



UNIVERSIDADE FEDERAL DO SUL E SUDESTE DO PARÁ
INSTITUTO DE CIÊNCIAS EXATAS – ICE
FACULDADE DE QUÍMICA – FAQUIM
LICENCIATURA EM CIÊNCIAS NATURAIS

ALAÉCIO DIVINO PEREIRA DA SILVA ARAÚJO

**GRUPOS FUNCIONAIS DE MICROORGANISMOS DO SOLO NA RESTAURAÇÃO
DE ÁREAS DEGRADADAS APÓS MINERAÇÃO: OS SOLUBILIZADORES DE
FOSFATOS**

MARABÁ - PA

2022

ALAÉCIO DIVINO PEREIRA DA SILVA ARAÚJO

**GRUPOS FUNCIONAIS DE MICROORGANISMOS DO SOLO NA RESTAURAÇÃO
DE ÁREAS DEGRADADAS APÓS MINERAÇÃO: OS SOLUBILIZADORES DE
FOSFATOS**

Trabalho de conclusão de curso
apresentado como requisito parcial
para obtenção do título de Licenciado
em Ciências Naturais pela
Universidade Federal do Sul e Sudeste
do Pará.

Orientador: Dr. Ulisses Brigatto Albino

MARABÁ - PÁ

2022

FICHA CATALOGRÁFICA

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)
Universidade Federal do Sul e Sudeste do Pará
Biblioteca Setorial Campus do Tauarizinho

A663 g Araújo, Alaécio Divino Pereira da Silva
 Grupos funcionais de microrganismos do solo na restauração de
 áreas degradadas após mineração: os solubilizadores de fosfatos /
 Alaécio Divino Pereira da Silva Araújo. — 2022.

Orientador(a): Ulisses Brigatto Albino.

Trabalho de Conclusão de Curso (graduação) - Universidade
Federal do Sul e Sudeste do Pará, Instituto de Ciências Exatas,
Faculdade de Química, Curso de Licenciatura Plena em Ciências
Naturais, Marabá, 2022.

1. Micro-organismos do solo. 2. Solos - Análise. 3. Florestas -
Conservação. 4. Minas e recursos minerais. 5. Impacto ambiental. I.
Albino, Ulisses Brigatto, orient. II. Título.

CDD: 22. ed.: 631.4

Elaborado por Alessandra Helena da Mata Nunes – CRB-2/586

ALAÉCIO DIVINO PEREIRA DA SILVA ARAÚJO

**GRUPOS FUNCIONAIS DE MICRORGANISMOS DO SOLO NA RESTAURAÇÃO
DE ÁREAS DEGRADADAS APÓS MINERAÇÃO: OS SOLUBILIZADORES DE
FOSFATOS**

Trabalho de conclusão de curso
apresentado como requisito parcial
para obtenção do título de Licenciado
em Ciências Naturais pela
Universidade Federal do Sul e Sudeste
do Pará.

Orientador: Dr. Ulisses Brigatto Albino

Data de aprovação: Marabá (PA), 03 de Fevereiro de 2022.

Banca Examinadora:

Prof. Dr. Ulisses Brigatto Albino
Orientador

Profa. Dra. Sheila Maysa da Cunha Gordo
Examinador Interno

Prof. Dr. Claudio Emidio Silva
Examinador Interno

Prof. Dr. Clesianu Rodrigues de Lima
Examinador Suplente

DEDICATÓRIA

Dedico esse trabalho ao meu pai Nascimento Pereira e a minha mãe Dioniza Araújo, pela boa educação que me deram e por sempre me apoiarem em todas as minhas decisões.

AGRADECIMENTOS

Em primeiro lugar, agradeço a Deus , por tudo que me proporcionou, pela vida , pela capacidade de elaborar esse trabalho, por ter me dado força e resiliência ao longo desses quase cinco anos de estudos .

Agradeço imensamente ao meu orientador Dr. Ulisses Brigatto Albino, pelas palavras de incentivo , pelos momentos de aprendizagem , pelos momentos de reflexões ,de lições ,por ser um excelente educador e por fazer parte da minha formação.Te agradeço por sempre ter acreditado em mim, por ser essa pessoa maravilhosa, inteligente e altruísta. Muito obrigado, muito obrigado!!!!

Quero agradecer aos meus/minhas amigos(as) que tive o privilégio de conhecer nessa jornada acadêmica, em especial a: Antônia Soares, Aline Moraes, Ismayanne Moreira, Glaube Fonseca e Uanderson Leal , muito obrigado pelo apoio , pela amizade e por fazer parte dessa jornada de ensino e aprendizagem de quase cinco anos.

Agradeço também à minha amiga de laboratório e que vou levar pelo resto da minha vida, esse agradecimento é a você Carol Resplandes, obrigado pelos momentos divertidos e de aprendizagem que vivemos e tivemos juntos e por sempre me ajudar com atividades laboratoriais .

Devo também os meus sinceros agradecimentos à Universidade Federal do Sul e Sudeste do Pará , por ter me dado a oportunidade de realizar um sonho.

Agradeço a minha família pelas palavras de conforto, de apoio e por sempre acreditarem na minha capacidade de alcançar os meus objetivos.

Agradeço à equipe docente da UNIFESSPA que contribuiu para a minha formação!

Fica a minha imensa gratidão ao Professor Clesianu Lima. Muito obrigado por me capacitar, me instruir, e por ser um excelente profissional e por contribuir significativamente para a minha formação.

Agradeço também ao professor Cláudio Emídio.

E meus honrosos agradecimentos a Professora Sheila Maysa, obrigado por contribuir para minha formação, seus ensinamentos foram de suma relevância para mim. A sua forma de ensinar é libertadora. Muito obrigado por fazer parte desse meu processo de formação.

“Meus estudos científicos têm me proporcionado grande satisfação e eu estou convencido que não demorará muito para que o mundo inteiro reconheça os resultados de meu trabalho..”

(GREGOR MENDEL)

RESUMO

A atividade minerária tornou-se um importante fator de melhoramento da qualidade de vida da população, principalmente da região norte do Brasil, por gerar novos postos de trabalho e contribuir significativamente para dinamizar a economia nacional e regional. No entanto, há consequências resultantes do processo de extração de recursos minerais, pois para minerar em uma determinada área, é preciso suprimir uma grande extensão de florestas, provocando desse modo, danos estruturais irreversíveis, na flora, fauna e na microbiota que compõem o local e gerando portanto, grandes impactos ambientais. Em contrapartida, uma mineradora localizada no município de Paragominas no estado do Pará, tem adotado três diferentes técnicas de restauração florestal para amenizar e reduzir significativamente os impactos ambientais provenientes da mineração de Bauxita. Após a aplicação dessas técnicas de restauração, a empresa buscou saber qual método apresentou maior eficiência em termo de recuperação. Para isso, microrganismos do solo e suas atividades biogeoquímicas foram utilizados para realizar uma análise comparativa entre áreas. E para efetivar essa comparação, foi necessário que o grupo de pesquisa do BRC realizasse coletas de solo em períodos sazonais distintos nas três áreas de restauração: Nucleação, Regeneração e Plantio de Mudas. E então, as amostras de solo coletadas foram processadas em laboratório, passando por diferentes etapas metodológicas (diluição do solo, inoculação ou plaqueamento, contagem da diversidade e quantidades das unidades formadoras de colônias UFCs por mL de solo, isolamento e teste de Gram). Os dados obtidos das análises comparativas das áreas, permitiu alcançar os seguintes resultados: No período seco, a maior diversidade microbiana de solubilizadores de fosfato, foi encontrada em: Regeneração Natural Recente e Nucleação Antiga, já em termos de quantidades ou abundância desse grupo funcional, a área de mais destaque por mostrar-se um desenvolvimento significativo no período seco foi: Regeneração Natural Recente. No período chuvoso a diversidade microbiana manteve-se igual em todas áreas analisadas. Já a maior abundância de microrganismos encontrada nessa sazonalidade e portanto, nas respectivas áreas estudadas e analisadas as que mais se destacaram nesse cenário comparativo em termo de quantidade microbiana foram: Plantio Recente e Regeneração Natural Antiga.

