODUÇÃO

A contaminação por metais tóxicos, incluindo o Pb, é um problema ambiental e de saúde pública global. A exposição a níveis elevados de Pb no solo pode causar efeitos negativos à saúde humana, como danos neurológicos e distúrbios no desenvolvimento infantil (Parvatiyar *et al.*, 2005; Zhao *et al.*, 2015). Portanto, a remediação de solos contaminados por Pb é crucial.

Normas ambientais determinam limites para a concentração de Pb em solos para proteger a saúde e o meio ambiente. A biorremediação emerge como uma opção eficiente e sustentável para atender a essas regulamentações, utilizando microrganismos, plantas ou suas combinações para diminuir a concentração de poluentes, incluindo Pb (Miller *et al.*, 2009; Zhou *et al.*, 2020).

Dentre as tecnologias de remediação de solos contaminados, a biorremediação e a fitorremediação são destacadas pela capacidade de remover contaminantes de forma ambientalmente amigável (Accioly; Siqueira, 2000; Saha *et al.*, 2021). A remoção de metais tóxicos pode ocorrer por métodos físicos, químicos ou biológicos. Métodos físicos e químicos incluem substituição de solo, remoção eletrocinética, tratamento térmico, lavagem de solo, vitrificação e tratamento químico com cal, fosfatos ou compostos orgânicos (Hou *et al.*, 2020). Essas abordagens são eficazes e rápidas, mas onerosas e trabalhosas. Além disso, podem alterar significativamente os indicadores de qualidade do solo, comprometendo sua aptidão agrícola.

A biorremediação, empregando microrganismos como bactérias, surge como uma alternativa econômica e ecologicamente viável para a degradação de contaminantes no solo. Esta técnica utiliza bactérias resistentes a metais tóxicos, que desempenham um papel crucial na solubilização e mobilização de metais no solo, aumentando sua disponibilidade para as plantas (Ahmad, 2015; Zhao *et al.*, 2015). Tais bactérias produzem ácidos orgânicos e sideróforos que complexam e solubilizam os metais tóxicos, auxiliando na absorção pelas raízes das plantas. Bactérias incluindo *Pseudomonas* spp. e *A. brasilense* spp., são notáveis pela tolerância a altas concentrações de chumbo e habilidades em solubilização, imobilização, e redox de metais (Miller *et al.*, 2009; Zhou *et al.*, 2020).

Um estudo de Gonçalves Jr. *et al.* (2020) investigou a fitorremediação de *Crambe abyssinica* Hochst em solo artificialmente contaminado com Pb, onde a planta demonstrou alta capacidade de fitorremediação apesar de redução na fotossíntese e

aumento na respiração sob contaminação. Esta pesquisa reforça o potencial das bactérias resistentes a metais tóxicos na facilitação da solubilização e mobilização de metais no solo, tornando-os mais acessíveis às plantas.

Diante do exposto, este estudo visa analisar a interação entre crambe, BPCV e remoção de Pb dos solos avaliando os benefícios dessa associação para a biorremediação de solos contaminados.

3.2. MATERIAL E MÉTODOS

3.2.1 Delineamento experimental e obtenção de plantas

O estudo foi realizado entre abril e julho de 2023, em cultivo protegido em uma propriedade rural no distrito de Espigão Azul (24°50'26"S 53°27'26"W), na macrorregião de Cascavel, Paraná. As análises laboratoriais ocorreram no SBS Laboratório – Análises Agronômicas e Veterinárias, na cidade de Cascavel, PR.

A configuração experimental adotada foi o delineamento em blocos casualizados, organizado em um esquema fatorial com quatro repetições. Os tratamentos consistiram na inoculação de duas espécies de microrganismos: *Azospirillum brasilense* (cepas Ab-V5 e Ab-V6, ambas com concentração de 2×10^9 UFC/mL) e *Pseudomonas fluorescens* (ATCC 13525, com concentração de 2×10^9 UFC/mL), sendo cada semente inoculada com 10^6 UFC/mL de células viáveis. A verificação da viabilidade celular foi confirmada por análises de contagem de células viáveis 48 h antes da inoculação, aplicadas diretamente no sulco no momento do plantio.

Quanto à contaminação por Pb, foram estabelecidas quatro doses: controle (sem adição do metal), metade da dose máxima permitida para solos agrícolas (90 mg kg^{-1}), conforme a resolução CONAMA 420 (CONAMA, 2009), a dose máxima permitida (180 mg kg^{-1}) e o dobro da dose máxima permitida (360 mg kg^{-1}).

A contaminação foi realizada pela adição de uma solução padrão de cloreto de chumbo (PbCl_2) 24 h antes do plantio e da inoculação. O plantio consistiu em dez sementes por vaso, reduzindo-se para quatro plantas por vaso após dez dias, como demonstrado na Figura 1. A unidade experimental compreendeu um vaso com quatro

plantas, totalizando 48 vasos conforme esquematizado na Figura 2.



Figura 1: Estágios fenológicos do crambe em cada etapa do experimento. (A) implementação; (B) início da germinação – 4 dias após semeadura; (C) desenvolvimento e desbaste – 15 dias após semeadura; (D) desenvolvimento após o desbaste – 20 dias; (E) surgimento das primeiras flores; (F) desenvolvimento de flores de maneira uniforme; (G) planta antes para a coleta. **FONTE:** O autor, 2023.



Figura 2: Delineamento experimental em blocos casualizados, organizado em um esquema fatorial com quatro repetições, quatro doses de metal e dois microrganismos. (Sem= 0 mg kg⁻¹ de Pb; Metade= 90 mg kg⁻¹ de Pb; Dose= 180 mg kg⁻¹ de Pb; Dobro= 360 mg kg⁻¹ de Pb). **FONTE:** O autor, 2023.

Para o cultivo, utilizaram-se sacos cilíndricos para mudas, com 30 cm de altura e 20 cm de diâmetro, com capacidade para 5 L, preenchidos com 5 kg de latossolo vermelho previamente peneirado (Figura 1.A). Este substrato, inicialmente com boas características agronômicas para o cultivo de crambe, foi ajustado com fertilização para condições ideais de cultivo. Os detalhes sobre a fertilidade do solo empregado

(Tabela 1)

Tabela 1: Caracterizações químicas para fins de fertilidade e granulometria do solo utilizado.

Atributo	Solo
pH em CaCl	5,21
Alumínio (Al) (cmolc/dm ³)	0,00
Acidez potencial (H+Al) (cmolc/dm ³)	4,53
Soma de bases (S) (cmolc/dm ³)	10,84
CTC pH 7,0 (cmolc/dm ³)	15,37
CTC efetiva (cmolc/dm ³)	10,84
Saturação de bases (V) (%)	70,53
Matéria orgânica (MO) (g /kg)	39,63
Carbono orgânico (CO) (g kg ⁻¹)	22,99
Cálcio (Ca) (cmolc/dm ³)	8,00
Magnésio (Mg) (cmolc/dm ³)	2,16
Potássio (K) (cmolc/dm ³)	0,68
Fósforo disponível (P) (mg/dm ³)	9,19
Cobre (Cu) (mg/dm ³)	11,13
Ferro (Fe) (mg/dm ³)	26,25
Manganês (Mn) (mg/dm ³)	70,69
Zinco (Zn) (mg/dm ³)	5,45
Boro (B) (mg/dm ³)	0,55
Enxofre (S) (mg/dm ³)	7,70
Areia (%)	16,30
Silte (%)	16,70
Argila (%)	67,00

FONTE: o autor, 2023.

Os tratamentos receberam irrigação a cada 48 h para manutenção da umidade do solo, do plantio até o início do florescimento (Figura 1.F).

3.2.2 Análises morfométricas

Nesta fase, 50 dias após a emergência (DAE) as plantas foram removidas dos vasos para medição do comprimento total, altura da parte aérea, comprimento da raiz (utilizando-se régua graduada) e diâmetro do caule (com paquímetro digital). Posteriormente, as plantas foram seccionadas em raiz e parte aérea, as quais foram acondicionadas em sacos de papel e pesadas para determinação da massa fresca. As amostras foram então secas em estufa de circulação forçada de ar a 65 °C até atingir massa constante, seguido pela determinação da massa seca com uma balança de precisão.

A análise da anatomia dos feixes vasculares foi realizada por meio de secções na região do colo. O processamento das amostras seguiu o protocolo proposto por Gordon e McCandless (1973), com adaptações.

No início, os fragmentos foram tratados com uma solução de paraformaldeído a 4%, ajustada para pH 7,20, e deixados imersos por 20 h para garantir uma fixação completa. Em seguida, as amostras foram processadas através de uma sequência de etapas que envolveram desidratação com álcool etílico em diferentes concentrações: 30%, 50%, 70%, 80% e 90%, cada etapa durando 2 h, seguidas por duas etapas em álcool etílico a 100% por 2 h cada. Após a desidratação, as amostras foram submetidas à clarificação em xilol I (uma mistura de 50% de álcool etílico a 100% e 50% de xilol) por 1 h e em xilol II (puro) por mais 1 h.

Em seguida, as amostras foram incluídas em parafina, passando por três etapas de imersão em parafina, cada uma com duração de 6 h. Os blocos de parafina foram preparados, e após 24 h, quando estavam completamente solidificados, foram feitos cortes utilizando um micrótomo manual. Antes da coloração, as lâminas foram aquecidas a 50°C em uma estufa por cerca de 1 h.

O processo de coloração começou com a remoção da parafina das lâminas em xilol puro I e II por 10 min. cada, seguida por uma série de etapas de hidratação em concentrações decrescentes de álcool etílico e, finalmente, imersão em água. Para a coloração, foi utilizado azul de toluidina a 0,05% em pH 4,00 aplicado às lâminas por 5 min. a 55°C. Após a coloração, as lâminas foram lavadas em água corrente, desidratadas em álcool e fixadas em xilol. Por fim, as lâminas foram montadas com entelan e lamínula.

As amostras foram observadas sob microscópio óptico, permitindo a identificação das paredes do xilema, que se tingiram em verde ou azul esverdeado, enquanto as paredes do floema apresentaram coloração roxa avermelhada. Esta diferenciação pode ser observada nas Figuras 3 e 4.

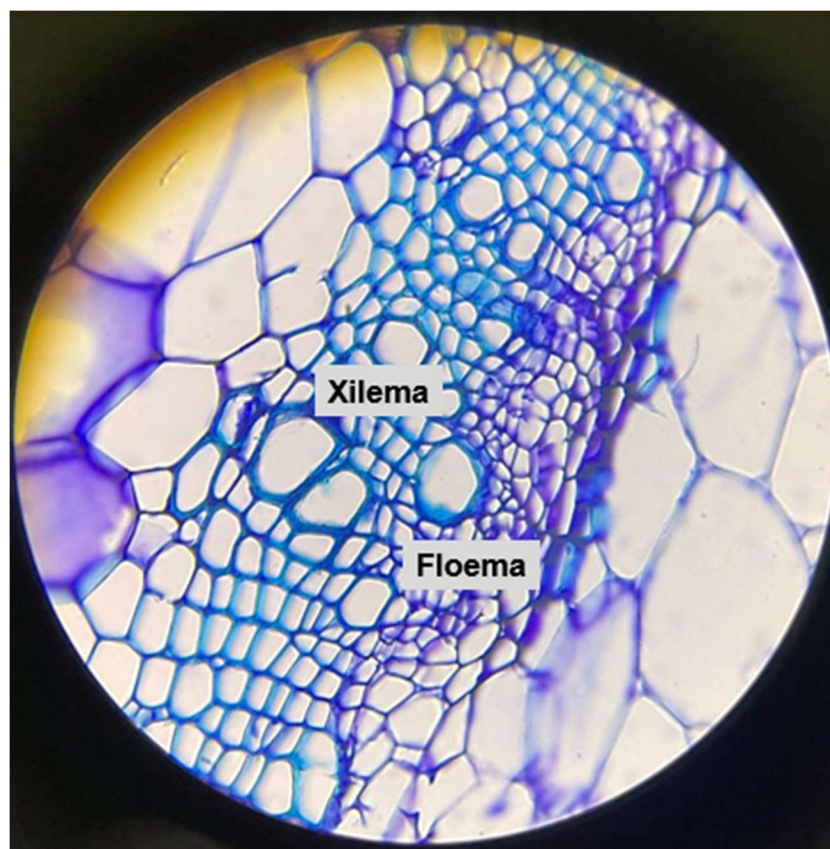


Figura 3: Diferenciação entre coloração dos vasos de xilema em azul e floema em roxo. **FONTE:** O autor, 2023.

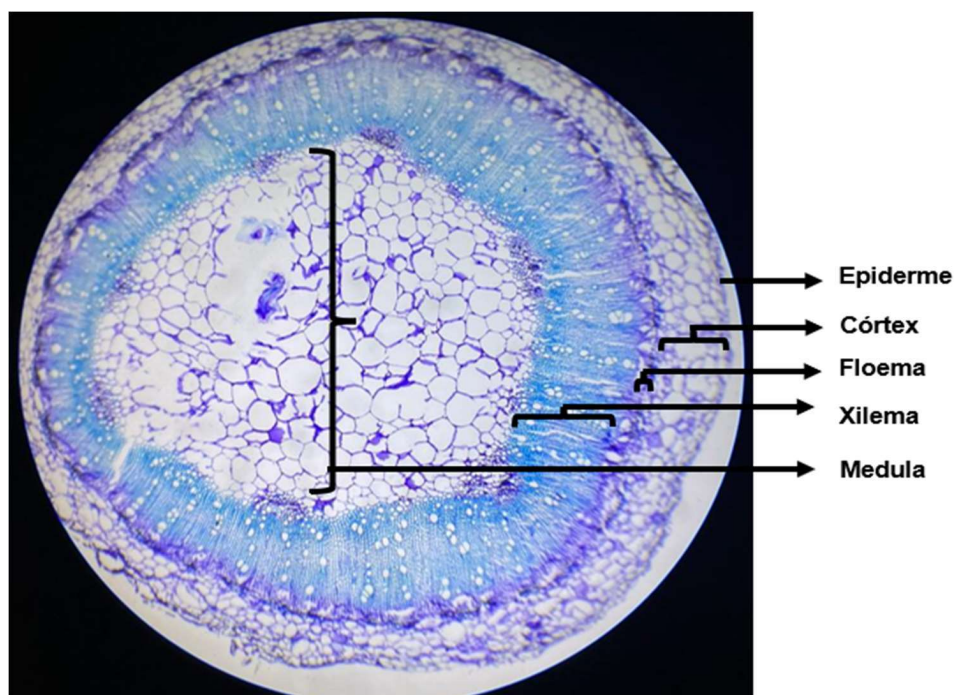


Figura 4: Corte histológico e diferenciação morfológica do colo de crambe na implementação da floração coradas com azul de toluidina. **FONTE:** O autor, 2023.

2.2.3 Avaliação de teores totais de macronutrientes, micronutrientes e cádmio em solos e tecido vegetal

Para avaliar os teores totais de macronutrientes, micronutrientes e Cd em tecido vegetal (parte aérea e raiz), realizou-se a extração por meio de digestão nitroperclórica, conforme o método Association Of Official Analytical Collaboration (AOAC, 2023). As determinações de Ca, Mg, Fe, Cu, Zn, Mn e Cd foram realizadas por espectrometria de absorção atômica (modelo GBC, SavantAA), enquanto K foi medido por fotometria de chama (Benfer, BFC 150). A quantificação de P ocorreu por espectroscopia UV/Vis. O teor de N foi quantificado pelo método de Kjeldahl, (Vogel, 1981).