Palavras-chaves: Microbiota. Solo. Restauração Ambiental.

ABSTRACT

Mining activity has become an important factor in improving the quality of life of the population, mainly in the northern region of Brazil, as it generates new jobs and significantly contributes to boosting the national and regional economy. However, there are consequences resulting from the process of extracting mineral resources, because in order to mine in a certain area, it is necessary to remove a large extension of forests, thus causing irreversible structural damage to the flora, fauna and microbiota that make up the place. and therefore generating major environmental impacts. On the other hand, a mining company located in the municipality of Paragominas in the state of Pará, has adopted three different forest restoration techniques to significantly mitigate and reduce the environmental impacts arising from bauxite mining. After applying these restoration techniques, the company sought to find out which method showed the greatest efficiency in terms of recovery. For this, soil microorganisms and their biogeochemical activities were used to perform a comparative analysis between areas. And to effect this comparison, it was necessary for the BRC research group to carry out soil collections in different seasonal periods in the three restoration areas: Nucleation, Regeneration and Seedling Planting. Then, the collected soil samples were processed in the laboratory, passing through different methodological steps (soil dilution, inoculation or plating, diversity count and amounts of CFU colony forming units per mL of soil, isolation and Gram test). The data obtained from the comparative analysis of the áreas, allowed the following results to be achieved: In the dry period, the greatest microbial diversity of phosphate solubilizers was found in: Recent Natural Regeneration and Ancient Nucleation, in terms of quantities or abundance of this functional group, the The most prominent area for showing a significant development in the dry period was: Recent Natural Regeneration. In the rainy season, the microbial diversity remained the same in all analyzed areas. The greater abundance of microorganisms found in this seasonality and therefore, in the respective areas studied and analyzed, the ones that stood out in this comparative scenario in terms of microbial quantity were: Recent Planting and Ancient Natural Regeneration.

Keywords: Microbiota.Soil.Environmental Restoration.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1- Mina de Bauxita em Paragominas Pará.....	28
Figura 2- Amostra de solo coletada na área de Plantio Recente.....	30
Figura 3- Área de restauração Plantio Recente.....	30
Figura 4- Área de supressão	31
Figura 5- Área de restauração Florestal: Nucleação Recente	31
Figura 6- Representação esquemática do processo de diluição do solo.....	31
Figura 7- Microrganismos solubilizadores de fosfato oriundos do isolamento em meio de cultura rico.....	34
Figura 8- Placas de Petri contendo bactérias solubilizadoras de fosfato em atividade enzimática	34
Figura 9- Representação esquemática das etapas de coloração de Gram	35
Figura 10- Visualização de células bacterianas do tipo morfológico: Bacilos Gram-positivos.....	36
Figura 11- Visualização de células bacterianas do tipo morfológico : Bacilos Gram-negativos.....	36
Figura 12- Realização da técnica de coloração de Gram.....	36
Figura 13- Visualização de células bacterianas do tipo morfológico : Cocos Gram-negativos.....	36
Figura 14- Representação gráfica da abundância de microrganismos solubilizadores de fosfato no período seco.....	38
Figura 15- Comparação das áreas pela técnica da análise de variância , utilizando o Software PAST.....	39
Figura 16- Representação gráfica da abundância de microrganismos solubilizadores de fosfato no período chuvoso.....	40
Figura 17- Análise estatística feita através do software PAST.....	41
Figura 18- Representação gráfica da diversidade de microrganismos solubilizadores de fosfato no período chuvoso.....	42
Figura 19- Representação gráfica da diversidade de microrganismos solubilizadores de fosfato no período seco.....	42

Figura 20- Representação gráfica da análise comparativa da diversidade de microrganismos solubilizadores de fosfato no período seco e chuvoso.....	43
Figura 21- Representação gráfica da análise comparativa da abundância de microrganismos solubilizadores de fosfato no período seco e chuvoso.....	44

SUMÁRIO

RESUMO

ABSTRACT

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

1. INTRODUÇÃO.....	13
1.1. Objetivos.....	15
2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	16
2.1 Ciências Naturais e a educação ambiental.....	16
2.2 Microrganismos como ferramentas para o monitoramento ambiental.....	17
2.3 A importância do fósforo para as plantas.....	17
2.4 Bactérias solubilizadoras de fosfato.....	19
2.5 Os microrganismos do solo	20
2.6 Mineração de bauxita.....	21
2.7 Fungos micorrízicos arbusculares.....	24
2.8 A degradação do Solo.....	25
2.9 As técnicas de restauração florestal.....	26
3. METODOLOGIAS.....	28
3.1 Aspectos gerais da área de pesquisa e da mina de Bauxita.....	28
3.2 Requisitos e documentação necessária para ter acesso a área da mineradora.....	29
3.3 Coletas de amostras de solo e materiais utilizados.....	29

3.4. Diluição das amostras de solo em laboratório.....	31
3.5 Análise quantitativa da diversidade e quantidades das unidades formadoras de colônias por ml de solo.....	32
3.6 Isolamento dos microrganismos solubilizadores de fosfato	33
3.7 Coloração de Gram.....	34
4. RESULTADOS E DICUSSÕES	37
5. CONCLUSÃO.....	45
6.REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	47

1. INTRODUÇÃO

Uma mineradora norueguesa, que atua em 40 países, possui mais de 140 unidades atuantes espalhadas pelo mundo, emprega atualmente cerca de 34 mil pessoas, e é reconhecida por ser uma empresa de mineração multinacional. E por isso pretende expandir ainda mais seus negócios, em função disso, passou a operar no município de Paragominas, no estado do Pará, uma de suas unidades que é responsável pela extração de bauxita (matéria prima do alumínio).

A exploração de minérios se tornou uma atividade imprescindível à região norte do Brasil, tanto por aspectos econômicos quanto por aspectos sociais. Porém, em termos ambientais, a devastação de florestas e a alteração do solo e água além da deposição de rejeitos é algo extremamente agressivo. Por isso, a mineradora vem utilizando três diferentes técnicas para revegetar as áreas após a mineração de bauxita, que são: Plantio de Mudanças, Regeneração Natural e Nucleação.

Embora a atividade minerária tenha se tornado fundamental para o Brasil, sobretudo na região norte, por gerar riquezas, empregos e contribuir para o desenvolvimento socioeconômico local. Porém, toda atividade antrópica deixa marcas. As marcas negativas da mineração são as áreas desmatadas e com o solo desestruturado, que no caso da bauxita, são muito grandes os impactos gerados.

No entanto, a empresa mineradora localizada em Paragominas busca remediar esse passivo por questões legais e por visar a maior qualidade em suas operações, selos internacionais e também funcionar 100% dentro da legislação ambiental. Já investiu muito em três métodos de restauração (Plantio de Mudanças, Regeneração Natural e Nucleação) e quer saber se valeu a pena o investimento. Por isso, em 2013 a empresa abriu suas portas para universidades (UFPA, UFRA, Universidade Federal de Oslo e centros de pesquisa (Museu Paraense Emilio Goeldi) e propôs parcerias para estudar as áreas em recuperação e para receber propostas de novas técnicas. A partir daí surgiu assim, um consórcio chamado BRC.

O consórcio BRC, abreviação de Biodiversity Research Consortium Brazil-Norway ou em português: Consórcio de Pesquisas em Biodiversidade Brasil-Noruega, tem como objetivos centrais: 1) Desenvolver atividades de pesquisas, como por exemplo, O monitoramento de biodiversidade em áreas de mineração e arredores; 2) estudar e desenvolver métodos de restauração de florestas tropicais, incluindo restauração da biodiversidade e dos solos florestais; 3) fortalecer parcerias entre

empresa e universidades e; 4) integrar estudantes nas pesquisas e promover o Intercâmbio internacional.