3.2.4 Avaliação de teores disponíveis de macronutrientes em solo

Para determinar os teores de macronutrientes, micronutrientes e Cd disponíveis no solo, e a determinação do pH adotou-se a metodologia descrita pela Embrapa (Silva, 2009). Empregou-se o extrator de KCl para Ca e Mg, e o extrator Mehlich 1 para P, K.

As determinações de Ca e Mg foram realizadas por espectrometria de absorção atômica (modelo GBC, SavantAA), enquanto o K foi medido por fotometria de chama (Benfer, BFC 150). A quantificação do P ocorreu por espectroscopia UV/Vis.

3.2.5 Limites de Quantificação

O limite de quantificação (LQ) é definido como a menor concentração do analito, que pode ser quantificada na amostra, com exatidão e precisão aceitável. O LQ é considerado como 10 vezes o desvio-padrão de uma série de medidas de branco.

O limite de quantificação do método utilizando a espectrofotometria de absorção atômica por chama de ar-acetileno descritos na Tabela 2 a seguir.

Tabela 2: Limite de quantificação para elementos em espectrofotometria de absorção atômica por chama de ar-acetileno.

Elemento	limite de quantificação (mg kg ⁻¹)
Cálcio	0,009
Magnésio	0,005
Ferro	0,01
Cobre	0,01
Zinco	0,01
Manganês	0,01
Chumbo	0,01

Fonte: O autor, 2024.

3.2.6 índices de acumulação e translocação

O índice de acumulação foi calculado conforme a equação 1 proposta por Zhang *et al.* (Zhang *et al.*, 2007):

$$\text{Índice de acumulação} = \frac{\text{metal acumulado na planta}}{\text{metal acumulado no substrato}} \quad \text{Eq. 1}$$

Da mesma forma, o índice de translocação foi determinado pela equação 2:

$$\text{Índice de translocação} = \frac{\text{concentração de metal na parte aérea}}{\text{concentração de metal na raiz}} \quad \text{Eq. 2}$$

Para a análise estatística dos dados, foi aplicada a Análise de Variância (ANOVA), e as médias foram comparadas pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade, utilizando-se o software estatístico Sisvar 5.6 (Ferreira, 2019).

3.3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.3.1. Análises morfométricas

A inoculação resultou em um significativo aumento no comprimento total das plantas de crambe expostas ao Pb como pode ser observado na Figura 5.A, independentemente da concentração do metal aplicada. Mesmo nas plantas não expostas ao metal, observou-se um aumento no comprimento total quando inoculadas com *A. brasilense* e *P. fluorescens*. Especificamente, nos tratamentos sem adição de metal, o aumento no comprimento total foi de 1,32 vezes para *A. brasilense* e de 1,33 vezes para *P. fluorescens*.

Para a concentração mais elevada de metal testada, o aumento foi ainda mais significativo principalmente ao se tratar da parte aérea das plantas, alcançando 1,44 vezes para *A. brasilense* e 1,57 vezes para *P. fluorescens*, como observados na Figura 5.B.

O incremento observado também se refletiu no comprimento das raízes, onde, na ausência do metal, houve um aumento de 1,64 vezes para *A. brasilense* e de 1,79 vezes para *P. fluorescens*. Para a maior concentração de Pb testada, esse aumento foi ainda mais expressivo, sendo de 2,57 vezes para *A. brasilense* e de 3,75 vezes para *P. fluorescens*, tais valores podem ser observados na Figura 5.C a seguir.

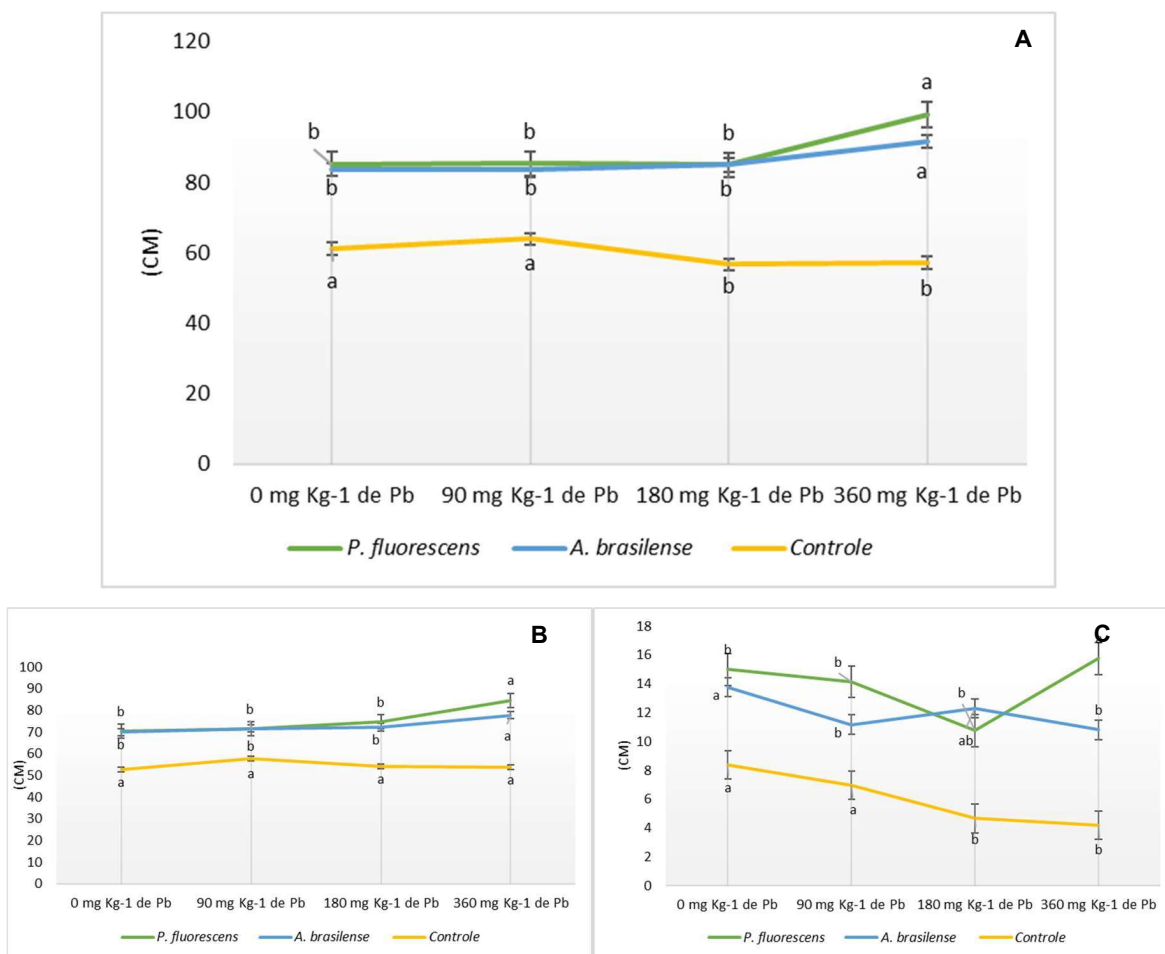


Figura 5: (A) Comprimento total, (B) comprimento de parte aérea e (C) comprimento de raiz das plantas de crame inoculadas com *A. brasilense* e *P. fluorescens* em resposta a diferentes doses de Pb. **FONTE:** O autor, 2024.

Médias seguidas de letras iguais, não diferem estatisticamente pelo teste de tukey, à 5% de probabilidade ($n=4$), dentro do mesmo grupo. O grupo corresponde sempre a médias encontradas na mesma linha.

O Pb pode causar efeitos adversos significativos nas plantas, como redução nas taxas de germinação e crescimento inicial, além de aumentar os níveis de espécies reativas de oxigênio, resultando em estresse oxidativo (Foyer; Lelandais; Kunert, 1994; Mishra; Singh; Arora, 2017). No entanto, a aplicação de microrganismos benéficos, como bactérias promotoras do crescimento vegetal, mostra-se promissora na redução dos impactos da toxicidade do Pb. Esses microrganismos podem estabelecer uma relação simbiótica com as raízes das plantas, melhorando a absorção de nutrientes e a resiliência a condições de estresse, incluindo a presença de metais tóxicos (Alotaibi *et al.*, 2021; Ferrol; Tamayo; Vargas, 2016; Gong; Tian, 2019).

Especificamente, *A. brasilense* é conhecido por impulsionar o crescimento das plantas por meio de vários mecanismos. Estes incluem a produção de fitohormônios,

melhoria na absorção de N, redução de estresse e controle de patógenos, todos contribuindo para um aumento geral da produtividade (Bashan; De-Bashan, 2010; Domenico, 2019; Kargapolova *et al.*, 2020). Além disso, *A. brasilense* promove a fixação biológica de nitrogênio e a síntese de fitohormônios como auxinas, giberelinas e citocininas, que favorecem o crescimento do sistema radicular e a capacidade de resistência ao estresse hídrico, resultando em um aumento da biomassa e benefícios à microbiota do solo (Hungria, 2011).

Os estudos demonstram que a associação de *P. fluorescens* com *A. brasilense* é benéfica para o crescimento das plantas, corroborando com a pesquisa de Guimarães *et al.* (2021), que identificou melhorias no desenvolvimento de culturas de soja ao co-inocular com *P. fluorescens* e *Bradyrhizobium japonicum* em presença de fertilizante fosfatado. Ferreira (2020) também destacou a eficiência de *P. fluorescens* em retardar a senescência das plantas, devido à enzima ACC deaminase, uma importante promotora do crescimento vegetal conforme descrito por Glick (2014). A inoculação com *A. brasilense* promoveu avanços no desenvolvimento de *Brassica napus*, reforçando que a simbiose estabelecida entre esses microrganismos e as raízes das plantas não apenas melhora a absorção de nutrientes, mas também aumenta a resiliência a estresses abióticos. Ambos os microrganismos, por sua capacidade de sintetizar fitohormônios, são cruciais para o crescimento vegetal, evidenciando um aumento significativo da biomassa. Esses achados ressaltam o papel vital dos microrganismos no desenvolvimento das plantas e na mitigação dos impactos de contaminações metálicas, apontando para o uso promissor de técnicas biotecnológicas na agricultura sustentável e na recuperação de solos.

Hungria (2011) destacou os benefícios do uso de *A. brasilense* na promoção do desenvolvimento radicular e no aumento da altura de plantas de milho após inoculação. De forma similar, Cotrim *et al.* (2016) observaram que o tratamento de sementes de trigo com ácido húmico em combinação com *A. brasilense* resultou em melhorias significativas no crescimento das raízes, na parte aérea e na massa seca da parte aérea. Além disso, Vasconcellos (2022) reportou que o tratamento de plantas de arroz com insumos biológicos, incluindo a associação de *Azospirillum* e *Pseudomonas*, promoveu um aumento de 35,71% no comprimento das raízes em comparação com tratamentos sem inoculação, ressaltando a eficácia da inoculação microbiológica no estímulo ao crescimento vegetal. Essas evidências reforçam o valor dos microrganismos promotores de crescimento vegetal na agricultura, especialmente

em condições de estresse abiótico.

Como consequência da inoculação, houve um aumento significativo tanto na massa fresca quanto na seca das plantas, resultando em um maior volume de massa total conforme ilustrado na Figura 6 para massa fresca, e para massa seca.

O semelhante ocorreu com os valores de incrementos obtidos para a massa seca, seguindo padrões similares a massa fresca, estes valores encontram-se na Figura 6.

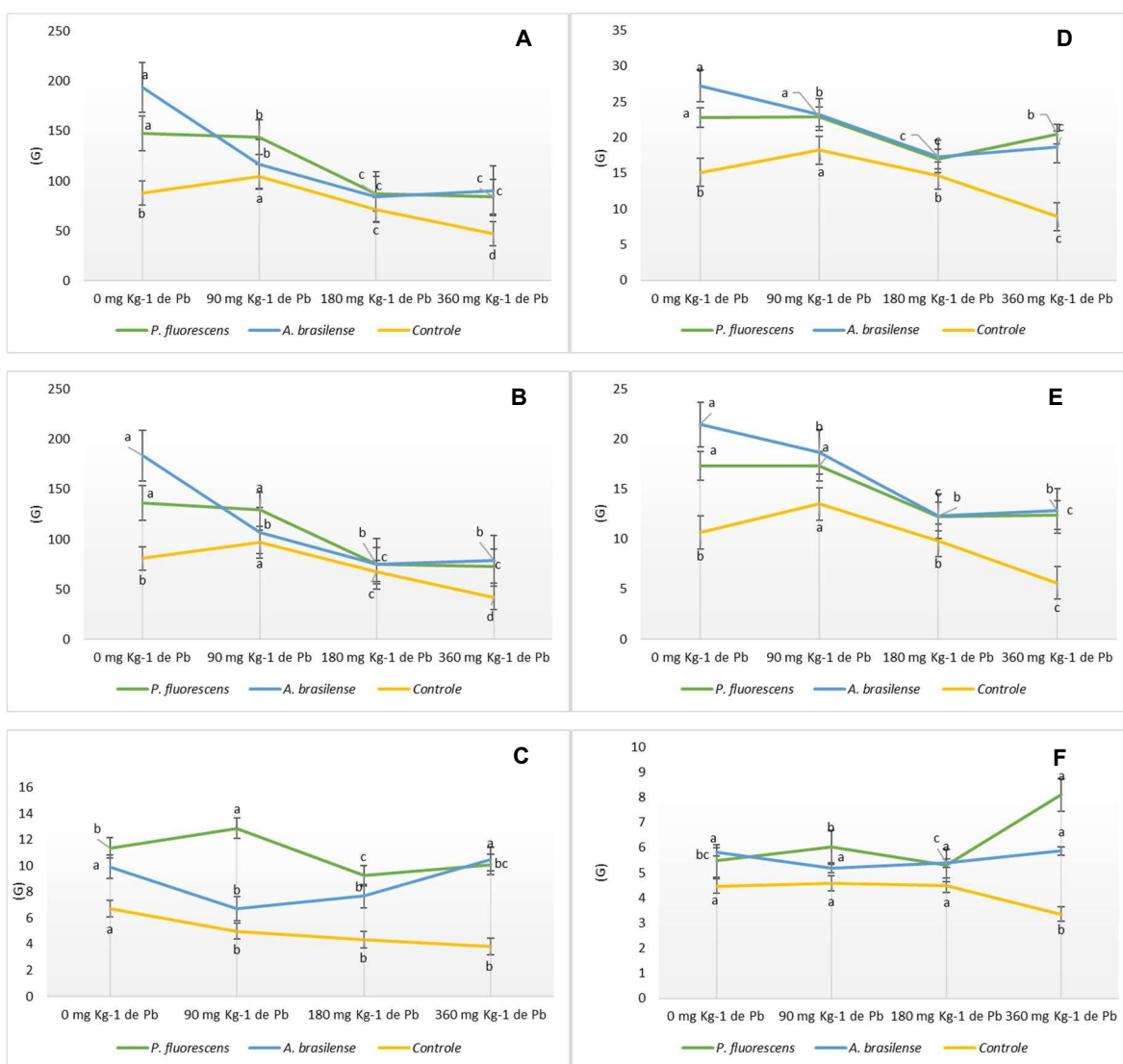


Figura 6: Relação de (A) massa fresca total, (B) massa fresca de arte aérea, (C) massa fresca de raiz, (D) massa seca total, (E) massa seca de parte aérea, (F) massa seca de raiz, das plantas de crame inoculadas com *A. brasilense* e *P. fluorescens* em resposta a diferentes doses de Pb. **FONTE:** O autor, 2024.

Médias seguidas de letras iguais, não diferem estatisticamente pelo teste de tukey, à 5% de probabilidade (n=4), dentro do mesmo grupo. O grupo corresponde sempre a médias encontradas na mesma linha.