Foi dentro do BRC, que foi proposto esse projeto, devido as bolsas estudantis que eram disponibilizadas e que subsidiavam as pesquisas. Em outras palavras, esse projeto surgiu a partir da proposta de fazer a comparação das áreas utilizando a técnica dos Grupos Funcionais de Microrganismos do solo: Os solubilizadores de fosfato.

Portanto, o problema de pesquisa desse trabalho é definir qual método de restauração florestal é o mais eficiente. Para isso, microrganismos do solo foram utilizados como bioindicadores de qualidade, pois a qualidade do solo pode ser observada por meio de atividades e diversidades de microrganismos presentes. Esses microrganismos desempenham papéis fundamentais no que tange à sustentabilidade dos esquemas de produção e por manterem funções cruciais à saúde do solo (NOGUEIRA; HUNGRIA, 2013).

Os microrganismos presentes no solo são responsáveis por realizar diversas atividades cruciais e vitais para o meio ambiente, pois eles têm a capacidade de degradar substâncias consideradas complexas e que desta maneira, são fundamentais para melhorar a fertilidade do solo. É através do estabelecimento de relações simbióticas entre bactérias, fungos e raízes que ocorre a formação das micorrizas e a solubilização do fosfato e nesse processo simbiótico, as plantas são beneficiadas, pois o fosfato é solubilizado e torna-se disponível (SOUCHIE *et al.*, 2007; SILVA *et al.*, 2011).

1.1. OBJETIVOS

Objetivo Geral

- Comparar áreas em restauração ambiental após a mineração de bauxita com base na dinâmica dos microrganismos do solo.

Objetivos específicos

- Conhecer o processo de extração de bauxita na íntegra;
- Coletar solo em áreas de restauração ambiental após mineração de bauxita em diferentes épocas do ano
- Analisar a quantidade e diversidade de microrganismos em amostras de solo colhidas em áreas já em processo de restauração.
- Comparar a quantidade e a diversidade de microrganismos de amostras entre si e com as áreas de florestas não perturbada.

2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 Ciências Naturais e a educação ambiental

A Educação ambiental pode ser entendida como um processo contínuo, onde os indivíduos que compõem a sociedade e que tendo adquirido a consciência e o conhecimento dos problemas ambientais, excogitam individualmente ou coletivamente a solução dos problemas ambientais contemporâneos e subsequentes (DIAS, 1992). Portanto, a educação ambiental tem como objetivo alcançar toda a população, partindo da premissa de que todo cidadão deve ter conhecimento a respeito dessa temática, para assim poder atuar na busca por soluções dos atuais problemas ambientais (MARCATTO, 2002).

E por isso, o curso de Licenciatura em Ciências Naturais, da Unifesspa, em marabá, tem como objetivo formar cidadãos e profissionais altruístas, ou seja, que pensa no “outro”, e que se preocupam com os problemas socioambientais existentes na sociedade. Esses profissionais devem atuar buscando melhorias para a população, analisando alternativas que viabilizem um retorno positivo para a sociedade. O profissional formado em ciências, se preocupa com os problemas ambientais e usa de seus conhecimentos técnicos, científicos e experiências para buscar soluções para tais problemas e além disso, o professor de ciências deve ser o norteador das crianças e adolescentes no processo de ensino e de aprendizagem, fazendo com que esses adolescentes, crianças e jovens tenham conhecimento a respeito dos problemas e impactos ambientais existentes, as suas consequências, suas causas e origens e também fazer com que esses alunos reflitam sobre esse tema e repasse essas informações adquiridas na escola para mais pessoas (Projeto Pedagógico Do Curso De Licenciatura Em Ciências Naturais - PPC, 2010).

2.2 Microrganismos como ferramentas para monitoramento ambiental

Entende-se como monitoramento ambiental o conjunto de medidas e ou observações de alguns parâmetros que ocorrem de maneira regular no meio ambiente. O monitoramento ambiental surge da necessidade de avaliar e ou controlar a qualidade de um meio, como por exemplo: Avaliar a qualidade do solo, da água ou até mesmo a qualidade do ar. E para isso, torna-se imprescindível o uso de ferramentas para executar essa análise de qualidade. Para obter resultados eficazes e irrefutáveis quanto ao controle ou a avaliação de qualidade do meio (água, ar e solo) é necessário o emprego de estratégias de amostragens e o uso de técnicas analíticas que possibilite o alcance de tais resultados (POZZA; SANTOS, 2015)

Os microrganismos do solo podem ser utilizados como ferramentas de monitoramento ambiental ou como fator determinante da qualidade do solo, isso deve ao fato de ocuparem a base da cadeia trófica e pela razão de estarem inerentemente envolvidos em processos de cunho ecológicos. E para fazer a análise da qualidade de um solo é necessário partir da premissa de identificação de padrões que indiquem a preservação e ou a deterioração no seu estado. (ZILLI *et al.*, 2003).

A saúde ou a qualidade do solo pode ser entendida atualmente através do equilíbrio existente entre os condicionantes geológicos, hidrológicos, químicos, físicos e biológicos (BRUGGEN, SEMENOV, 2000; SPOSITO, ZABEL, 2003). O termo 'qualidade do solo', que muitas vezes é substituído por 'saúde do solo', está relacionado a habilidade do solo em fornecer aportes necessários à produção biológica dentro do limites dos ecossistemas, e como resultado tem-se a manutenção do equilíbrio ambiental e a promoção da saúde de plantas, animais e do homem (DORAN *et al.*, 1996; SPOSITO, ZABEL, 2003).

Nos últimos anos, tem -se especulado a respeito da utilização da diversidade microbiana como indicadora de qualidade do solo, principalmente após a chegada da biologia molecular que veio pra revolucionar e favorecer a análise de microrganismos contidos em amostras ambientais (COUTINHO *et al.*, 1999; ROSADO, 2000; TIEDJE *et al.*; 2001).

2.3 A importância do fósforo para os seres vivos

O fósforo (P) é um elemento químico ametal, que faz parte do grupo do nitrogênio e pode ser encontrado na natureza como fosfato. A palavra fósforo tem sua origem do grego, onde “*Phos*” quer dizer luz e “*phoros*” significa portador. O fósforo é

considerado um macronutriente essencial para os seres vivos, por ser responsável pela realização de várias funções fundamentais, tanto em plantas como também em animais (PANTANO *et al.*, 2016).

No solo, o fósforo pode ser classificado em dois grandes grupos, orgânico e inorgânico, e ou ainda pode se encaixar na definição como lábil e não lábil. A diferença existente entre esses dois grupos, está relacionado a natureza dos compostos ao qual ele está ligado. Desta forma, torna-se difícil a identificação das formas de fósforo, devido a ocorrência de grandes variedades de processos reacionais e de seus compostos (SANTOS; GATIBONI; KAMINSKY, 2008; GATIBONI, 2003).

Para obter-se o fósforo, é necessário realizar um processo de extração em rochas fosfáticas, também chamadas de fosforites e essas fontes utilizadas para a obtenção do fósforo são finitas. Até 2050, é esperado que a demanda por fósforo seja duas vezes maior e como consequência, é previsto que nos próximos 100 anos haverá o esgotamento mundial das jazidas de rochas fosfáticas (PAGANINI, QUEVEDO 2010).

De acordo com Aduan, Vilela e Reis (2004, p.18)

A disponibilidade do elemento fósforo (P) controla muitos aspectos do funcionamento dos ecossistemas em escala local e a química global. O fósforo em tecidos vivos, é um componente essencial da molécula de DNA, ATP e de todos os fosfolipídios de membrana. Assim, o fósforo é condição indispensável para a presença e a manutenção da vida em qualquer ecossistema.

O fósforo é um nutriente mineral e é um dos requisitos fundamentais para que haja saúde, desenvolvimento e crescimento dos animais. Tem participação crucial nas funções bioquímicas e fisiológicas das células. E atua também nos processos de formação e construção das estruturas ósseas dos animais e ainda opera na manutenção do esqueleto animal, servindo como suporte para os músculos e órgãos (GONZÁLEZ; SILVA, 2006).

Já no que diz respeito ao mundo vegetal, o fósforo está totalmente envolvido no desenvolvimento, crescimento e nos processos metabólicos das plantas, pois atua na transmissão de energia da célula e desempenha um papel crucial no processo de respiração e fotossíntese das plantas. Desse modo, o fósforo é um mineral crucial para o desenvolvimento dos vegetais (STAUFFER; SULEWSKI, 2004; TAIZ; ZEIGER, 2013).

Para que ocorra a absorção do fósforo pelas plantas, é necessário que esse nutriente estabeleça uma conexão com o sistema radicular. Após esse contato, as

plantas absorvem ativamente o fósforo, havendo assim, o consumo de energia, por meio da difusão, porque o conteúdo do fósforo nas raízes é muito maior do que o conteúdo de fósforo no solo (PAULILO; VIANA; RANDI, 2015,).

A água é um fator indispensável para a disponibilidade de fósforo para as plantas. Porque se não há água, não haverá também o processo de difusão e isso impossibilitará a absorção do fósforo pelas plantas. Quando as plantas são cultivadas em solos ou substratos com pouco ou nenhum fósforo, é fácil observar a necessidade da planta de encontrar o fósforo, pois ela emitirá raízes secundárias para abranger uma área maior na rizosfera para assim, poder ter a maior alcance de nutrientes (minerais) e água (VERZUTTI, 2021).

Portanto, através das literaturas aqui já revisadas, é possível concluir que o fósforo é um macronutriente de extrema relevância e utilidade para todos os seres vivos, pois desempenha funções essenciais; dentre essas funções destaca-se: funções bioquímicas e fisiológicas. Sendo assim, um recurso natural com fontes finitas. Portanto, o uso desenfreado e irresponsável desse elemento vital pode deflagrar futuramente no esgotamento total das jazidas de rochas fosfáticas.

2.4 Bactérias solubilizadoras de fosfato

Existe na microbiota do solo, bactérias com potencial de solubilização de fosfatos e como consequência a disponibilização do fosfato para as plantas é feita por meio de dois mecanismos reacionais: primeiro é a solubilização do fosfato inorgânico e o segundo é a mineralização de fosfato orgânico. Elas têm essa habilidade de solubilizar o fosfato devido a sua capacidade de sintetizar ácidos orgânicos, e desta maneira tornam o fosfato acessível às plantas e por isso, esses microrganismos desempenham um papel importante na ciclagem de nutrientes e na disponibilização de fósforo na natureza (OLIVEIRA *et al.*, 2009; RICHARDSON; GOMES *et al.*, 2014; VASSILEV *et al.*, 2014; SILVA, 1998).

As bactérias dos gêneros: *Bacillus*, *Pseudomonas* e *Agrobacterium* são conhecidas por atuar na microbiota do solo solubilizando fosfato inorgânicos. Além das bactérias, há também grupos funcionais de fungos solubilizadores de fosfato, como por exemplo os dos gêneros: *Aspergillus* e *Penicillium* (SIQUEIRA *et al.*, 2004). Porém, os estudiosos e pesquisadores dão mais atenção às bactérias, devido elas terem maiores potenciais nos processos de solubilização de fosfato (BARROTI; NAHAS, 2000).

As bactérias solubilizadoras de fosfatos inorgânicos, têm capacidade de disponibilizar o fósforo complexado a Ca, Fe e Al, através da liberação de ácidos orgânicos; dentre esses ácidos liberados, pode-se destacar: Ácidos lácticos, glicólico, cítrico, málico, oxálico, succínico e tartárico (KUCEY *et al.*, 1986; MENDES; JUNIOR, 2003). Enquanto as bactérias que atuam na mineralização do fósforo, sintetizam enzimas para poder liberar fósforo orgânico, e dentre essas enzimas produzidas a que mais se destaca é a fosfatase ácida, por ser a mais frequente nesse processo de produção enzimática (INUI, 2009; RICHARDSON *et al.*, 2009; OGBO, 2010; VASSILEVA *et al.*, 2010; PAIVA *et al.*, 2018).

Os microrganismos solubilizadores de fosfato, fazem o uso de meios distintos para converter fosfato que apresenta pouca solubilidade em fosfato solúvel, por meio de processos de acidificação, quelação e reações de troca. Porém, o meio mais utilizado para esse fim, é a solubilização, através da síntese de enzimas e ácidos orgânicos (HAMEEDA *et al.*, 2008; YOUNG *et al.*, 2013; BALIAH *et al.*, 2016; ABREU *et al.*, 2017).

Foi a partir do conhecimento e estudos de grupos funcionais de microrganismos com atividades biogeoquímicas específicas, como bactérias solubilizadoras de fosfato que surgiram pesquisas para desenvolver métodos de conservação ambiental e técnicas de melhoramento dos processos agrícolas (GOLDSTEIN, 1986; GOMES *et al.*, 2014). Portanto, fazendo o uso adequadamente desses microrganismos e desenvolvendo e intensificando pesquisas, será possível obter avanços maiores, nessa área, que poderá reduzir impactos no meio ambiente e assim, minimizar ou até mesmo substituir o uso de fertilizantes fosfatados.

2.5 Os microrganismos do solo

Os microrganismos são seres vivos muito pequenos, e que só podem ser visualizados individualmente, mediante o uso do microscópio. E esses seres podem crescer, reproduzir e se desenvolver rapidamente. São exemplos de grupos principais de microrganismos: Bactérias, fungos, arqueas, algas, protozoários e vírus, embora este último não apresente estrutura celular e só é considerado como ser vivo, quando está parasitando outro ser (VERMELHO, *et al.*, 2006).

Esses seres diminutos podem viver, reproduzir e desenvolver-se nos mais variados tipos de ambientes, dentre essa diversidade de ambientes, destaca-se a água, o solo, o ar e até mesmo o nosso corpo. Porém, o principal habitat dos

microrganismos é o solo, que é o local onde eles podem ser encontrados em maiores quantidades e diversidades, devido ao solo ser um ambiente que, de modo geral, propicia um bom desenvolvimento e uma taxa de crescimento maior desses seres (NICOLAU, 2016).

Os microrganismos que compõem a microbiota do solo são responsáveis por realizar atividades e funções fundamentais, dentre essas atividades destaca-se a decomposição de resíduos orgânicos, ciclagem de nutrientes e atuação no fluxo de energia do solo. Estão envolvidos também, tanto na transformação da matéria orgânica, quanto na estocagem de carbono e nutrientes minerais (JENKINSON; LADD, 1981).

No entanto, só a apreciação da quantidade de biomassa não é suficiente para revelar os níveis de atividade da população de microrganismos do solo, desta forma, torna-se relevante avaliar modelos que visem a estimar a atividade microbiana, como por exemplo: A respiração microbiana e atividade enzimática, para deste modo, poder analisar o estado metabólico das comunidades de microrganismos do solo (BOWLES *et. al.*, 2014).

Os microrganismos são conhecidos por causarem uma série de doenças e infecções, podendo inclusive levar o indivíduo a morte, além de contaminar a água e prejudicar plantações. Porém, por mais que exista esses pontos negativos com relação a esses seres, vale ressaltar que eles podem ser utilizados em benefício da humanidade, pois têm aplicabilidade nas mais variadas áreas. Como por exemplo: na indústria farmacêutica para fabricação de remédio, como é o caso do fungo da espécie *Penicillium notatum*, o qual produz o antibiótico penicilina; além do mais, algumas espécies desempenham um papel importante para produção de iogurte queijos, pães, bolos, vinhos e cervejas (VERMELHO; *et al.*, 2006).