O estudo de Babu *et al.* (2015) sobre *Miscanthus sinensis* em combinação com

Pseudomonas koreensis em solos contaminados por metais tóxicos oriundos de atividades de mineração demonstrou uma notável tolerância das plantas aos metais tóxicos, com um aumento substancial na solubilização do Pb e um incremento de 54% na biomassa. Greger (2003) destaca a importância de diferenciar plantas hiperacumuladoras, que acumulam metais tóxicos mas geram pouca biomassa, das acumuladoras, que produzem mais biomassa mas com menor concentração de metais. Esta distinção é crucial para avaliar a eficácia da fitoextração, que depende não só da capacidade de acumulação de metal, mas também do volume de biomassa gerada.

Além disso, o papel das bactérias promotoras do crescimento, como *P. fluorescens*, é reconhecido como uma abordagem promissora para mitigar a toxicidade do Pb em plantas, melhorando a resistência das plantas e a produção de biomassa, contribuindo assim para práticas agrícolas mais sustentáveis e eficientes no manejo de solos contaminados. Guimarães *et al.* (2023) e Duarte *et al.* (2020) evidenciam que tanto *A. brasilense* quanto *P.s fluorescens*, ao sintetizar fitohormônios como o ácido indol-3-acético, impulsionam significativamente o crescimento das plantas e aumentam a produção de biomassa seca e verde. Essas investigações sublinham a eficácia desses microrganismos no desenvolvimento das plantas e na mitigação dos impactos negativos da contaminação por metais.

Estudos como os de Chiarini *et al.* (1998) e Gasoni *et al.* (2001) também ilustram os benefícios da inoculação com *P. fluorescens* em culturas como sorgo e alface, resultando em aumentos notáveis na massa fresca da parte aérea e raiz, enquanto Bulegon *et al.* (2016) relatam avanços semelhantes na soja com a inoculação de *A. brasilense*. Esses resultados corroboram a capacidade desses microrganismos em aprimorar tanto o crescimento radicular quanto a produção de biomassa em várias culturas agrícolas, destacando o potencial de estratégias biotecnológicas na agricultura sustentável e na reabilitação de solos.

A avaliação da biomassa é fundamental para entender a eficácia das técnicas de fitoextração em ambientes contaminados por metais. Como Greger (2003) identifica, é importante distinguir entre plantas hiperacumuladoras, que têm alta capacidade de acumular metais tóxicos, mas produzem pouca biomassa, e as plantas acumuladoras, que geram mais biomassa, porém com menor capacidade de acumulação de metais. Essa diferenciação é crucial porque o objetivo principal da fitoextração não é apenas acumular metais, mas também maximizar a extração

desses contaminantes por área através da biomassa produzida.

Em relação à massa seca da parte aérea, estudos como o de Novinscak, Joly e Fillion (2019) demonstraram que a inoculação de sementes com *P. fluorescens* pode significativamente aumentar a biomassa vegetal e a produção de óleo em culturas como soja e canola. Essa capacidade destaca o potencial das bactérias promotoras de crescimento para não apenas melhorar a sanidade e o crescimento das plantas, mas também para aumentar a eficiência na remoção de contaminantes do solo através da fitoextração.

O diâmetro do caule também apresentou aumento significativo em plantas inoculadas em comparação às não inoculadas. Nos tratamentos sem adição de metal, o aumento foi de 61,03% para *A. brasilense* e de 76,77% para *Pseudomonas*. Para a maior concentração de metal testada, o incremento foi ainda mais acentuado, chegando a 106,13% para *A. brasilense* e 98,11% para *P. fluorescens*, conforme detalhado na Figura 7 a seguir.

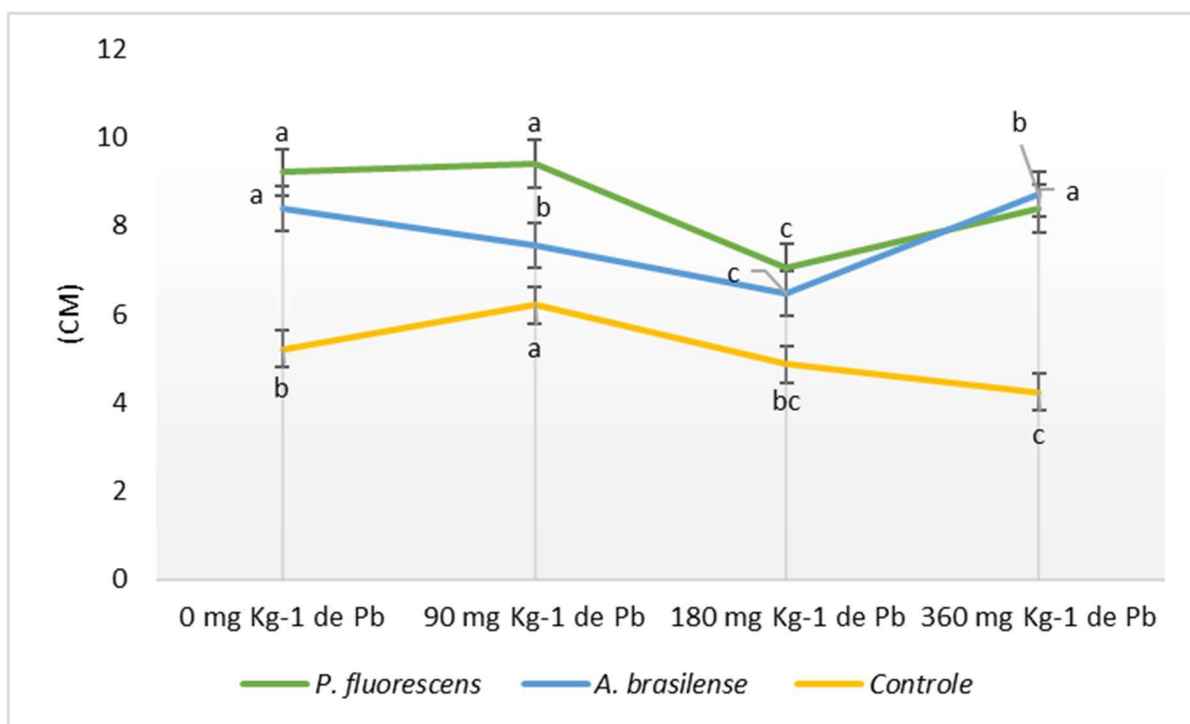


Figura 7: Relação do diâmetro do caule das plantas de crambe inoculadas com *A. brasilense* e *P. fluorescens* em resposta a diferentes doses de Pb. **FONTE:** O autor, 2024

Médias seguidas de letras iguais, não diferem estatisticamente pelo teste de tukey, à 5% de probabilidade (n=4), dentro do mesmo grupo. O grupo corresponde sempre a médias encontradas na mesma linha.

Pesquisas têm evidenciado que microrganismos como *P. fluorescens* e *A. brasilense* não apenas incrementam o diâmetro do caule, mas também melhoram a

qualidade e a produtividade dos frutos em plantas. Um estudo específico com plantas de tomate inoculadas com essas bactérias mostrou melhorias significativas no diâmetro do caule e no desempenho geral das plantas. Esse efeito é atribuído à melhoria na nutrição e à regulação hormonal que esses microrganismos promovem, contribuindo para um desenvolvimento mais robusto e produtivo das plantas (Pérez-Rodriguez *et al.*, 2020).

3.3.2. Análises anatômicas

Foram observadas mudanças anatômicas significativas no colo das plantas tanto sob influência do contato com o Pb quanto após a inoculação com as bactérias estudadas. De forma geral, a inoculação resultou no aumento do número de camadas celulares nos componentes do xilema observadas na Figura 8.B e floema observados na Figura 8.A, enquanto a presença do metal levou à redução gradual dessas camadas. Com base na média harmônica entre todos os níveis de concentração de Pb testados, as plantas inoculadas com *A. brasilense* mostraram um aumento de 68,91% no floema e de 94,47% no xilema. Por outro lado, a inoculação com *P. fluorescens* levou a um acréscimo de 76,06% no floema e 70,80% no xilema. A alteração e desenvolvimento dos vasos vasculares, como o xilema e o floema, em plantas são influenciados por uma cascata de hormônios vegetais, que desempenham papéis críticos em várias fases do processo. Inicialmente, as giberelinas atuam no início do desenvolvimento vascular. À medida que o processo avança, as auxinas e citocininas entram na cascata, regulando o crescimento e diferenciação subsequente desses vasos. Finalmente, o etileno contribui na etapa final, essencial para a maturação e funcionalidade completa dos vasos condutores. Essa coordenação hormonal assegura o correto desenvolvimento estrutural e funcional do sistema vascular das plantas, essencial para a eficiente translocação de água e nutrientes (Sorce *et al.*, 2013).

No que diz respeito às células da medula observadas na Figura 8.C, somente *P. fluorescens* proporcionou um incremento de 26%, enquanto para o córtex observados na Figura 8.D, ambos os microrganismos promoveram um aumento de cerca de 27,61% evidenciado na Figura 9. A introdução de bactérias que promovem o crescimento vegetal tem um impacto significativo no aumento do volume e

quantidade das células nos tecidos vasculares, tanto do xilema quanto do floema. Esses microrganismos utilizam estratégias multifuncionais, como a síntese de hormônios vegetais, incluindo auxinas, giberelinas e citocininas, que são essenciais para o desenvolvimento vegetal e a diferenciação dos tecidos vasculares. Além disso, essas bactérias melhoram a absorção de nutrientes essenciais como N e P e produzem sideróforos que aumentam a disponibilidade nutricional para as plantas. Esses processos contribuem diretamente para um desenvolvimento mais robusto do sistema vascular. Adicionalmente, alterações induzidas por esses microrganismos na arquitetura radicular, como o fomento de raízes laterais e pelos radiculares, potencializam a captação de água e nutrientes, suportando assim um sistema vascular mais eficiente e adaptado (Bush; Sethi; Sablowski, 2022; Yang; Wang, 2016).

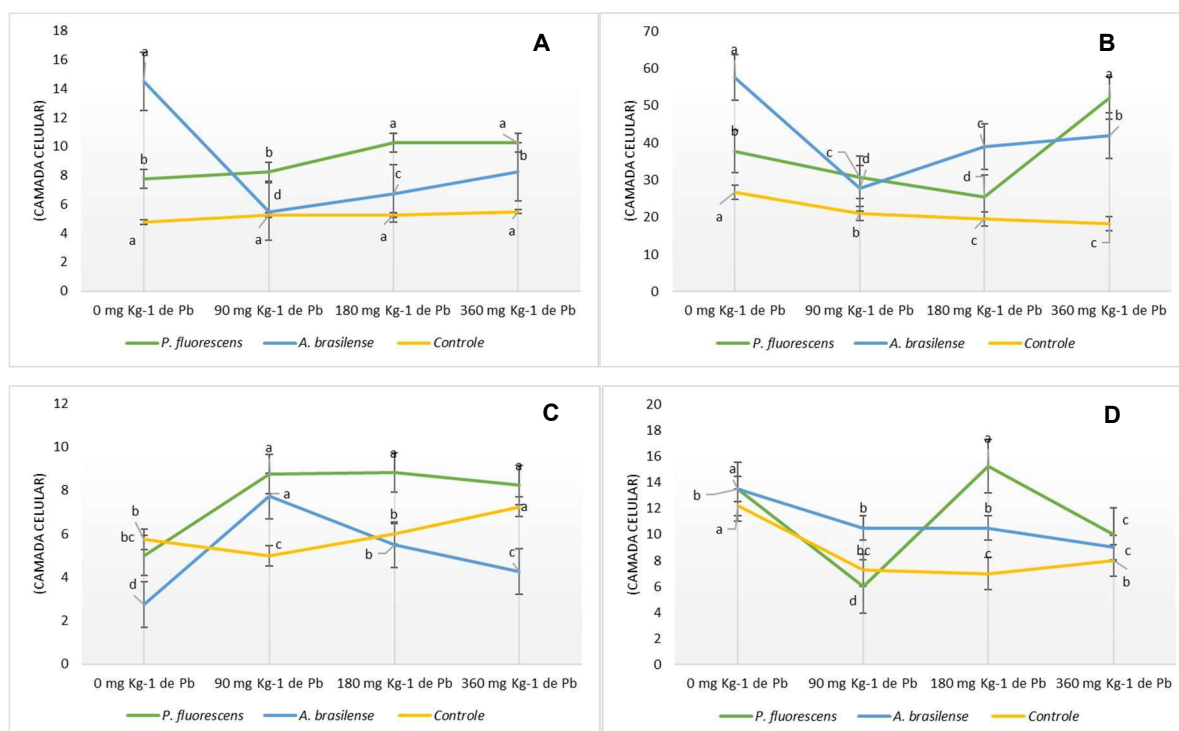


Figura 8: Relação das análises histomorfológica para (A) floema, (B) xilema, (C) medula e (D) córtex de colo de plantas de crambe inoculadas com *A. brasilense* e *P. fluorescens* em resposta a diferentes doses de Pb. **FONTE:** O autor, 2024.

Médias seguidas de letras iguais, não diferem estatisticamente pelo teste de tukey, à 5% de probabilidade (n=4), dentro do mesmo grupo. O grupo corresponde sempre a médias encontradas na mesma linha.

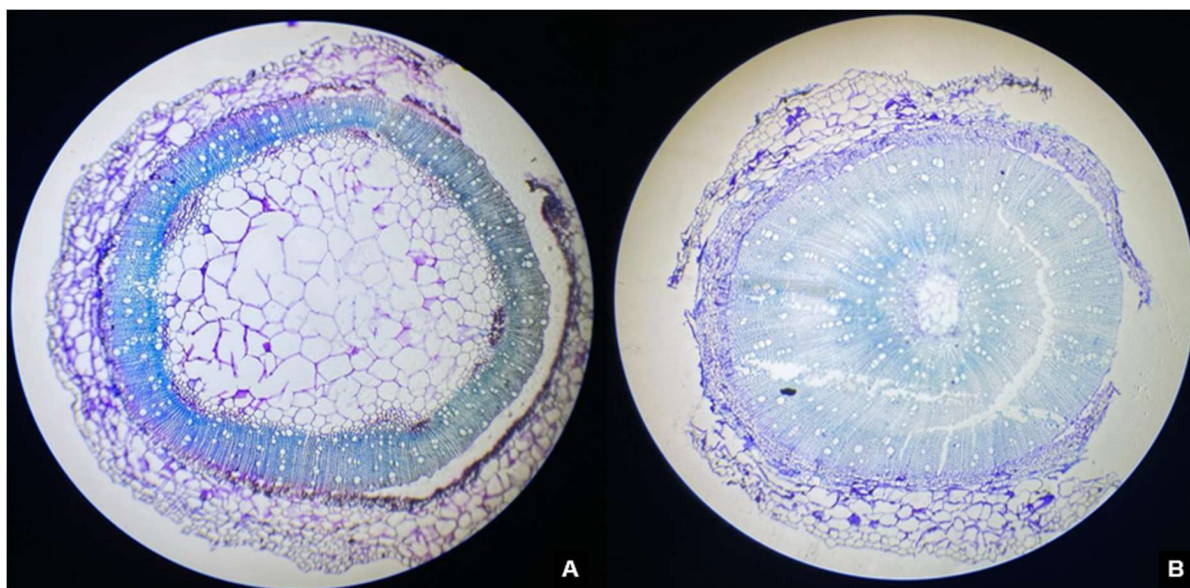


Figura 9: Corte histológico de colo de plantas de crambe, (a) plantas sem inoculação e com o dobro da dose máxima de Pb (360 mg kg^{-1}), (b) plantas inoculadas com *P. fluorescens* e em contato com o dobro da dose máxima de Pb (360 mg kg^{-1}); ambas observadas com um aumento de 40x. **FONTE:** O autor, 2024

A diferenciação e o desenvolvimento dos vasos condutores das plantas, tanto xilemáticos quanto floemáticos, são processos intrincados regulados por hormônios vegetais. Inicialmente, as giberelinas desempenham um papel fundamental, enquanto auxinas e citocininas direcionam as fases posteriores, culminando com a intervenção do etileno na formação final dos vasos. Este processo envolve a indução da morte celular programada, essencial para a formação do xilema, que é fundamental para o transporte passivo de água e nutrientes (Sorce *et al.*, 2013).