2.6 Mineração de bauxita

A bauxita é um recurso natural e considerada a principal fonte natural de alumínio. Foi descoberta em 1821, pelo geólogo Pierre Berthier, na cidade de Les Baux, na França. Por isso, recebeu a designação de bauxita, em referência ao nome da cidade francesa. A bauxita possui uma cor avermelhada e ocupa a terceira posição no ranking de elementos mais abundantes encontrados na litosfera (Associação Brasileira do Alumínio – Abal, 2017).

Sobre a mineração é válido sintetizar que:

A mineração é uma das atividades produtivas mais antigas da história humana. A extração e beneficiamento de minerais que se encontram em estado natural no meio ambiente possibilitaram uma enorme variedade de produtos, que fazem parte da vida moderna e refletem o desenvolvimento da sociedade. Apesar da definição simples, a mineração é uma atividade complexa, que envolve volumosos investimentos, planejamento de longo prazo, acesso a recursos naturais, além da interação e diálogo com um amplo espectro de stakeholders, desde acionistas e investidores, passando por órgãos reguladores às comunidades que vivem no entorno das localidades em que a atividade mineradora ocorre. (ABAL, 2017, pág.6).

O processo para extrair a bauxita, segue em etapas: Supressão vegetal - nessa etapa ocorre a supressão vegetal do local que será minerado. Mas antes disso é feita a catalogação de todas as espécies de plantas que compõem a flora local, pois após o processo de mineração essas espécies endêmicas serão utilizadas para revegetar a área minerada. Na segunda etapa ocorre a remoção dos horizontes A e B do solo, também conhecidos como *topsoil*. A remoção desses horizontes pode abranger uma espessura média de 11,4 m, porém passível de sofrer variações entre 2,1 a 16,5 m acima da camada da bauxita. O processo de extração de bauxita é realizado pelo método conhecido como *strip mining* (mineração em tiras ou faixas). Já na terceira e última etapa o minério já extraído é transportado para a área de beneficiamento inicial (WORLD ALUMINIUM, 2018).

Após a exploração do minério, ocorre processo de reconformação do relevo local alterado. A reconformação dá-se por meio da distribuição e nivelção do estéril, e em seguida é feito o espalhamento do *topsoil* sobre a camada do estéril já nivelada e distribuída adequadamente. Feito isso, é dado início ao processo de recuperação vegetal das áreas suprimidas no processo de extração, para que dessa forma, o ambiente degradado possa ser restabelecido do melhor modo possível ao seu estado natural inicial (WORLD ALUMINIUM, 2018).

A produção mineral brasileira de alumínio alcançou no ano de 2006, cerca de 22 milhões de toneladas, colocando o Brasil em segundo lugar mundialmente, representando, portanto, 12,4% da produção global. Sendo ultrapassado apenas pela Austrália, que no mesmo ano ocupou o topo da produção mundial de alumínio. Já em termos percentuais, a Austrália foi responsável por representar 34,5% da produção mundial de alumínio em 2006 (SAMPAIO; ANDRADE; DUTRA, 2008).

O Brasil tem uma grande representatividade no ranking mundial de produção e reservas de minérios. Uma parte expressiva do PIB nacional (Produto Interno Bruto) é oriunda da extração de recursos minerais. Só no ano de 2017, a produção mineral

do Brasil alcançou a casa dos 55 bilhões de dólares. Entre os minérios explorados, a bauxita é que mais se destaca, pois no ano de 2016, foram extraídas cerca de 32,45 milhões de toneladas (Departamento Nacional de Produção Mineral -DNPM, 2017), representando dessa forma, mais de 80% da produção nacional (Instituto Brasileiro De Mineração – IBRAM, 2015).

A região norte do Brasil concentra grande parte dos pontos de exploração mineral de bauxita e possui grandes reservas em atividades minerárias. No estado do Pará destaca-se os municípios de Oriximiná, Paragominas e Juruti, por possuir reservas, pontos de exploração mineral e grandes projetos de exploração. Devido a essas instalações de empresas mineradoras nesses municípios, nos últimos anos, foi possível constatar um crescimento econômico relativamente maior, quando comparado aos anos anteriores, e foi notório a geração de novos postos de trabalhos, contribuindo dessa forma, para o crescimento e desenvolvimento socioeconômico local (MOURA *et al.*, 2008; TRINDADE, 2011; WANDERLEY, 2012).

Uns dos aspectos importantes e positivos resultante do processo de mineração é a geração de novos postos de trabalho, o alavancamento da economia local e o melhoramento do modo vida das pessoas, porém o meio ambiente sofre algumas consequências disso, pois, para minerar uma área é necessário a remoção da cobertura, e a retirada de algumas espécies de animais do local e muitas vezes comunidades de pessoas perdem o seu lar em consequência da mineração.

Além disso, muitas das vezes, ocorre desses empreendimentos minerários atuarem com irregularidades não respeitando, portanto, as legislações ambientais e não dando a devida importância à promoção de projetos, pesquisas e outras ações mitigadoras que visem a restauração florestal e ambiental das áreas mineradas, para assim, poder reduzir impactos ambientais. E quando alguns desses empreendimentos minerários agem dessa forma, as consequências dessa atitude negligente pode resultar em sérios problemas para o meio ambiente e para a população que reside as proximidades, que sofre danos terríveis, pois os riscos de um desastre ambiental aumenta, se tornando iminente, e quando acontece, desencadeia uma série de prejuízos ambientais e sociais, como aconteceu em Minas Gerais com o rompimento da barragem da Samarco, em Mariana, e da Vale em Brumadinho, deixando muitas vítimas fatais, e por fim, o solo, ecossistemas e a própria população sofreram danos irreversíveis (SILVA, 2001; SANCHES; MECCHI, 2010; CHRISTOFOLETTI *et al.*, 2012; WANDERLEY, 2019).

2.7 Fungos micorrízicos arbusculares

Os fungos micorrízicos arbusculares (FMA) são microrganismos do solo de suma importância, sendo responsáveis por compor uma grande parte da biomassa microbiana dos solos cultivados e podem ser definidos como associações mutualísticas entre raízes de plantas e fungos (SCHUBLER *et al.*, 2001). Estima-se que 80% das plantas estabelecem associações simbióticas com estes fungos que são notoriamente importantes agentes de melhora da qualidade do solo e do desempenho de culturas (JEFFRIES *et al.*, 2003).

As micorrizas ou também comumente chamadas de fungos micorrízicos arbusculares se divide em dois grandes grupos conforme as características anatômicas e morfológicas das raízes nas quais estão estabelecidas a relação simbiótica. Portanto, esses dois grupos são: endomicorriza e ectomicorrizas (MOREIRA; SIQUEIRA, 2006).

As plantas são as mais beneficiadas nesse processo simbiótico, a começar pelo estímulo ao crescimento e desenvolvimento que se tem quando estão associadas a fungos micorrízicos. Isso se deve ao fato de os fungos propiciar um maior alcance de recursos minerais e nutricionais que são extremamente necessários para as plantas. Dentre os nutrientes que os fungos disponibilizam às plantas durante esse processo simbiótico, destaca-se principalmente o fósforo, o potássio e o nitrogênio que são fundamentais para o desenvolvimento vegetal (COSTA; LOVATO, 2004).

Entretanto, as plantas não são as únicas beneficiadas nessa relação simbiótica, pois os fungos micorrízicos arbusculares são considerados organismos simbiontes obrigatórios, portanto para viver, reproduzir e multiplicar-se, eles fazem o uso de suplementos vitais que são disponibilizados pela planta durante esse processo mutualístico e simbiótico (MOREIRA; SIQUEIRA, 2002; ROSENDAHL *et al.*, 1997; SANDERS, 2002).