A robustez do sistema vascular, especialmente o xilema, torna-se crucial sob condições de estresse, como seca ou ataque de patógenos, influenciando diretamente a eficiência na translocação de nutrientes. A interação com microrganismos benéficos como *A. brasilense* pode significativamente melhorar a condutividade hidráulica das plantas, essencial para manter um equilíbrio hídrico eficaz (Pereyra *et al.*, 2012; Romero; Vega; Correa, 2014). Além disso, estudos indicam que a inoculação com *A. brasilense* pode resultar no aumento do diâmetro dos feixes vasculares, tanto no xilema quanto no floema, promovendo uma melhor translocação de nutrientes e reforçando a estrutura das plantas (Battistus, 2019; Boghdady; Ali, 2013; El-Afry *et al.*, 2012).

Portanto, a integração de hormônios vegetais como giberelinas, auxinas, citocininas e etileno, junto à inoculação de bactérias promotoras de crescimento, é fundamental para o desenvolvimento vigoroso do sistema vascular das plantas. Esta

dinâmica não apenas contribui para a resiliência das plantas sob condições adversas, mas também realça o potencial dessas interações para melhorar a produtividade agrícola, oferecendo caminhos promissores para a agricultura sustentável (Pereyra *et al.*, 2012; Romero; Vega; Correa, 2014; Sorce *et al.*, 2013).

3.3.3. Teores totais de nutrientes em tecido vegetal - parte aérea

Nas plantas expostas ao Pb e inoculadas, observou-se uma redução na concentração de Ca na parte aérea comparativamente às não inoculadas, especialmente nas concentrações de 180 mg kg⁻¹ e 360 mg kg⁻¹ de Pb, com o tratamento sem inoculação apresentando valores 14,64% e 21,23% superiores, respectivamente. Em contraste, na presença de 90 mg kg⁻¹ de Pb, a inoculação com *A. brasilense* resultou em um aumento de 19,08% na concentração de Ca, enquanto a *P. fluorescens* promoveu um incremento de 32,42%. Na ausência de Pb, somente a *P. fluorescens* induziu um aumento de 33,07% na concentração de Ca comparado às plantas não inoculadas, tais valores apresentam-se na Tabela 3.

Para o Mg e o N, não foram observadas diferenças significativas em nenhum dos tratamentos. No entanto, para o P e o K, ambos os nutrientes mostraram um aumento significativo com a inoculação. De forma geral, *A. brasilense* aumentou a concentração de P na parte aérea em 42,12% e a de K em 21,30%, enquanto a *P. fluorescens* elevou a concentração de P em 293,45% e a de K em 102,34%, os valores para os teores totais de nutrientes no tecido vegetal encontram-se na Tabela 3 abaixo.

P. fluorescens é reconhecida por sua contribuição significativa na agricultura, particularmente no combate a fitopatógenos, produzindo metabólitos com propriedades antipatogênicas. Esta espécie também é capaz de converter fosfatos não disponíveis em formas acessíveis às plantas, um processo evidenciado em estudos como os de Kazi *et al.* (2016) e Oliveira *et al.* (2015). Além disso, Hungria e Nogueira (2021) destacam a multifuncionalidade das *Pseudomonas*, que vai desde a solubilização de fosfato e síntese de fitohormônios até a regulação do etileno via enzima ACC deaminase e produção de sideróforos, essenciais para a otimização da absorção de nutrientes pelas plantas.

Tabela 3: Teores totais de macro e micronutrientes em parte aérea de plantas de

crambe inoculadas com *A. brasilense* e *P. fluorescens* em resposta a diferentes doses de Pb.

		Teores totais de nutrientes em parte aérea			
		Zero (0 mg kg ⁻¹ de Pb)	Metade (90 mg kg ⁻¹ de Pb)	Dose (180 mg kg ⁻¹ de Pb)	Dobro (360 mg kg ⁻¹ de Pb)
Ca (g kg⁻¹)	<i>P. fluorescens</i>	15,45 (b)	17,07 (a)	12,47 (c)	10,78 (d)
	<i>A. brasilense</i>	11,61 (c)	15,35 (a)	12,98 (b)	10,80 (c)
	Controle	12,66 (b)	12,89 (b)	14,33 (a)	12,73 (b)
Mg (g kg⁻¹)	<i>P. fluorescens</i>	2,29 (ab)	2,78 (a)	1,71 (b)	2,13 (ab)
	<i>A. brasilense</i>	1,76 (b)	2,75 (a)	2,37 (ab)	1,85 (b)
	Controle	2,39 (ab)	3,08 (a)	2,55 (a)	1,75 (b)
N (g kg⁻¹)	<i>P. fluorescens</i>	52,71 (a)	54,49 (a)	53,55 (a)	52,53 (a)
	<i>A. brasilense</i>	48,69 (a)	58,03 (a)	52,08 (a)	52,34 (a)
	Controle	50,78 (a)	49,70 (a)	47,70 (a)	49,49 (a)
Fe (mg kg⁻¹)	<i>P. fluorescens</i>	999,59 (c)	848,79 (d)	2089,8 (a)	1169,11 (a)
	<i>A. brasilense</i>	1222,82 (b)	439,47 (d)	1053,00 (c)	1247,80 (a)
	Controle	573,53 (c)	389,64 (d)	1332,4 (b)	1640,46 (a)
Cu (mg kg⁻¹)	<i>P. fluorescens</i>	14,25 (d)	18,35 (c)	42,96 (a)	31,28 (b)
	<i>A. brasilense</i>	14,05 (d)	16,65 (c)	40,60 (a)	20,30 (b)
	Controle	21,50 (b)	14,16 (c)	72,73 (a)	20,13 (b)
Zn (mg kg⁻¹)	<i>P. fluorescens</i>	0,41 (d)	0,71 (a)	0,49 (c)	0,57 (b)
	<i>A. brasilense</i>	0,43 (b)	0,52 (a)	0,55 (a)	0,53 (a)
	Controle	0,48 (b)	0,53 (a)	0,55 (a)	0,55 (a)
Mn (mg kg⁻¹)	<i>P. fluorescens</i>	78,82 (a)	73,76 (b)	67,06 (c)	70,66 (b)
	<i>A. brasilense</i>	57,43 (c)	70,75 (bc)	81,72 (a)	72,78 (b)
	Controle	81,02 (a)	73,19 (b)	77,76 (a)	62,65 (c)

Notas: Limites de quantificação (LQ): Ca = 0,009; Mg = 0,005; Fe = 0,01; Cu = 0,01; Zn = 0,01, Mg = 0,01. Médias seguidas de letras iguais, não diferem estatisticamente pelo teste de tukey, à 5% de probabilidade (n=4), dentro do mesmo grupo. O grupo corresponde sempre a médias encontradas na mesma linha. **FONTE:** O autor, 2024

Em contrapartida, a pesquisa de Felix *et al.* (1999) revelou que *Brassica juncea* extraiu baixas quantidades de Pb em solos fortemente contaminados, alcançando apenas 0,6 mg kg⁻¹. Paralelamente, *A. brasilense* desempenha um papel crucial na assimilação de N e na influência sobre a secreção de hormônios vegetais, o que foi discutido por Okon e Itzigsohn (1995), ressaltando sua importância no crescimento vegetal. Hungria *et al.* (2011) e outros estudos subsequentes confirmaram esses benefícios em diversas plantas, incluindo capim-braquiária e capim tamani, com incrementos significativos em N, P, K e Ca após a inoculação com *A. brasilense* (Andrade *et al.*, 2022; Hungria; Nogueira, 2021).

Adicionalmente, a solubilização de fosfato por *Pseudomonas* é um aspecto fundamental, com estudos como os de Silva *et al.* (2007) e Siqueira *et al.* (2018) demonstrando aumentos significativos nos teores de P e N em feijão e milho,

respectivamente. No contexto da contaminação por Pb, a situação se complica, como mostrado por Li *et al.* (2016), que apontaram os efeitos adversos do Pb na atividade microbiana e disponibilidade de macronutrientes. Pesquisas mais recentes, como as de Shaari *et al.* (2024) e Collin *et al.* (2022), sugerem que o Pb pode reduzir a disponibilidade de macronutrientes por formar complexos insolúveis, além de induzir estresse oxidativo.

Outras investigações destacam a capacidade de certas bactérias de transformar o Pb em formas menos tóxicas, potencialmente diminuindo sua biodisponibilidade para as plantas (Violante *et al.*, 2010). A simbiose com microrganismos, incluindo fungos e bactérias como as do gênero *Azospirillum* e *Pseudomonas*, revela-se crucial na otimização da nutrição mineral das plantas, especialmente em solos contaminados por Pb (Ma *et al.*, 2013; Upadhyay *et al.*, 2020). Finalmente, Flores-Aguilar *et al.* (2020) corroboram a eficácia da inoculação com *A. brasilense* em aumentar significativamente os teores de K, N e P em *Brassica oleracea* var. Royal vantage, destacando o potencial das estratégias de inoculação microbiana para mitigar os efeitos de contaminantes no solo e promover a saúde e nutrição vegetal, delineando um caminho promissor para práticas agrícolas mais sustentáveis.

3.3.4. Teores totais de nutrientes em tecido vegetal - radicular

No tecido radicular, não houve aumento na acumulação de Ca em plantas inoculadas, mantendo-se valores similares ou inferiores aos do tratamento não inoculado, exceto para *A. brasilense* em uma concentração de 180 mg kg⁻¹ de Pb, onde houve um acréscimo de 2,63% em comparação ao tratamento não inoculado. Um padrão semelhante foi observado para o Mg, onde apenas as raízes expostas a 90 mg kg⁻¹ de Pb e inoculadas com *A. brasilense* mostraram um aumento de 37,24% na concentração de Mg. A inoculação com ambas as bactérias resultou em aumentos significativos para P e K similares aos observados na parte aérea, observamos tais valores na Tabela 4 a seguir.

Tabela 4: Níveis nutricionais de macro e micronutrientes em tecido radicular de plantas de crambe inoculadas com *A. brasilense* e *P. fluorescens* em resposta a diferentes doses de Pb.

Teores totais de nutrientes em raízes						
		Zero (0 mg kg ⁻¹ de Pb)	Metade (90 mg kg ⁻¹ de Pb)	Dose (180 mg kg ⁻¹ de Pb)	Dobro (360 mg kg ⁻¹ de Pb)	
Ca (g kg⁻¹)	<i>P. fluorescens</i>	111,89 (a)	84,01 (b)	82,83 (bc)	81,65 (c)	
	<i>A. brasilense</i>	82,04 (d)	100,68 (a)	88,40 (c)	92,95 (b)	
	Controle	110,23 (c)	118,30 (b)	86,13 (d)	157,89 (a)	
Mg (g kg⁻¹)	<i>P. fluorescens</i>	14,96 (a)	14,96 (a)	6,54 (b)	14,01 (a)	
	<i>A. brasilense</i>	12,71 (c)	22,22 (a)	14,71 (b)	8,67 (d)	
	Controle	24,00 (a)	16,19 (b)	14,60 (c)	16,70 (b)	
Fe (mg kg⁻¹)	<i>P. fluorescens</i>	192,54 (b)	147,01 (c)	340,08 (a)	196,92 (b)	
	<i>A. brasilense</i>	388,31 (a)	246,81 (d)	317,96 (c)	327,94 (b)	
	Controle	915,07 (a)	112,82 (d)	735,38 (b)	199,81 (c)	
Cu (mg kg⁻¹)	<i>P. fluorescens</i>	15,51 (d)	77,18 (c)	117,36 (a)	98,68 (b)	
	<i>A. brasilense</i>	175,03 (b)	138,85 (d)	153,31 (c)	394,06 (a)	
	Controle	33,86 (c)	32,46 (c)	112,91 (b)	337,7 (a)	
Zn (mg kg⁻¹)	<i>P. fluorescens</i>	39,65 (b)	36,72 (c)	42,47 (a)	43,69 (a)	
	<i>A. brasilense</i>	45,90 (d)	53,17 (b)	55,31 (a)	50,28 (c)	
	Controle	62,33 (c)	50,23 (d)	68,13 (b)	84,51 (a)	
Mn (mg kg⁻¹)	<i>P. fluorescens</i>	128,17 (a)	39,78 (d)	71,97 (b)	56,65 (c)	
	<i>A. brasilense</i>	63,20 (b)	64,64 (b)	66,90 (b)	77,98 (a)	
	Controle	129,24 (c)	67,98 (d)	142,10 (b)	156,84 (a)	

Notas: Limites de quantificação (LQ): Ca = 0,009; Mg = 0,005; Fe = 0,01; Cu = 0,01; Zn = 0,01, Mg = 0,01. Médias seguidas de letras iguais, não diferem estatisticamente pelo teste de tukey, à 5% de probabilidade (n=4), dentro do mesmo grupo. O grupo corresponde sempre a médias encontradas na mesma linha. **FONTE:** O autor, 2024

Em geral, os micronutrientes estavam em concentrações mais elevadas nos tratamentos inoculados com *P. fluorescens*, especialmente nas doses mais altas de Pb, com aumentos de 29,75% para o Fe, 16,63% para o Cu e 1,88% para o Zn, enquanto o Mn não apresentou variações significativas com a inoculação de qualquer uma das bactérias como observado na Tabela 4.

O Fe no tecido radicular mostrou um aumento de 64,12% com a inoculação de *A. brasilense* em condições de exposição a 300 mg kg⁻¹ de Pb, enquanto na presença de 90 mg kg⁻¹ de Pb, a inoculação com *A. brasilense* resultou em um aumento de 118,76% e a *P. fluorescens* promoveu um aumento de 30,30% no conteúdo de Fe como observado na Tabela 4.

A concentração de Cu no tecido radicular aumentou progressivamente com a inoculação de *A. brasilense* sob todas as concentrações de Pb testadas, com incrementos de 416,92%, 327,88%, 35,62% e 16,68% para os tratamentos sem

adição de Pb, 90 mg kg⁻¹, 180 mg kg⁻¹ e 360 mg kg⁻¹ de Pb, respectivamente, tais valores encontram-se detalhados na Tabela 4.

Os níveis de Zn e Mn no tecido radicular não apresentaram aumentos significativos devido à inoculação nos tratamentos observados na Tabela 4.

Torres-Torres *et al.* (2022) relataram melhorias notáveis na altura e no desenvolvimento geral de *Brassica napus* após a inoculação com *Azotobacter* sp. e *A. brasilense*. Microrganismos promotores de crescimento, como bactérias e fungos, são fundamentais para otimizar o desenvolvimento vegetal, mesmo em ambientes adversos, como solos contaminados por metais tóxicos. Esses microrganismos estabelecem uma simbiose vital com as raízes das plantas, não apenas incrementando a absorção de nutrientes, mas também elevando a resiliência das plantas a estresses abióticos, incluindo a toxicidade por Pb. Este mecanismo destaca-se como um elemento chave na promoção da sanidade vegetal e na mitigação dos impactos negativos resultantes da contaminação por metais, conforme evidenciado por estudos como os de Alotaibi *et al.* (2021), Ferrol *et al.* (2016) e Gong & Tian (2019).