Contudo, pode-se concluir que os fungos micorrízicos arbusculares são de extrema utilidade para a natureza e conseqüentemente para a humanidade, pois desempenham funções de suma relevância no meio ambiente. Dentre as funcionalidades que esses microrganismos exercem, destaca-se: a manutenção dos ecossistemas naturais e manejados; atuação no desenvolvimento e crescimento vegetal; cooperação para a estruturação de comunidades vegetais; recuperação de solos poluídos, e; restauração de áreas degradadas (BERUDE *et al.*, 2015).

2.8 A degradação do solo

A degradação do solo pode ser entendida como um processo de deterioração que este sofre, podendo ser resultado da ação da própria natureza ou por ação antrópica. Um solo que sofreu a degradação perde a sua capacidade de produtividade agrícola. Além disso, um solo degradado pode trazer uma série de problemas ambientais, pois está pobre em nutrientes e estruturalmente frágil pelo fato da redução da matéria orgânica e da permeabilidade (AIRES, 2021).

Nos dias atuais, o debate sobre a degradação do solo tem se repercutido a nível mundial. Isso se deve ao fato da preocupação existente por parte da população em geral quanto a essa temática de suma importância. E, com o aumento populacional se intensificando nos últimos anos e como consequência disso o consumo de recursos naturais, e os problemas com relação ao solo tem se agravado. Portanto, a exploração de recursos naturais tem se constituído em grandes proporções devido a grande demanda populacional que precisa desses recursos para sobreviver. Porém, o consumo acelerado, exorbitante e desenfreado desses recursos pode acarretar futuramente em consequências catastróficas, pois boa parte desses recursos são finitos e a outra parte é de difícil recuperação ou muito demorada, como por exemplo o solo que pode sofrer contaminações e degradações pelo mal manejo e pelo uso excessivo (ALVES *et al.* 2015).

A degradação do solo é responsável por provocar uma série de prejuízos tanto de cunho financeiro como também ambiental, pois as áreas degradadas perdem a capacidade de manutenção da vida vegetal e como consequência disso fica em risco tanto para a segurança alimentar da humanidade como também para a capacidade de sustentar o bioma natural. A degradação provoca uma drástica redução nas áreas destinadas à agricultura e ao cultivo, além disso a capacidade de regeneração natural dessas áreas degradadas é comprometida e reduzida (United Nations Convention To Combat Desertification And Drought -UNCCD, 1994).

Segundo os dados divulgados em 2011 pela FAO (Organização das Nações Unidas para Alimentação e a Agricultura) 25% de todos os solos existentes no nosso planeta encontram-se degradados. E além do mais, cerca de 1,6 milhões de hectares dos solos considerados os melhores e os mais promissores para o cultivo já se encontram em uso. Também é válido destacar que anualmente muitas toneladas da camada produtiva e cultivável sejam desperdiçadas devido aos processos erosivos provocados por chuvas, ventos e por ações antrópicas como o desmatamento e

queimadas. No entanto, é possível buscar alternativas que viabilizem o melhor manejo do solo, como por exemplo: O desenvolvimento de técnicas de restauração e fazer o uso de forma responsável desse recurso natural para que futuramente a população não sofra em consequência do mal manejo e do uso desenfreado e irresponsável dos solos agricultáveis.

2.9 As técnicas de restauração florestal

A restauração florestal pode ser definida como um processo de caráter ecológico que visa o restabelecimento ou a recuperação de ecossistemas que outrora foram perturbados, danificados ou degradados. Portanto, a restauração florestal objetiva reposição vegetal de uma determinada área onde a floresta primária foi removida ou perturbada devido a ações antrópicas ou também por causas naturais. E ainda é válido sintetizar que a restauração ou a tentativa de restauração de uma área degradada é um processo longo e demorado. Por isso, para fazer a restauração de uma determinada área é necessário a realização de uma avaliação do histórico de vegetação endêmicas do local, para assim, poder aplicar uma técnica de restauração que viabilize um melhor reparo e o restabelecimento da cobertura vegetal da área que foi degradada. Deve-se levar em consideração que mesmo após o processo de restauração florestal, a área “restaurada” não terá a sua forma original ou o mesmo rigor inicial da floresta primária, no que diz respeito à diversidade taxonômica existente anterior a degradação, porque grande parte da biodiversidade que ali existia, não poderá ser restaurada ou restabelecida, pois é possível que algumas espécie da flora que havia no local antes da degradação, nem tinha sido catalogadas pela ciência, tornando desta forma impossível a reposição e restauração dessas espécies (Society For Ecological Restoration-SER, 2004; MARTINS, 2014).

Existem algumas técnicas de restauração florestal que são bastantes usadas para revegetar áreas que sofreram degradação ou supressão, principalmente após a mineração. Dentre estas técnicas pode se destacar a Regeneração Natural, a Nucleação e o Plantio. A técnica de regeneração natural consiste em espalhar o topsoil sobre a área a ser restaurada e deixar que espécies de plantas endêmicas ou nativas nasçam naturalmente. O topsoil é a camada superficial do solo rica em matéria orgânica, sementes e material resultante do decapeamento da camada superficial do solo de uma determinada área onde ocorreu a supressão ou degradação da vegetação primária. Pode ser considerado topsoil apenas a camada do solo que tenha no máximo

40 cm de profundidade. E por fim, é válido dizer que o topsoil é o fator propiciador da regeneração natural (EMBRAPA, 2016; SALOMÃO *et al.*, 2014).

A outra técnica de restauração florestal bastante utilizada é o plantio tradicional ou também chamado de plantio de mudas. Nesse método, mudas de espécies de plantas pertencentes a flora local são plantadas propositalmente para recuperar o ambiente degradado, não havendo nesse primeiro momento a ação de dispersores e nem o uso de fontes de sementes. Esse método de restauração costuma ser bastante ágil em termos de recuperação, pois o recobrimento vegetal da área degradada costuma ser rápido. No entanto, deve-se levar em consideração as espécies arbóreas utilizadas para este fim, e torna-se portanto, necessário analisar inicialmente a área a ser restaurada e fazer o levantamento das espécies nativas do local, para assim poder implementar a técnica utilizando as chamadas plantas chaves. O plantio de mudas é a técnica de restauração florestal mais utilizada, principalmente em áreas, que foram degradadas por atividades minerárias (VALERI; SENÔ, 2004; SALOMÃO *et al.*, 2014; MARTINS 2018).

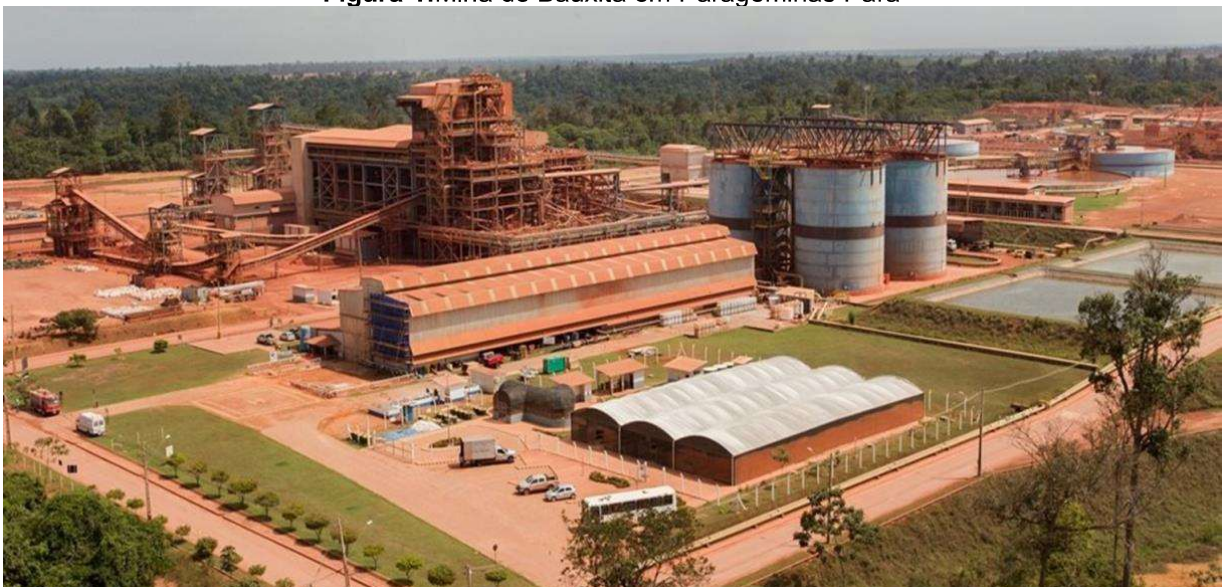
E por fim, a nucleação que é uma técnica de restauração florestal que consiste em formar pequenos núcleos com galhos, troncos, raízes e com o topsoil, todos estes elementos residuais, resultantes da supressão da vegetação. O objetivo desta técnica é atrair pequenos animais e formar inicialmente um micro-habitat, no intuito de poder restabelecer gradualmente o ecossistema com a biodiversidade próxima do que era antes. Em consequência disso tem-se a interação entre organismos das diferentes espécies da fauna e flora e a aceleração do processo de sucessão ecológica secundária, para que desta maneira, a restauração florestal do ambiente degradado possa ser efetivamente concluída. Portanto, pode-se concluir que a nucleação é a capacidade que uma determinada espécie possui de proporcionar o melhoramento das qualidades do ambiente para que outras espécies possam ter a maior chance de ocupá-lo novamente. (BECHARA, 2006; FIEDLER *et al.*, 1997; REIS *et al.*, 2003; YARRANTON; MORRISON, 1974).

3. METODOLOGIAS

3.1 Aspectos gerais da área de pesquisa e da mina de bauxita em Paragominas

Paragominas é um município brasileiro localizado na região sudeste paraense. Possui o clima do tipo quente e úmido, com temperatura média anual de 26,3 °C e umidade relativa do ar média de 81%. A pluviosidade média anual é de 1.800 milímetros. O município é caracterizado por ter um período mais chuvoso, entre os meses de dezembro a maio, e outro mais seco entre junho e novembro. O tipo de solo característico de Paragominas é latossolo amarelo distrófico, que predomina em 95% do território municipal. Já a vegetação do município é caracterizada pela predominância de três subtipos florestais e que segundo o Instituto do Homem e do Meio Ambiente da Amazônia (IMAZON, 2010), restam apenas 54,8% das florestas que recobriam Paragominas, o que corresponde a 1 milhão de hectares. Com relação aos subtipos existentes na região, destaca-se: a floresta densa submontana (correspondendo a 18,4% da área do município); a floresta densa de terra baixa (representando 34%); e a floresta densa aluvial ocupando 2,9% da área do município (Inventário da Oferta Turística de Paragominas, 2012). Observa -se na figura 1 logo abaixo a mina de Bauxita localizada no município de Paragominas-PA.

Figura 1: Mina de Bauxita em Paragominas Pará



Fonte: Nosk Hydro, 2022

A mina de bauxita está localizada no município de Paragominas, na região sudeste do estado do Pará, teve o início de suas operações no ano de 2007. O ponto onde ocorre a exploração da bauxita fica a 64 km da área urbana. Atualmente as operações estão sob o comando da empresa norueguesa NOSK HYDRO que detém todas as ações. A empresa mineradora transporta 100% de sua bauxita extraída por meio de um mineroduto com extensão de 244 km. Esse mineroduto, possui a capacidade de transportar anualmente cerca de 15 milhões de toneladas de bauxita. O mineroduto é tido como pioneiro no mundo em realizar transporte de bauxita. Por ele, a bauxita é conduzida até o município de Barcarena, onde está a refinaria de alumina da Hydro Alunorte, local onde a bauxita é refinada em alumínio e depois disto é destinada a produtores de alumínio no Brasil e em outras partes do mundo. (Associação Brasileira de Alumínio - abal; NOSK HYDRO 2022).

3.2 Requisitos e documentação necessária para ter acesso a área da mineradora

Para a equipe deste trabalho ter acesso ao local da coleta, que fica na área pertencente a mineradora, e que em função disso, teve que cumprir algumas exigências por parte da empresa, como: 1) Enviar a documentação: (RG, CPF, Carteira de vacinação em dias e uma foto usando a camisa com a identificação de pesquisador do grupo BRC), e após isso, esperar o retorno e agendar a data da coleta; 2) Fazer a aquisição de equipamentos de proteção individual para usar durante a permanência na mineradora; 3) Realizar a ambientação, que é um curso de normas de segurança e protocolos que se deve obedecer quando se estar dentro da área da empresa, para assim, poder evitar acidentes, e; 4) como último requisito por parte da empresa, foi solicitado que uma equipe da mineradora fosse acompanhar, trasladar e monitorar durante a coleta de amostras, e também dar acesso as áreas desejadas.

3.3 Coletas de amostras de solo e materiais utilizados

Para realizar a coleta foi necessário fazer o uso de ferramentas e objetos listados logo abaixo:

- Trado (Utilizado para coletar o solo, devido a sua capacidade de não comprometer e nem compactar as amostras);
- Facão (Remover possíveis empecilhos que impossibilitasse o acesso a área desejada);

- Sacos plásticos (Para armazenar as amostras);
- GPS (para marcar o ponto do local coletado);
- Caixa térmica (utilizada para acondicionar as amostras);
- Luvas (Para não contaminar as amostras com possíveis microrganismos oriundos de outros lugares);
- Colher (utilizada para pegar alíquotas de solo selecionadas e pôr nos sacos plásticos);
- Barbante (Usado para medir a distância de um ponto de coleta a outro)

Nas imagens a seguir você pode observar algumas áreas de restauração florestais onde foram coletadas amostras de solo.

Figura 2: Amostra de solo coletada na área de Plantio Recente



Fonte: Subprojeto - BRC 01/14: Fungos micorrízicos arbusculares

Figura 3: Área de restauração: Plantio Recente



Fonte: Subprojeto - BRC 01/14: Fungos micorrízicos arbusculares

A coleta de amostras de solo nas dependências da mineradora, foi realizada em dois períodos, de acordo com a sazonalidade da região que apresenta um período seco e um período chuvoso. A primeira coleta aconteceu no período seco típico do segundo semestre da região da Amazônia Oriental (setembro de 2018) e a segunda no período chuvoso (abril de 2019). Em cada período descrito acima foram coletadas amostras de 8 áreas diferentes, que apresentam os três métodos de recuperação florestal que são: Plantio (antigo e recente), Regeneração (antiga e recente) e Nucleação (antiga e recente), e foi coletado também amostras de uma área de floresta não perturbada, que foi utilizada como área controle e ainda uma última área somente desmatada, denominada de supressão. Em cada área de estudo foram traçadas nove

parcelas de 5.0 × 10.0 m, e as amostras de cada parcela foram coletadas na profundidade de 20 cm, pois é onde concentra a maior atividade microbiana, no total foram coletadas 9 amostras de solo por área. As amostras foram acondicionadas em sacos plásticos e levadas ao laboratório da Faculdade de Química da Unifesspa em Marabá-PA e mantidas a temperatura ambiente até as análises.