3.3.5. Teores totais de chumbo

A concentração de Pb na parte aérea das plantas mostrou uma resposta significativa à inoculação para todas as concentrações testadas, indicando um aumento na acumulação de Pb na parte aérea. No tratamento sem adição de Pb, mas com a quantidade pré-existente no solo, as plantas não inoculadas apresentaram 1,15 mg kg⁻¹ de Pb, enquanto as inoculadas com *A. brasilense* e *P. fluorescens* apresentaram 1,28 mg kg⁻¹ e 1,37 mg kg⁻¹, respectivamente. Em relação ao tratamento com 90 mg kg⁻¹ de Pb, as plantas não inoculadas tinham 2,28 mg kg⁻¹ de Pb, contra 4,12 mg kg⁻¹ com *A. brasilense* e 3,37 mg kg⁻¹ com *P. fluorescens*. Essa tendência se manteve para as concentrações mais altas de Pb, com as plantas inoculadas acumulando significativamente mais Pb do que as não inoculadas, valores detalhados na Tabela 5.

O teor de Pb no tecido radicular também aumentou com a inoculação de ambas as bactérias, demonstrando que a inoculação potencializa a absorção deste metal. Nas plantas expostas a 90 mg kg⁻¹ de Pb, as raízes inoculadas com *A. brasilense* e *P. fluorescens* tiveram teores 73,71% e 48,28% maiores, respectivamente, do que as

plantas não inoculadas. Para a concentração de 180 mg kg⁻¹ de Pb, a absorção pelo tecido radicular foi 88,73% maior com *A. brasilense* e 63,28% maior com *P. fluorescens*, e na presença de 360 mg kg⁻¹ de Pb, as plantas inoculadas com *A. brasilense* apresentaram um acréscimo de 83,34% na concentração radicular de Pb, enquanto com *P. fluorescens*, o aumento foi de 49,44% valores observados na Tabela 5 a seguir.

Tabela 5: Teores totais de Pb encontrado em solo, raízes e parte aérea de plantas de crambe inoculadas com *A. brasilense* e *P. fluorescens* em resposta a diferentes doses de Pb.

Teores totais de Chumbo (mg kg ⁻¹)					
		Zero (0 mg kg ⁻¹ de Pb)	Metade (90 mg kg ⁻¹ de Pb)	Dose (180 mg kg ⁻¹ de Pb)	Dobro (360 mg kg ⁻¹ de Pb)
Solo	<i>P. fluorescens</i>	6,67 (d)	58,86 (c)	111,66 (b)	247,28 (a)
	<i>A. brasilense</i>	6,03 (d)	42,44 (c)	89,99 (b)	186,16 (a)
	Controle	7,55 (d)	89,14 (c)	155,81 (b)	326,11 (a)
Raízes	<i>P. fluorescens</i>	2,49 (d)	5,19 (c)	14,01 (b)	36,24 (a)
	<i>A. brasilense</i>	2,55 (d)	6,08 (c)	16,08 (b)	44,46 (a)
	Controle	2,42 (d)	3,50 (c)	8,58 (b)	24,25 (a)
Parte aérea	<i>P. fluorescens</i>	1,37 (d)	3,79 (c)	6,48 (b)	19,30 (a)
	<i>A. brasilense</i>	1,28 (d)	4,12 (c)	7,99 (b)	23,87 (a)
	Controle	1,15 (d)	2,28 (c)	4,18 (b)	12,59 (a)

Notas: Limites de quantificação (LQ): Pb = 0,01. Médias seguidas de letras iguais, não diferem estatisticamente pelo teste de tukey, à 5% de probabilidade (n=4), dentro do mesmo grupo. O grupo corresponde sempre a médias encontradas na mesma linha. **FONTE:** O autor, 2024

A absorção de Pb pelas plantas ocorre predominantemente na forma bivalente (Pb²⁺), um processo essencialmente passivo que se dá por meio dos pelos radiculares, conforme documentado por Kabata-Pendias e Pendias (2001). Esse metal exerce um impacto negativo sobre a nutrição vegetal, reduzindo a disponibilidade de vários macronutrientes cruciais, um efeito amplamente atribuído à competição entre o Pb e outros cátions como Ca, Mg, Cu, Fe e K (Sharma; Singhvi, 2017). Estudos com milho indicam que a presença de Pb reduz significativamente os níveis de Ca e K, afetando processos vitais como a fotossíntese, mitose e absorção de água, o que ilustra os desafios impostos pela contaminação por Pb à fisiologia das plantas (Huang *et al.*, 2005; Malavolta; Vitti; Oliveira, 1997).

Microrganismos, incluindo as bactérias *P. fluorescens* e *A. brasilense*, podem desempenhar um papel na solubilização do Pb no solo por meio da excreção de ácidos orgânicos e exsudatos que acidificam o entorno radicular, melhorando a solubilidade

de compostos insolúveis de Pb. A produção de sideróforos por *Pseudomonas* pode ser crucial neste processo, pois esses compostos podem ligar-se ao metal, aumentando sua mobilidade no solo (Battistus, 2019; Jeyalakshmi & Kanmani, 2008; Souza, 2013b).

A formação de complexos insolúveis com íons de macronutrientes e a indução de estresse oxidativo são mecanismos adicionais pelos quais o Pb compromete a absorção e transporte de nutrientes essenciais, conforme descrito por Collin *et al.* (2022), Shaari *et al.* (2024) e Sharma & Dubey (2005). Além disso, pesquisas destacam o potencial benéfico de microorganismos específicos, como bactérias e fungos, na conversão do Pb em formas menos nocivas, um processo que não apenas mitiga os impactos deletérios do metal, mas também promove a nutrição mineral das plantas em ambientes contaminados (Upadhyay *et al.*, 2020; Violante *et al.*, 2010). Bactérias fixadoras de nitrogênio ou solubilizadoras de fosfato desempenham um papel notável na melhoria da absorção de macronutrientes em solos contaminados por Pb (Ma *et al.*, 2013).

Os resultados deste estudo alinham-se com a literatura existente, ressaltando o papel crucial de grupos específicos de microorganismos em facilitar a absorção de metais tóxicos pelas plantas. Bactérias solubilizadoras de fosfato do gênero *Pseudomonas* foram mostradas transformando quimicamente o Pb no solo em formas mais acessíveis para as plantas, conforme evidenciado em diversos estudos (Arslan *et al.*, 2017; Khan; Jhung, 2017; Ojuederie; Babalola, 2017; Wang *et al.*, 2022). A presença de Pb no ambiente provoca uma série de impactos negativos no desenvolvimento das plantas, desde a inibição do crescimento das raízes até mudanças metabólicas e toxicidade celular, devido à interferência na absorção e transporte de nutrientes essenciais (Alkhatib *et al.*, 2019; Colin *et al.*, 2013; Sharma; Dubey, 2005).

Vários fatores influenciam a capacidade de bioabsorção desses microorganismos, incluindo concentrações de metais, fisiologia e composição celular, bem como a estrutura das células microbianas (Li *et al.*, 2019). Importante, substâncias poliméricas extracelulares produzidas por bactérias, como glicoproteínas, substâncias húmicas, lipídios, polissacarídeos, proteínas e ácido urônico, desempenham um papel vital nos processos de remoção de metais tóxicos de ambientes poluídos (Gupta; Diwan, 2017; Li; Yu, 2014). Além disso, processos incluindo complexação, troca iônica e precipitação superficial são conhecidos como os principais mecanismos nas

interações com íons metálicos (Li; Yu, 2014).

No contexto da biorremediação de Pb, bactérias resistentes a este metal utilizam vários mecanismos para sua detoxificação, incluindo bioissorção, mecanismo de efluxo, precipitação induzida, sequestro extracelular e bioacumulação intracelular de Pb (Jarosławiecka; Piotrowska-Seget, 2014), reiterando a versatilidade e eficácia de microrganismos no tratamento de solos contaminados com metais tóxicos.

3.3.6. Teores de nutrientes encontrados no solo

Tanto para as raízes quanto para o solo, o teor total de Ca foi superior nas plantas não inoculadas. Ao analisar a média harmônica entre todos os tratamentos com diferentes concentrações de Pb, que também representam os valores das médias isoladas, constatou-se que o teor de Ca no solo não inoculado foi de 22,52 g kg⁻¹. Nos solos tratados com *A. brasilense*, o teor de Ca foi de 16,99 g kg⁻¹, e nos solos inoculados com *P. fluorescens*, foi de 19,86 g kg⁻¹. O teor de Ca disponível para as plantas no solo não inoculado foi de 7,53 cmolc/dm³. Nos solos com *A. brasilense*, foi de 7,15 cmolc/dm³, e com *P. fluorescens*, de 6,89 cmolc/dm³, tais valores podem ser observados nas Tabelas 6 para teores totais e Tabela 7 para teores disponíveis.

O Mg seguiu padrão semelhante, com teores totais de 6,02 g kg⁻¹ para solos não inoculados, 4,90 g kg⁻¹ para solos tratados com *A. brasilense* e 4,69 g kg⁻¹ para solos com *P. fluorescens*. Os teores de Mg disponíveis foram de 3,76 cmolc/dm³ para solos não inoculados, 3,32 cmolc/dm³ para solos com *A. brasilense*, e 3,30 cmolc/dm³ para solos com *P. fluorescens* (Tabela 6 e 7).

Houve uma diferença significativa nos teores totais e disponíveis de P em solos inoculados. O solo não inoculado apresentou um teor total de P de 52,25 mg kg⁻¹ e um nível disponível de 12,33 mg kg⁻¹. Nos solos com *A. brasilense*, os teores foram de 63,12 mg kg⁻¹ (total) e 19,62 mg kg⁻¹ (disponível), e nos solos com *P. fluorescens*, de 66,34 mg kg⁻¹ (total) e 24,20 mg kg⁻¹ (disponível) (Tabela 6 e 7).

Tabela 6: Teores totais de macro e micronutrientes em solo após o cultivo de plantas de crambe inoculadas com *A. brasilense* e *P. fluorescens* em resposta a diferentes doses de Pb.

Nutrientes totais de nutrientes no solo							
		Zero (0 mg kg ⁻¹ de Pb)		Metade (90 mg kg ⁻¹ de Pb)		Dose (180 mg kg ⁻¹ de Pb)	
Ca (g kg ⁻¹)	<i>P. fluorescens</i>	22,30	(b)	24,42	(a)	14,51	(d)
	<i>A. brasilense</i>	17,97	(a)	16,70	(b)	17,72	(a)
	Controle	22,25	(c)	26,80	(a)	25,32	(b)
Mg (g kg ⁻¹)	<i>P. fluorescens</i>	5,32	(a)	4,89	(b)	4,02	(d)
	<i>A. brasilense</i>	5,34	(a)	5,21	(a)	4,61	(b)
	Controle	6,25	(b)	7,42	(a)	5,76	(c)
Fe (mg kg ⁻¹)	<i>P. fluorescens</i>	1012,49	(c)	916,75	(d)	1118,12	(a)
	<i>A. brasilense</i>	1046,65	(b)	853,97	(d)	965,00	(c)
	Controle	1061,23	(a)	987,24	(b)	977,94	(c)
Cu (mg kg ⁻¹)	<i>P. fluorescens</i>	82,27	(b)	56,75	(c)	141,5	(a)
	<i>A. brasilense</i>	82,89	(a)	83,75	(a)	59,00	(b)
	Controle	64,37	(c)	77,75	(a)	64,25	(c)
Zn (mg kg ⁻¹)	<i>P. fluorescens</i>	1,77	(a)	0,56	(bc)	0,88	(b)
	<i>A. brasilense</i>	0,57	(b)	0,83	(b)	1,37	(a)
	Controle	0,94	(b)	0,97	(b)	2,71	(a)
Mn (mg kg ⁻¹)	<i>P. fluorescens</i>	13,26	(a)	9,52	(b)	13,47	(a)
	<i>A. brasilense</i>	11,79	(b)	10,65	(c)	10,52	(c)
	Controle	9,57	(c)	11,68	(b)	11,72	(b)

Notas: Limites de quantificação (LQ): Ca = 0,009; Mg = 0,005; Fe = 0,01; Cu = 0,01; Zn = 0,01, Mg = 0,01. Médias seguidas de letras iguais, não diferem estatisticamente pelo teste de tukey, à 5% de probabilidade (n=4), dentro do mesmo grupo. O grupo corresponde sempre a médias encontradas na mesma linha. **FONTE:** O autor, 2024

Tabela 7: Teores de macronutrientes disponíveis/trocáveis a fim de fertilidade do solo em solo após o cultivo de plantas de crambe inoculadas com *A. brasilense* e *P. fluorescens* em resposta a diferentes doses de Pb.

Teores disponíveis de macronutrientes no solo		Zero (0 mg kg ⁻¹ de Pb)	Metade (90 mg kg ⁻¹ de Pb)	Dose (180 mg kg ⁻¹ de Pb)	Dobro (360 mg kg ⁻¹ de Pb)
Ca (cmolc/dm ³)	<i>P. fluorescens</i>	7,36 (b)	6,56 (c)	6,07 (d)	7,94 (a)
	<i>A. brasilense</i>	7,74 (a)	6,50 (c)	7,25 (b)	7,13 (b)
	Controle	7,49 (b)	7,34 (b)	0,39 (b)	7,89 (a)
Mg (cmolc/dm ³)	<i>P. fluorescens</i>	2,89 (c)	3,85 (a)	2,96 (c)	3,51 (b)
	<i>A. brasilense</i>	2,80 (c)	3,83 (a)	3,46 (b)	3,19 (b)
	Controle	3,34 (b)	4,46 (a)	4,26 (a)	2,97 (b)
K (cmolc/dm ³)	<i>P. fluorescens</i>	0,63 (d)	0,81 (c)	0,87 (a)	0,84 (b)
	<i>A. brasilense</i>	0,63 (c)	0,84 (b)	0,89 (a)	0,82 (b)
	Controle	0,52 (c)	0,68 (a)	0,65 (b)	0,63 (b)
P (mg/dm ³)	<i>P. fluorescens</i>	24,46 (a)	24,6 (a)	24,23 (a)	23,52 (b)
	<i>A. brasilense</i>	20,43 (a)	20,31 (a)	19,51 (b)	18,23 (c)
	Controle	14,94 (a)	14,30 (b)	12,23 (c)	9,00 (d)

Notas: Limites de quantificação (LQ): Ca = 0,009; Mg = 0,005; Fe = 0,01; Cu = 0,01; Zn = 0,01, Mg = 0,01. Médias seguidas de letras iguais, não diferem estatisticamente pelo teste de tukey, à 5% de probabilidade (n=4), dentro do mesmo grupo. O grupo corresponde sempre a médias encontradas na mesma linha. **FONTE:** O autor, 2024

O K apresentou um padrão semelhante ao P, com solos não inoculados mostrando uma concentração total de 289,34 mg kg⁻¹ e 0,48 cmolc/dm³ disponível. Nos solos com *A. brasilense*, os teores foram de 552,23 mg kg⁻¹ (total) e 0,80 cmolc/dm³ (disponível), e nos solos com *P. fluorescens*, de 547,25 mg kg⁻¹ (total) e 0,79 cmolc/dm³ (disponível) (Tabela 6 e 7).

Entre os micronutrientes, *P. fluorescens* proporcionou um aumento de 4% nos níveis de Fe. O Cu teve incrementos de 11,70% em solos com *A. brasilense* e de 31,32% com *P. fluorescens*. Não houve aumentos significativos nos níveis de Zn com a inoculação. Para o Mn, apenas *P. fluorescens* promoveu um aumento de 9,43% em comparação com as plantas não inoculadas (Tabela 6 e 7).

As medições da concentração de Pb no solo após o experimento revelaram resultados notáveis. Os solos que não receberam adição de Pb exibiam uma baixa concentração natural deste metal. Ao final do experimento, o solo não inoculado apresentou uma concentração de 7,55 mg kg⁻¹ de Pb, enquanto nos solos inoculados com *P. fluorescens*, essa concentração caiu para 6,67 mg kg⁻¹, e para *A. brasilense*, foi ainda menor, atingindo 6,03 mg kg⁻¹. Nos solos expostos a 90 mg kg⁻¹ de Pb, a diferença se tornou mais pronunciada em comparação aos solos sem presença de

bactérias, registrando 89,41 mg kg⁻¹ para solos não inoculados, 42,44 mg kg⁻¹ para solos tratados com *A. brasilense* e 58,86 mg kg⁻¹ para solos com *P. fluorescens*. Para a concentração de Pb de 180 mg kg⁻¹, os resultados foram de 155,81 mg kg⁻¹ para solos não inoculados, 89,99 mg kg⁻¹ para solos inoculados com *A. brasilense*, e 111,66 mg kg⁻¹ para solos inoculados com *P. fluorescens*. Na maior concentração testada, 360 mg kg⁻¹ de Pb, os solos não inoculados apresentaram 326,11 mg kg⁻¹, enquanto os solos com *A. brasilense* mostraram 186,16 mg kg⁻¹ e com *P. fluorescens*, 247,28 mg kg⁻¹, indicando uma redução significativa na presença de *A. brasilense* (Tabela 6 e 7).

Um aspecto fundamental das bactérias promotoras de crescimento vegetal é sua capacidade de solubilizar fosfatos, essencial para o desenvolvimento das plantas, dado que o P atua como um regulador em vias metabólicas e reações bioquímicas (Taiz; Zeiger, 2017). Nos Latossolos Vermelhos Distroféricos dos trópicos, como no Cerrado, onde os solos argilosos são ricos em óxidos de Fe e Al, grande parte do P fica fixado, tornando-se inacessível às plantas. Malavolta (1980) observou que, apesar de presente em grandes quantidades, o P frequentemente se apresenta em formas insolúveis.

Os microrganismos promovem a solubilização dos fosfatos principalmente pela exsudação de uma diversidade de ácidos orgânicos, como ácido glucônico, cítrico e oxálico, entre outros (Marciano Marra *et al.*, 2012).

Além disso, microrganismos como *P. fluorescens* e *A. brasilense* são cruciais para aumentar a absorção de Pb pelas plantas, resultando em uma menor concentração deste metal no substrato. Tais estudos sugerem que estes microrganismos podem diretamente aumentar a mobilidade e a biodisponibilidade de metais no solo, facilitando sua absorção pelas plantas através da produção de agentes quelantes ou modificando o pH do solo (Glick, 2014; Ma *et al.*, 2013; Wu *et al.*, 2016). A significativa redução nas concentrações de Pb solúvel observada após a inoculação com *A. brasilense* e *P. fluorescens* demonstra a eficácia desses microrganismos em solubilizar o Pb, reduzindo sua disponibilidade ambiental (De; Ramaiah; Vardanyan, 2008; Heidari; Panico, 2020; Naik; Dubey, 2013).

A eficácia das cepas bacterianas em melhorar a fitoextração de metais tóxicos sugere uma abordagem promissora para combinar a remediação do solo com a produção agrícola sustentável, incrementando o crescimento das plantas enquanto também aumenta a absorção de contaminantes metálicos (Pilon-Smits, 2005;

Vangronsveld *et al.*, 2009). Contudo, devido às limitações da fitoextração para a recuperação de Pb, a fitoestabilização surge como uma alternativa viável, com bactérias promotoras do crescimento de plantas sendo eficazes na redução da mobilidade do Pb, tornando-se úteis para sua estabilização no solo (Egendorf *et al.*, 2020; Shabaan *et al.*, 2021).

A importância econômica da fitorremediação para limpar áreas agrícolas contaminadas é destacada por estudos recentes, como os realizados na China, mostrando ser uma opção preferida entre os agricultores (Yan; Wang; Yang, 2022). A possibilidade de integrar fitorremediação e cultivo agrícola não apenas aumenta o apelo econômico da abordagem, mas também requer uma consideração cuidadosa das combinações de tipos de solo, espécies/variedades de plantas e práticas agrônômicas, juntamente com um monitoramento diligente dos contaminantes (Haller; Jonsson, 2020).

Portanto, a interação entre plantas e microrganismos desempenha um papel crítico em aumentar a eficácia da fitorremediação, oferecendo aplicações práticas significativas para a recuperação de solos contaminados por metais tóxicos e promovendo uma agricultura mais sustentável (Gladkov *et al.*, 2023). Esta síntese dos mecanismos e impactos da fitoextração assistida por micróbios enfatiza a importância de pesquisas contínuas para otimizar estratégias eficazes de biorremediação, contribuindo para mitigar desafios ambientais e promover práticas agrícolas resilientes e sustentáveis.

O pH do solo manteve-se estável, variando entre 7,20 e 7,90 em todos os tratamentos avaliados, indicando que as alterações na concentração de Pb não afetaram significativamente a acidez do solo observados na Figura 10 a seguir.

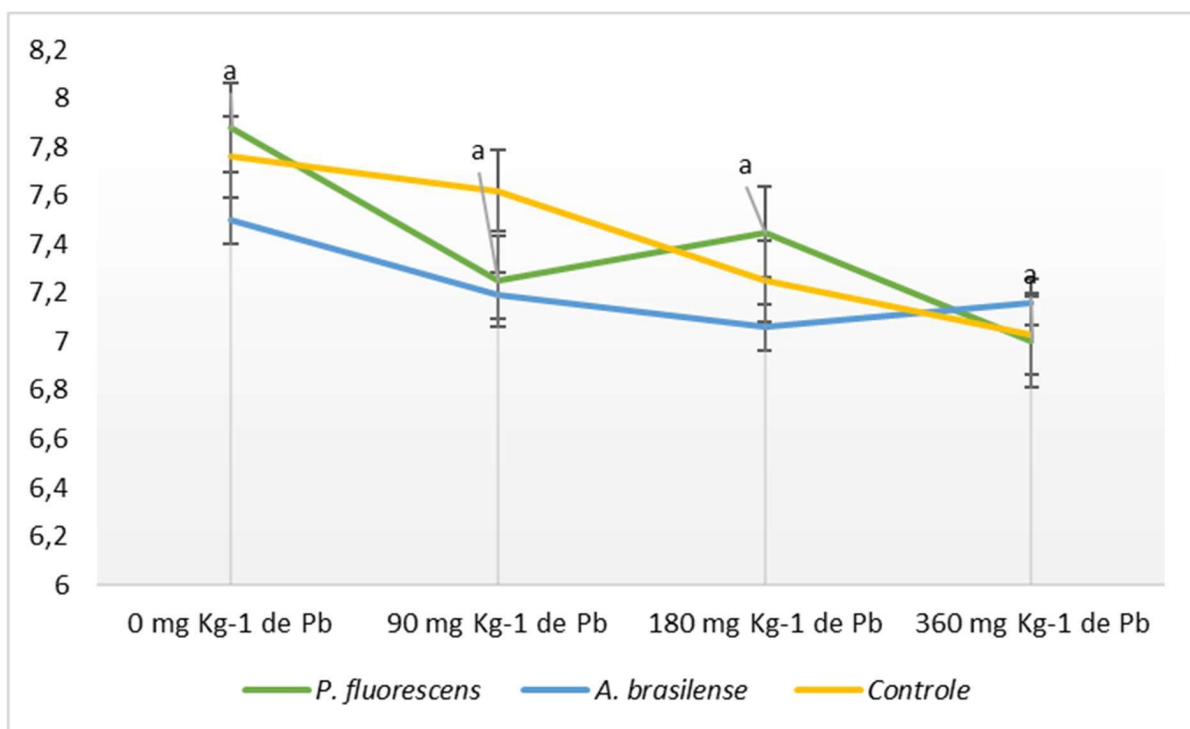


Figura 10: Influência do pH do solo em relação aos tratamentos com plantas de crambe inoculadas com *A. brasilense* e *P. fluorescens* em resposta a diferentes doses de Pb. **FONTE:** O autor, 2024
Médias seguidas de letras iguais, não diferem estatisticamente pelo teste de Tukey, à 5% de probabilidade (n=4), dentro do mesmo grupo. O grupo corresponde sempre a médias encontradas na mesma linha.

A manutenção da estabilidade do pH do solo em estudos de contaminação e recuperação é um indicador crucial, pois sugere que as variações na disponibilidade e absorção de metais tóxicos, são diretamente influenciadas por mudanças no pH. Esse aspecto indica que os benefícios observados na modulação da absorção de Pb devem ser atribuídos a fatores além da mera alteração da acidez ou alcalinidade do solo.

Este fenômeno pode ser elucidado através de mecanismos bioquímicos e fisiológicos específicos, que são induzidos pela atividade dos microrganismos inoculados. Entre esses mecanismos, destacam-se a bioabsorção, a bioprecipitação e a transformação química do Pb. Estes processos são frequentemente mediados por enzimas ou metabolitos produzidos pelos microrganismos. Por exemplo, certos microrganismos têm a capacidade de secretar substâncias quelantes que se ligam ao Pb, reduzindo sua mobilidade e toxicidade ao formar complexos estáveis. Além disso, esses microrganismos podem alterar a valência do Pb, tornando-o menos solúvel e, conseqüentemente, menos disponível para as plantas (Chavez Apare, 2019; Domingos, 1997; Florida Rofner *et al.*, 2019).

3.3.7. Índice de acumulação e translocação

A inoculação aumenta notavelmente o índice de acumulação de Pb observados na Figura 11 em plantas de crambe, com o aumento sendo mais pronunciado conforme a concentração de Pb no solo se eleva. A *A. brasilense* se sobressaiu, impulsionando consideravelmente o índice de acumulação em 34,04%, 258,20%, 225%, e 227,27% para as concentrações de 0 mg kg⁻¹, 90 mg kg⁻¹, 180 mg kg⁻¹, e 360 mg kg⁻¹ de Pb, respectivamente. Em contraste, a *P. fluorescens* apresentou índices de acumulação menores, com 23,40%, 150%, 125%, e 100% para as mesmas concentrações de Pb, respectivamente.

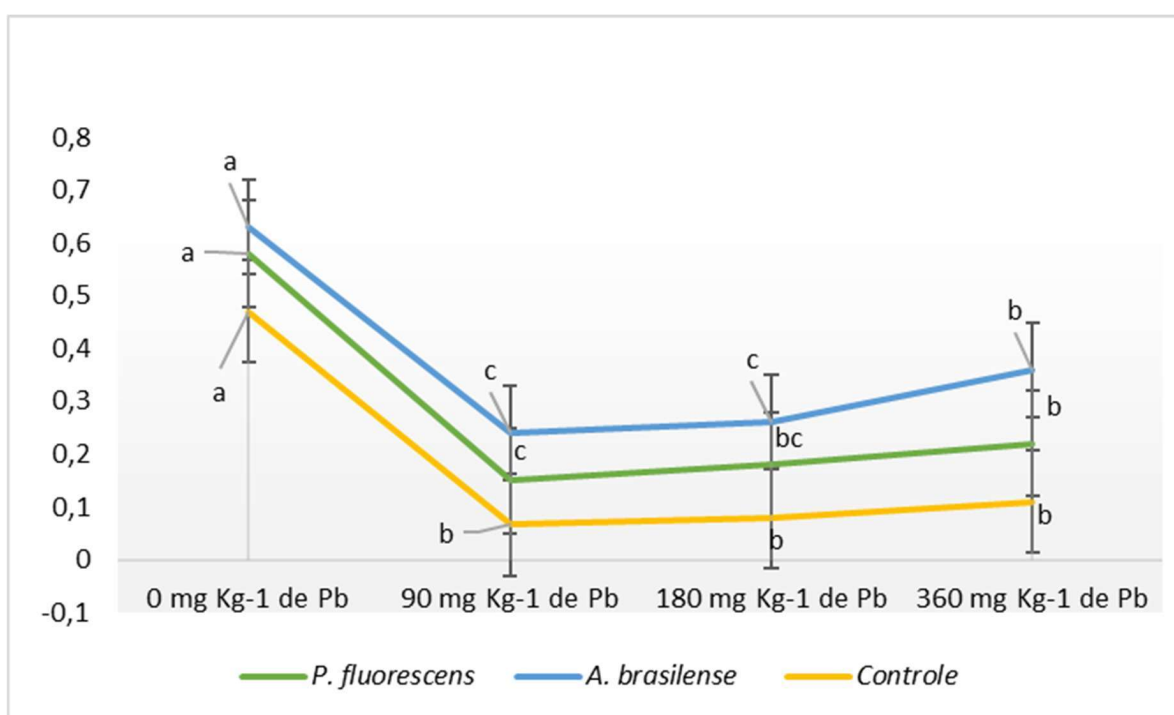


Figura 11: Índice de acumulação para plantas de crambe inoculadas com *A. brasilense* e *P. fluorescens* em resposta a diferentes doses de Pb. **FONTE:** O autor, 2024

Médias seguidas de letras iguais, não diferem estatisticamente pelo teste de tukey, à 5% de probabilidade (n=4), dentro do mesmo grupo. O grupo corresponde sempre a médias encontradas na mesma linha.

Sem variações significativas, o índice de translocação observados na Figura 12 manteve-se estável entre os tratamentos. A fitoextração, empregando a absorção pelas raízes e acumulação nas partes aéreas para remover contaminantes inorgânicos, é reafirmada como uma técnica efetiva para a descontaminação de solos (Vamerali; Bandiera; Mosca, 2010).

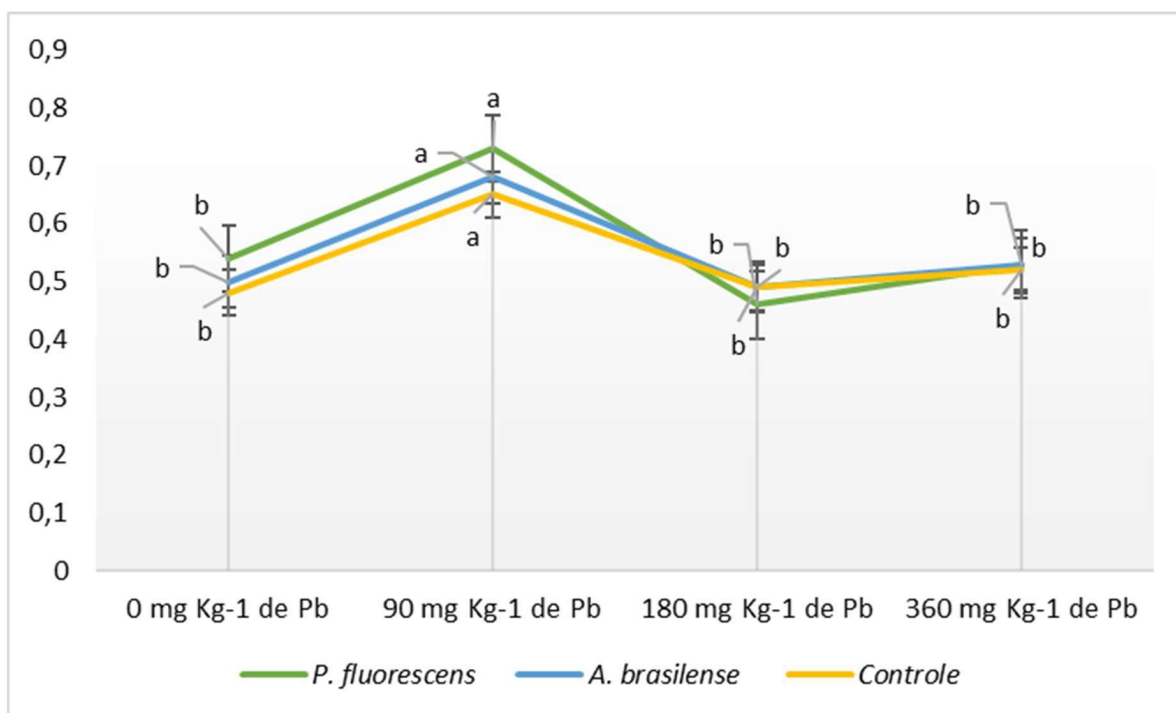


Figura 12: Índice de translocação para plantas de crame inoculadas com *A. brasilense* e *P. fluorescens* em resposta a diferentes doses de Pb. **FONTE:** O autor, 2024

Médias seguidas de letras iguais, não diferem estatisticamente pelo teste de tukey, à 5% de probabilidade ($n=4$), dentro do mesmo grupo. O grupo corresponde sempre a médias encontradas na mesma linha.

Plantas com fatores de acumulação e de translocação superiores a um são reconhecidas por seu potencial como fitoextratoras de metais tóxicos, devido à sua capacidade de concentrar o contaminante predominantemente em suas partes aéreas. Esta característica as torna ideais para processos de fitorremediação, conforme destacado por Boechat (2014) e Souza *et al.* (2013). O fator de acumulação avalia a habilidade de uma planta em absorver metais do solo e acumulá-los em sua biomassa, classificando-as em acumuladoras, indicadoras ou exclusoras. Paralelamente, o fator de translocação mede a eficiência com que uma planta transporta o metal das raízes para a parte aérea, sendo que um fator de translocação maior que um é indicativo de uma espécie eficiente em fitoextração, como apontado por Tiwari *et al.* (2011).

No contexto bacteriano, espécies como *Pseudomonas* spp. foram isoladas e aplicadas com sucesso em estratégias de biorremediação de metais tóxicos, demonstrando a eficácia desses microrganismos nos processos de descontaminação do solo e da água. Estudos recentes, como os de Chen *et al.* (2017), Dabir *et al.* (2019), Kalita & Joshi (2017) e Pramanik *et al.* (2018), ilustram esta aplicação. Cepas bacterianas resistentes a metais utilizam uma variedade de mecanismos, incluindo

sequestro extracelular e intracelular, assim como bioissorção pela superfície celular, para mitigar a toxicidade dos íons metálicos em ambientes contaminados, conforme evidenciado por Huang *et al.* (2018) e Kushwaha *et al.* (2018).

3.4. CONCLUSÃO

Este estudo destaca a biorremediação como uma estratégia promissora e sustentável para o tratamento de solos contaminados com Pb. A utilização de *Crambe abyssinica*, em conjunto com microrganismos específicos, demonstrou não apenas a capacidade de melhoria da qualidade do solo e da sanidade vegetal, mas também um método eficiente para aumentar a absorção e a acumulação desse elemento pelas plantas.

A bactéria *P. fluorescens* demonstrou-se altamente eficaz em promover o crescimento das plantas de crambe, aumentando significativamente o comprimento total, a biomassa fresca e seca, e a acumulação de Pb nas partes aéreas. Este microrganismo também melhorou a solubilização de fosfatos, contribuindo para uma melhor nutrição das plantas em solos contaminados.

A bactéria *A. brasilense* mostrou-se igualmente eficiente em promover o desenvolvimento das plantas. Este microrganismo contribuiu para a fixação biológica de nitrogênio e a síntese de fitohormônios, resultando em um crescimento mais robusto e gerando a resistência das plantas ao estresse causado pela contaminação por Pb.

Ambos os microrganismos foram eficazes na redução da concentração de Pb no solo, tornando-o menos disponível e tóxico para as plantas. A inoculação com *P. fluorescens* e *A. brasilense* resultou em uma menor concentração de Pb no solo após o experimento, indicando a eficiência desses microrganismos na remediação de solos contaminados.

A combinação de *Crambe abyssinica* com *P. fluorescens* mostrou-se particularmente promissora para a fitoextração de Pb, devido à alta acumulação do metal nas partes aéreas das plantas. Este estudo reforça o potencial dos microrganismos promotores de crescimento como aliados na biorremediação de solos contaminados, promovendo uma agricultura mais sustentável.

3.5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ACCIOLY, A. M. A.; SIQUEIRA, J. O. Contaminação química e biorremediação do solo. Em: **Tópicos em Ciência do Solo**. Viçosa - MG: Embrapa, 2000. p. 299–352.

AHMAD, M. Microbes in Soil and Their Agricultural Prospects – Nova Science Publishers. Em: **Microbes in Soil and Their Agricultural Prospects**. [s.l: s.n.].

ALKHATIB, R. *et al.* Effect of lead on the physiological, biochemical and ultrastructural properties of *Leucaena leucocephala*. **Plant Biology**, v. 21, n. 6, p. 1132–1139, 2019.

ALOTAIBI, M. O. *et al.* Arbuscular Mycorrhizae Mitigate Aluminum Toxicity and Regulate Proline Metabolism in Plants Grown in Acidic Soil. **Journal of Fungi**, v. 7, n. 7, p. 531, 30 jun. 2021.

ANDRADE, R. A. *et al.* Acúmulo de nutrientes nas folhas e produção do capim Tamani inoculado com *Azospirillum brasilense*. **Revista Verde de Agroecologia e Desenvolvimento Sustentável**, Revista Verde de Agroecologia e Desenvolvimento Sustentável. v. 17, n. 2, p. 77–85, 2022.

AOAC. **Official Methods of Analysis, 22nd Edition (2023)**. [s.l: s.n.]. v. 22

ARSLAN, M. *et al.* Plant-bacteria partnerships for the remediation of persistent organic pollutants. **Environmental Science and Pollution Research International**, v. 24, n. 5, p. 4322–4336, fev. 2017.

BABU, A. G. *et al.* Potential use of *Pseudomonas koreensis* AGB-1 in association with *Miscanthus sinensis* to remediate heavy metal(loid)-contaminated mining site soil. **Journal of Environmental Management**, v. 151, p. 160–166, mar. 2015.

BASHAN, Y.; DE-BASHAN, L. E. How the Plant Growth-Promoting Bacterium *Azospirillum* Promotes Plant Growth—A Critical Assessment. Em: **Advances in Agronomy**. [s.l.] Elsevier, 2010. v. 108p. 77–136.

BATTISTUS, A. G. Modulações anatômicas, bioquímicas e fotossintéticas mediadas por *Azospirillum brasilense* inoculado via semente e pulverização foliar em milho. 22 fev. 2019.

BOECHAT, C. L. **Biorremediação de solos contaminados por metais pesados em áreas de beneficiamento de minério de ouro**. Tese (Doutorado em Agronomia)—Porto Alegre: Universidade Federal do Rio Grande do Sul, 2014.

BOGHDADY, M.; ALI, A. S. Comparison between effect of *Azospirillum brasilense* and *Anabaena oryzae* on growth, yield and anatomical characters of wheat plants. **Journal of Applied Sciences Research**. v. 9, p. 627–637, 1 jan. 2013.

BULEGON, L. G. *et al.* **Componentes de produção e produtividade da cultura da soja submetida à inoculação de *Bradyrhizobium* E *Azospirillum***. Disponível em: <https://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0187-

57792016000200169>.

BUSH, M.; SETHI, V.; SABLowski, R. A Phloem-Expressed PECTATE LYASE-LIKE Gene Promotes Cambium and Xylem Development. **Frontiers in Plant Science**, v. 13, p. 888201, 26 abr. 2022.

CHAVEZ APARE, C. L. Tratamiento de las aguas contaminadas por Cadmio y Plomo utilizando microorganismos (*Bacillus* sp y *Pseudomonas* sp) en un biorreactor, Río Chili Arequipa – 2019. **Repositorio Institucional - UCV**, 2019.

CHEN, H. *et al.* Living near major roads and the incidence of dementia, Parkinson's disease, and multiple sclerosis: a population-based cohort study. **The Lancet**, v. 389, n. 10070, p. 718–726, 18 fev. 2017.

CHIARINI, L. *et al.* Inoculation of *Burkholderia cepacia*, *Pseudomonas fluorescens* and *Enterobacter* sp. on *Sorghum bicolor*: Root colonization and plant growth promotion of dual strain inocula. **Soil Biology and Biochemistry**, v. 30, n. 1, p. 81–87, jan. 1998.

COLIN, V. L. *et al.* Production of bioemulsifiers by *Amycolatopsis tucumanensis* DSM 45259 and their potential application in remediation technologies for soils contaminated with hexavalent chromium. **Journal of Hazardous Materials**, v. 261, p. 577–583, 15 out. 2013.

COLLIN, S. *et al.* Bioaccumulation of lead (Pb) and its effects in plants: A review. **Journal of Hazardous Materials Letters**, v. 3, p. 100064, 1 nov. 2022.

CONSELHO NACIONAL DO MEIO AMBIENTE (CONAMA). Resolução CONAMA nº 420 de 28/12/2009 - Federal - LegisWeb. Sponsors: _:n15072. 2009.

COTRIM, M. F.; ALVAREZ, R. C. F.; SERON, A. C. C. QUALIDADE FISIOLÓGICA DE SEMENTES DE TRIGO EM RESPOSTA A APLICAÇÃO DE AZOSPIRILLUM BRASILENSE E ÁCIDO HÚMICO. **Revista Brasileira de Engenharia de Biosistemas**, v. 10, n. 4, p. 349–357, 27 dez. 2016.

DABIR, A. *et al.* Cadmium and lead removal by new bacterial isolates from coal and aluminum mines. **International Journal of Environmental Science and Technology**, v. 16, n. 12, p. 8297–8304, 1 dez. 2019.

DE, J.; RAMAIAH, N.; VARDANYAN, L. Detoxification of Toxic Heavy Metals by Marine Bacteria Highly Resistant to Mercury. **Marine Biotechnology**, v. 10, n. 4, p. 471–477, 1 jul. 2008.

DE SIQUEIRA, K. A. *et al.* Draft Genome Sequences of *Pseudomonas* sp. Strain 382 and *Pantoea coffeiphila* 342, Endophytic Bacteria Isolated from Brazilian Guarana [*Paullinia cupana* (Mart.) Ducke]. **Genome Announcements**, v. 6, n. 16, p. 10.1128/genomea.00287-18, 19 abr. 2018.

DOMENICO, P. Effect of *Azospirillum brasilense* on garlic (*Allium sativum* L.) cultivation. **World Journal of Advanced Research and Reviews**, v. 2, n. 3, p. 008–013, 2019.

DOMINGOS, R. N. **Acúmulo de cádmio por *Saccharomyces cerevisiae* fermentando mosto de melão**. text—[s.l.] Universidade de São Paulo, 18 fev. 1997.

DUARTE, C. F. D. *et al.* **Inoculation of plant growth-promoting bacteria in *Urochloa Ruziziensis***. *Res Soc Dev* 9: e630985978. , 2020.

EGENDORF, S. P. *et al.* The limits of lead (Pb) phytoextraction and possibilities of phytostabilization in contaminated soil: a critical review. **International Journal of Phytoremediation**, v. 22, n. 9, p. 916–930, 28 jul. 2020.

EL-AFRY, M. M. *et al.* Anatomical studies on drought-stressed wheat plants (*Triticum aestivum* L.) treated with some bacterial strains. *Acta Biologica Szegediensis*. v. 56, n. 2, p. 165–174, 2012.

FELIX, H. R.; KAYSER, A.; SCHULIN, R. **Phytoremediation field trials in the years 1993-1998**. . Em: 5° INTERNATIONAL CONFERENCE ON THE BIOGEOCHEMISTRY OF TRACE ELEMENTS,. Vienna - Austria, 1999.

FERREIRA, D. F. SISVAR: A COMPUTER ANALYSIS SYSTEM TO FIXED EFFECTS SPLIT PLOT TYPE DESIGNS. **Brazilian Journal of Biometrics**, v. 37, n. 4, p. 529–535, 20 dez. 2019.

FERREIRA, J. DE P.; VIDAL, M. S.; BALDANI, J. I. Método para detecção e quantificação da atividade de ACC de aminase em bactérias diazotróficas promotoras de crescimento vegetal. **EMBRAPA**, jun. 2020.

FERROL, N.; TAMAYO, E.; VARGAS, P. The heavy metal paradox in arbuscular mycorrhizas: from mechanisms to biotechnological applications. **Journal of Experimental Botany**, v. 67, n. 22, p. 6253–6265, 1 dez. 2016.

FLORES-AGUILAR, L. *et al.* Evolution of neuroinflammation across the lifespan of individuals with Down syndrome. **Brain**, v. 143, n. 12, p. 3653–3671, 18 nov. 2020.

FLORIDA ROFNER, N. *et al.* Efecto de compost y NPK sobre los niveles de microorganismos y cadmio en suelo y almendra de cacao. **Revista de Investigaciones Altoandinas**, v. 21, n. 4, p. 264–273, out. 2019.

FOYER, C. H.; LELANDIS, M.; KUNERT, K. J. Photooxidative stress in plants. **Physiologia Plantarum**, v. 92, n. 4, p. 696–717, dez. 1994.

GASONI, L. AURA *et al.* Yield response of lettuce and potato to bacterial and fungal inoculants under field conditions in Córdoba (Argentina). **Zeitschrift für Pflanzenkrankheiten und Pflanzenschutz**, v. 108, p. 530–535, 1 set. 2001.

GLADKOV, E. A. *et al.* Plant–Microbe Interactions under the Action of Heavy Metals and under the Conditions of Flooding. **Diversity**, v. 15, n. 2, p. 175, fev. 2023.

GLICK, B. R. Bacteria with ACC deaminase can promote plant growth and help to feed the world. **Microbiological Research**, v. 169, n. 1, p. 30–39, 20 jan. 2014.

GONÇALVES JR, A. *et al.* Phytoremediation capacity, growth and physiological

responses of *Crambe abyssinica* Hochst on soil contaminated with Cd and Pb. **Journal of Environmental Management**, v. 262, p. 110342, 1 maio 2020.

GONG, X.; TIAN, D. Q. Study on the effect mechanism of Arbuscular Mycorrhiza on the absorption of heavy metal elements in soil by plants. **IOP Conference Series: Earth and Environmental Science**, v. 267, n. 5, p. 052064, 1 maio 2019.

GORDON, E. M.; MCCANDLESS, E. L. Ultrastructure and Histochemistry of *Chondrus crispus* Stack. *Proceedings of Nova Scotia Institute Science*. v. 27, p. 111–133, 1973.

GREGER, M. **Phytoremediation - Does it work?** . Em: 7TH INTERNATIONAL CONFERENCE ON THE BIOGEOCHEMISTRY OF TRACE ELEMENTS. Uppsala-Sweden, 2003.

GUIMARÃES, G. S. *et al.* Inoculation with Plant Growth-Promoting Bacteria Improves the Sustainability of Tropical Pastures with *Megathyrsus maximus*. **Agronomy**, v. 13, n. 3, p. 734, 28 fev. 2023.

GUIMARÃES, V. F.; KLEIN, J.; KLEIN, D. K. Promoção de crescimento e solubilização de fosfato na cultura da soja: coinoculação de sementes com *Bradyrhizobium japonicum* e *Pseudomonas fluorescens*. **Research, Society and Development**, v. 10, n. 11, p. e366101120078, 3 set. 2021.

GUPTA, P.; DIWAN, B. Bacterial Exopolysaccharide mediated heavy metal removal: A Review on biosynthesis, mechanism and remediation strategies. **Biotechnology Reports**, v. 13, p. 58–71, 1 mar. 2017.

HALLER, H.; JONSSON, A. Growing food in polluted soils: A review of risks and opportunities associated with combined phytoremediation and food production (CPFP). **Chemosphere**, v. 254, p. 126826, 1 set. 2020.

HEIDARI, P.; PANICO, A. Sorption Mechanism and Optimization Study for the Bioremediation of Pb(II) and Cd(II) Contamination by Two Novel Isolated Strains Q3 and Q5 of *Bacillus* sp. **International Journal of Environmental Research and Public Health**, v. 17, n. 11, p. 4059, jan. 2020.

HOU, D. *et al.* Metal contamination and bioremediation of agricultural soils for food safety and sustainability. **Nature Reviews Earth & Environment**, v. 1, n. 7, p. 366–381, 23 jun. 2020.

HUANG, H. *et al.* Biosorption characteristics of a highly Mn(II)-resistant *Ralstonia pickettii* strain isolated from Mn ore. **PLoS ONE**, v. 13, n. 8, p. e0203285, 31 ago. 2018.

HUANG, X.-D. *et al.* A multi-process phytoremediation system for decontamination of persistent total petroleum hydrocarbons (TPHs) from soils. **Microchemical Journal**, 2004 American Microchemical Society Awardee. v. 81, n. 1, p. 139–147, 1 ago. 2005.

HUNGRIA, M. Inoculação com *Azospirillum brasilense*: inovação em rendimento a baixo custo. **Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária**, 2011.

HUNGRIA, M.; NOGUEIRA, M. A. Inoculação Multifuncional para Pastagens com Braquiárias. **Embrapa Soja**, 2021.

JAROSŁAWIECKA, A.; PIOTROWSKA-SEGET, Z. Lead resistance in micro-organisms. **Microbiology (Reading, England)**, v. 160, n. Pt 1, p. 12–25, jan. 2014.

KABATA-PENDIAS, A.; PENDIAS, H. **Trace elements in soils and plants**. 3rd ed. Boca Raton, Fla: CRC Press, 2001.

KALITA, D.; JOSHI, S. R. Study on bioremediation of Lead by exopolysaccharide producing metallophilic bacterium isolated from extreme habitat. **Biotechnology Reports**, v. 16, p. 48–57, 1 dez. 2017.

KARGAPOLOVA, K. *et al.* Effectiveness of inoculation of in vitro-grown potato microplants with rhizosphere bacteria of the genus *Azospirillum*. **Plant Cell Tissue and Organ Culture**, v. 141, p. 351–359, 1 maio 2020.

KAZI, N. *et al.* The response of wheat genotypes to inoculation with *Azospirillum brasilense* in the field. **Field Crops Research**, v. 196, 1 jul. 2016.

KHAN, N. A.; JHUNG, S. H. Adsorptive removal and separation of chemicals with metal-organic frameworks: Contribution of π -complexation. **Journal of Hazardous Materials**, v. 325, p. 198–213, 5 mar. 2017.

KUSHWAHA, A. *et al.* A critical review on speciation, mobilization and toxicity of lead in soil-microbe-plant system and bioremediation strategies. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 147, p. 1035–1045, 1 jan. 2018.

LI, C. *et al.* A Review on Heavy Metals Contamination in Soil: Effects, Sources, and Remediation Techniques. **Soil and Sediment Contamination: An International Journal**, v. 28, n. 4, p. 380–394, 19 maio 2019.

LI, W.-W.; YU, H.-Q. Insight into the roles of microbial extracellular polymer substances in metal biosorption. **Bioresource Technology**, Special Issue on Biosorption. v. 160, p. 15–23, 1 maio 2014.

LI, X. *et al.* Bioremediation of lead contaminated soil with *Rhodobacter sphaeroides*. **Chemosphere**, v. 156, p. 228–235, 1 ago. 2016.

MA, Y. *et al.* Phytoextraction of heavy metal polluted soils using *Sedum plumbizincicola* inoculated with metal mobilizing *Phyllobacterium myrsinacearum* RC6b. **Chemosphere**, v. 93, n. 7, p. 1386–1392, out. 2013.

MALAVOLTA, E.; VITTI, G. C.; OLIVEIRA, S. A. **Avaliação do estado nutricional das plantas: princípios e aplicações**. 2. ed. Piracicaba: Associação Brasileira para Pesquisa da Potassa e do Fosfato, 1997.

MARCIANO MARRA, L. *et al.* Biological nitrogen fixation and phosphate solubilization by bacteria isolated from tropical soils. **Plant and Soil**, v. 357, n. 1, p. 289–307, 1 ago. 2012.

MILLER, C. D. *et al.* Copper and cadmium: responses in *Pseudomonas putida*

KT2440. **Letters in Applied Microbiology**, v. 49, n. 6, p. 775–783, dez. 2009.

MISHRA, J.; SINGH, R.; ARORA, N. K. Alleviation of Heavy Metal Stress in Plants and Remediation of Soil by Rhizosphere Microorganisms. **Frontiers in Microbiology**, v. 8, p. 1706, 6 set. 2017.

NAIK, M. M.; DUBEY, S. K. Lead resistant bacteria: Lead resistance mechanisms, their applications in lead bioremediation and biomonitoring. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 98, p. 1–7, 1 dez. 2013.

NOVINSČAK, A.; JOLY, D. L.; FILION, M. Complete Genome Sequence of the Plant Growth-Promoting Rhizobacterium *Pseudomonas fluorescens* LBUM677. **Microbiology Resource Announcements**, v. 8, n. 25, p. e00438-19, 20 jun. 2019.

OJUEDERIE, O. B.; BABALOLA, O. O. Microbial and Plant-Assisted Bioremediation of Heavy Metal Polluted Environments: A Review. **International Journal of Environmental Research and Public Health**, v. 14, n. 12, p. 1504, dez. 2017.

OKON, Y.; ITZIGSOHN, R. The development of *Azospirillum* as a commercial inoculant for improving crop yields. **Biotechnology Advances**, v. 13, n. 3, p. 415–424, 1995.

OLIVEIRA, M. A. DE *et al.* Adubação fosfatada associada à inoculação com *Pseudomonas fluorescens* no desempenho agronômico do milho. **Revista de Ciências Agrárias**, v. 38, n. 1, p. 18–25, 2015.

PARVATIYAR, K. *et al.* Global Analysis of Cellular Factors and Responses Involved in *Pseudomonas aeruginosa* Resistance to Arsenite. **Journal of Bacteriology**, v. 187, n. 14, p. 4853–4864, jul. 2005.

PEREYRA, M. A. *et al.* A better water status in wheat seedlings induced by *Azospirillum* under osmotic stress is related to morphological changes in xylem vessels of the coleoptile. **Applied Soil Ecology**, v. 53, p. 94–97, fev. 2012.

PÉREZ-RODRIGUEZ, M. M. *et al.* *Pseudomonas fluorescens* and *Azospirillum* brasilense Increase Yield and Fruit Quality of Tomato Under Field Conditions. **Journal of Soil Science and Plant Nutrition**, v. 20, n. 4, p. 1614–1624, dez. 2020.

PILON-SMITS, E. Phytoremediation. **Annual Review of Plant Biology**, v. 56, n. 1, p. 15–39, 2005.

PRAMANIK, K. *et al.* Alívio dos efeitos fitotóxicos do cádmio em mudas de arroz pela cepa PGPR resistente ao cádmio *Enterobacter aerogenes* MCC 3092. **Journal of Hazardous Materials**, v. 351, p. 317–329, 5 jun. 2018.

ROMERO, A.; VEGA, D.; CORREA, O. *Azospirillum* brasilense mitigates water stress imposed by a vascular disease by increasing xylem vessel area and stem hydraulic conductivity in tomato. **Applied Soil Ecology**, p. 38–43, 10 jun. 2014.

SAHA, L. *et al.* Recent Developments in Microbe–Plant-Based Bioremediation for Tackling Heavy Metal-Polluted Soils. **Frontiers in Microbiology**, v. 12, p. 731723, 23 dez. 2021.

SHAARI, N. E. M. *et al.* Cadmium toxicity symptoms and uptake mechanism in plants: a review. **Brazilian Journal of Biology**, v. 84, p. e252143, 2024.

SHABAAN, M. *et al.* Role of plant growth promoting rhizobacteria in the alleviation of lead toxicity to *Pisum sativum* L. **International Journal of Phytoremediation**, v. 23, n. 8, p. 837–845, 3 jul. 2021.

SHARMA, N.; SINGHVI, R. Effects of Chemical Fertilizers and Pesticides on Human Health and Environment: A Review. **International Journal of Agriculture, Environment and Biotechnology**, v. 10, n. 6, p. 675, 2017.

SHARMA, P.; DUBEY, R. S. Lead toxicity in plants. **Brazilian Journal of Plant Physiology**, v. 17, p. 35–52, mar. 2005.

SILVA, F. C. DA. **Manual de análises químicas de solos, plantas e fertilizantes**. [s.l.] Brasília, DF: Embrapa Informação Tecnológica; Rio de Janeiro: Embrapa Solos, 2009., 2009.

SILVA, M. L. DE S.; VITTI, G. C.; TREVIZAM, A. R. Concentração de metais pesados em grãos de plantas cultivadas em solo com diferentes níveis de contaminação. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 42, n. 4, p. 527–535, abr. 2007.

SORCE, C. *et al.* Hormonal signals involved in the regulation of cambial activity, xylogenesis and vessel patterning in trees. **Plant Cell Reports**, v. 32, n. 6, p. 885–898, jun. 2013.

SOUZA, K. DOS S. DE. Análise de metais potencialmente tóxicos (MPT) derivados de produtos agroquímicos em comunidade agrícola de Manaus. 29 jan. 2013.

TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Fisiologia e Desenvolvimento Vegetal 6ª Edição**. Disponível em: <<https://www.editoraufv.com.br/produto/fisiologia-e-desenvolvimento-vegetal-6-edicao/1109573>>.

TIWARI, M. *et al.* Evaluation of acute toxicity levels and ethological responses under heavy metal cadmium exposure in freshwater teleost, *Channa punctata* (Bloch) Mohit Tiwari; N.S. Nagpure; D.N. Saksena; Ravindra Kumar; S.P. Singh; B. Kushwaha; W.S. Lakra, 2011, 2(1): 36-47). **International Journal of Aquatic Science**. v. 2, n. 1, 1 jan. 2011.

TORRES-TORRES, E. I. *et al.* Respuesta agronómica e incidencia de Mildiu en cultivo de nabo (*Brassica napus* L.) con la inoculación de *Azotobacter* sp y *Azospirillum brasilense*. **Ciencia y Tecnología**, v. 15, n. 2, p. 7–12, 27 dez. 2022.

UPADHAYAY, J. *et al.* Impact of Pesticide Exposure and Associated Health Effects. Em: **Pesticides in Crop Production**. [s.l.] John Wiley & Sons, Ltd, 2020. p. 69–88.

VAMERALI, T.; BANDIERA, M.; MOSCA, G. Field crops for phytoremediation of metal-contaminated land. A review. **Environmental Chemistry Letters**, v. 8, n. 1, p. 1–17, 1 mar. 2010.

VANGRONSVELD, J. *et al.* Phytoremediation of contaminated soils and

groundwater: lessons from the field. **Environmental Science and Pollution Research**, v. 16, n. 7, p. 765–794, 1 nov. 2009.

VASCONCELLOS, R. D. S. RESPOSTA INICIAL DE PLANTAS DE ARROZ (*Oryza sativa* L.) TRATADAS COM INSUMOS BIOLÓGICOS. 2022.

VIOLANTE, A. *et al.* MOBILITY AND BIOAVAILABILITY OF HEAVY METALS AND METALLOIDS IN SOIL ENVIRONMENTS. **Journal of soil science and plant nutrition**, v. 10, n. 3, p. 268–292, jul. 2010.

VOGEL, A. I. **Análise Química Quantitativa**. 5. ed. Câmara Brasileira do Livro, SP: Mestre JOURNAL, 1981.

WANG, Y. *et al.* Arbuscular mycorrhizal fungi improve the growth and performance in the seedlings of *Leymus chinensis* under alkali and drought stresses. **PeerJ**, v. 10, p. e12890, 3 fev. 2022.

WU, X. *et al.* A review of toxicity and mechanisms of individual and mixtures of heavy metals in the environment. **Environmental Science and Pollution Research**, v. 23, n. 9, p. 8244–8259, 1 maio 2016.

YAN, Y.; WANG, L.; YANG, J. The Willingness and Technology Preferences of Farmers and Their Influencing Factors for Soil Remediation. **Land**, v. 11, n. 10, p. 1821, out. 2022.

YANG, J. H.; WANG, H. Molecular Mechanisms for Vascular Development and Secondary Cell Wall Formation. **Frontiers in Plant Science**, v. 7, 22 mar. 2016.

ZHANG, F.-Q. *et al.* Effect of heavy metal stress on antioxidative enzymes and lipid peroxidation in leaves and roots of two mangrove plant seedlings (*Kandelia candel* and *Bruguiera gymnorhiza*). **Chemosphere**, v. 67, n. 1, p. 44–50, fev. 2007.

ZHAO, F.-J. *et al.* Soil Contamination in China: Current Status and Mitigation Strategies. **Environmental Science & Technology**, v. 49, n. 2, p. 750–759, 20 jan. 2015.

ZHOU, Y. *et al.* Occurrence, source and ecotoxicological risk assessment of pesticides in surface water of Wujin District (northwest of Taihu Lake), China. **Environmental Pollution (Barking, Essex: 1987)**, v. 265, n. Pt A, p. 114953, out. 2020.

4. CAPÍTULO IV: CONSIDERAÇÕES FINAIS

Os estudos realizados reforçaram a relevância e eficácia de estratégias de biorremediação aliada à fitorremediação na mitigação da contaminação por metais pesados, como chumbo e cádmio, em solos agrícolas. A utilização de *Crambe abyssinica* juntamente com a inoculação de bactérias promotoras de crescimento, tais como *Azospirillum brasilense* e *Pseudomonas fluorescens*, provou ser uma abordagem eficiente, robusta e sustentável. Estas técnicas não apenas reduziram a biodisponibilidade dos metais, mas também promoveram uma melhoria significativa na saúde e crescimento das plantas, demonstrando a viabilidade desta abordagem para práticas agrícolas sustentáveis.

Os resultados obtidos indicam que a inoculação com microrganismos específicos resulta em um aumento substancial no crescimento das plantas e na capacidade de fitoextração e acumulação de metais nas partes aéreas, facilitando a extração e potencial reciclagem dos metais. Esta capacidade de acumulação é crucial para a eficácia da fitorremediação mostrando que a biorremediação com microrganismos específicos otimiza significativamente a remoção de contaminantes do solo.

A melhoria na absorção de macronutrientes e a produção de fitohormônios pelos microrganismos inoculados são aspectos fundamentais que contribuem para o sucesso das estratégias de remediação. Estes resultados sublinham a importância de continuar a pesquisa e desenvolvimento em tecnologias que utilizem plantas e bactérias para a recuperação de solos contaminados. Estudos futuros devem explorar a interação entre diferentes espécies de plantas e microrganismos em diversas condições ambientais para estabelecer abordagens ainda mais eficazes.

Além disso, é crucial a colaboração entre cientistas, indústria e governos para implementar essas soluções de maneira eficaz, assegurando que as tecnologias de biorremediação sejam acessíveis e práticas. Isso não só ajudará a mitigar os problemas de contaminação existentes, mas também promoverá práticas de uso de terra que preservem os recursos naturais para gerações futuras, sustentando a saúde do ecossistema e a biodiversidade.

Portanto, a integração da fitorremediação com a biorremediação representa uma abordagem promissora para a recuperação de áreas degradadas por metais

pesados, oferecendo um caminho viável para a restauração ecológica e a promoção de uma agricultura mais limpa e sustentável. Esta síntese dos estudos reforça a necessidade de uma abordagem integrada que combine pesquisa acadêmica e aplicação prática para desenvolver estratégias sustentáveis de manejo ambiental e agrícola.