Nas imagens abaixo (figura 4 e figura 5) você pode visualizar algumas áreas de restauração florestal onde foram coletadas amostras de solo

Figura 4: Área de supressão



Fonte: Subprojeto - BRC 01/14: Fungos micorrízicos arbusculares

Figura 5: Área de restauração florestal: Nucleação Recente

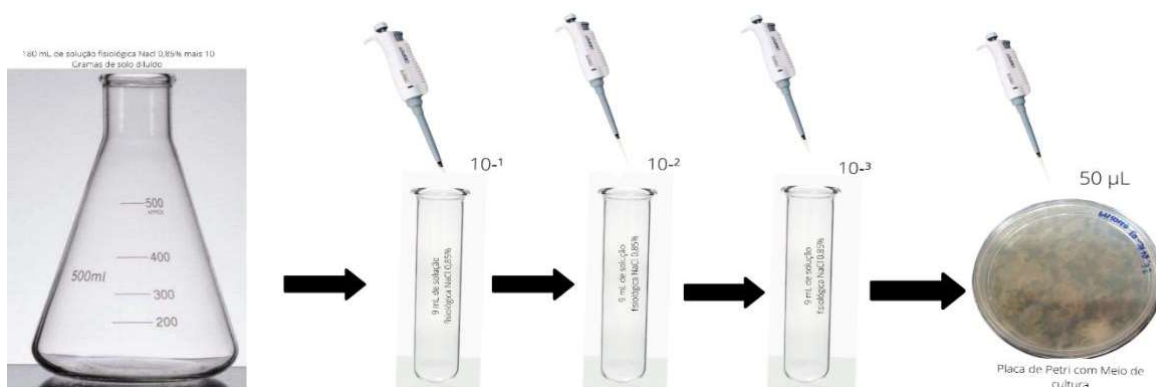


Fonte: Subprojeto - BRC 01/14: Fungos micorrízicos arbusculares

3.4 Diluição das amostras de solo em laboratório

Logo abaixo na figura 6 observa-se o processo de diluição do solo

Figura 6 :Representação esquemática do processo de diluição de solo



Fonte: Subprojeto - BRC 01/14: Fungos micorrízicos arbusculares

Nesse primeiro momento do processo de diluição do solo, foi utilizada uma adaptação da metodologia de Silva (2012) para as diluições e para análises posteriores das amostras de solo. Para dar início ao processo de diluição das amostras de solo, foi preciso autoclavar 78 erlenmeyers contendo 180 mL de solução fisiológica (NaCl 0,85%). Em seguida, na câmara de fluxo, o volume dos erlenmeyer foi completado para 190 mL com a adição das amostras de solo. Foi utilizada a micropipeta com ponteiros estéreis para retirar 1 mL de cada erlenmeyer, é relevante salientar que cada erlenmeyer estava devidamente etiquetado com o nome da área da qual foi utilizada para completar o volume de 190 ml, para assim, poder evitar confusões com posteriores dados e então, era adicionado esse 1 mL ao primeiro tubo de ensaio com 9 mL de solução fisiológica e repetia esse processo até a diluição 10^{-3} , sempre trocando a ponteira quando finalizava a diluição de uma determinada parcela, também é válido destacar que cada tubo de ensaio estava etiquetado com número da diluição e com nome da área proveniente. Em seguida, com o auxílio de uma micropipeta com ponteiros estéreis e regulada em 50 μ L era retirada dos tubos de ensaios, a quantidade de 50 μ L e inoculada em placas de Petri contendo meio de cultivo específico para Bactérias Solubilizadoras de Fosfato. Em seguida foi realizado a técnica de espalhamento do conteúdo inoculado, e para efetivar essa técnica foi feito o uso da alça de Drigalsky que foi devidamente flambada no Bico de Bunsen para evitar possíveis contaminações e só então, foi realizado procedimento de espalhamento que ocorreu de forma meticulosa para não danificar o meio de cultura que é gelatinoso e frágil; portanto, se pressioná-lo um pouco já o suficiente para desestruturá-lo e comprometê-lo. E por fim, essas placas foram fechadas com o parafilm e armazenadas na BOD¹, em temperatura favorável ao crescimento e desenvolvimento dos microrganismos.

3.5 Análise quantitativa da diversidade e quantidades das unidades formadoras de colônias por ml de solo

¹ BOD do inglês *Biochemical Oxygen Demand*, trata-se de uma estufa para incubar testes de longa duração de Demanda Bioquímica de Oxigênio (DBO). E devido a sua estabilidade e flexibilidade, este equipamento é usado nas atividades de conservação de materiais biológicos de recursos genéticos para diversas aplicações: crescimento de plantas, culturas biológicas, além de armazenamento reagentes e outras aplicações. A estufa BOD ou câmara BOD são geladeiras para laboratório que permite o controle interno de temperaturas (EMBRAPA,2020).

Após o crescimento dos microrganismos do solo nas placas de petri, foi então realizada a contagem da diversidade da quantidade das unidades formadoras de colônias por ml de solo. O método utilizado para quantificar a diversidade bacteriana consistia em analisar visualmente a morfologia das colônias nas placas de petri. A identificação da diversidade era feita levando em consideração as características visíveis como: formato, cor e textura da colônia. Identificando essas características morfológicas, era feita a quantificação e a documentação em uma planilha. Já a contagem da quantidade era feita marcando na placa de PETRI todas as colônias bacterianas visíveis, e logo em seguida era feita a contabilização de todos os pontos marcados. Todos esses dados eram inicialmente repassados para uma folha de papel e depois eram digitados em uma tabela do Excel. Os dados finais obtidos da contagem da diversidade e quantidade das unidades formadoras de colônias foram calculados da seguinte forma: o número total de colônias de bactérias solubilizadoras de fosfato foi multiplicado pelo número da diluição correspondente ao meio inoculado e pela parte de 1 mL que foi inoculada na placa. Dessa forma, como a inoculação na placa de Petri foi de 50 μ L que é a vigésima parte de 1 mL, então a multiplicação se deu por 20, e tendo em vista que a diluição para os microrganismos solubilizadores foi de 10^3 foram acrescentados 3 zeros, e com o resultado desses cálculos foi possível obter o número de unidades formadoras de colônias por mL de solo.

Esses dados quantitativos obtidos de cada amostra foram somados e divididos por 72, no qual, se refere ao número de amostras total, para então ser realizado o cálculo da média estatística, essas médias foram transformadas em gráficos para se ter uma noção visual das diferenças obtidas, testes estatísticos também foram feitos para se ter uma análise de variância. Essa análise é importante, pois através dela é possível saber se as diferenças entre áreas são reais ou é apenas um acaso. Mais uma vez é válido sintetizar que este mesmo processo foi realizado nos dois períodos em que ocorreu a coleta e a análise laboratorial, ou seja, no período seco e no período chuvoso.

3.6 Isolamento dos microrganismos solubilizadores de fosfato

O isolamento de determinado microrganismo, pode ser feito através da combinação de nutrientes e de condições físicas, química ou físico-química (PERRY; STALEY, 1997). Partindo dessa premissa, foi utilizada uma técnica de isolamento adaptada que consiste em selecionar uma determinada colônia de bactéria que

apresente características morfológicas diferentes das outras colônias existentes na placa. Em seguida marcar o local onde será pego parte do teor bacteriano. Posteriormente esterilizar a alça de platina e pegar cuidadosamente parte da colônia selecionada e inocular em outra placa de Petri estéril e com meio de cultivo rico, ressaltando que todos esses processos e procedimentos devem ser realizados dentro da capela de fluxo laminar, com o fluxo e o bico de Bunsen ligado, todos esses protocolos devem ser seguidos para evitar indesejáveis contaminações. Nas figuras abaixo é possível observar placas de Petri contendo microrganismos solubilizadores de fosfato (bactérias) se desenvolvendo em meio de cultura rico, figura 7 e em atividade enzimática em meio de cultura seletivo, figura 8.

Figura 7: Microrganismos solubilizadores de fosfato oriundos do isolamento em meio de cultura rico



Fonte: Subprojeto - BRC 01/14: Fungos micorrízicos arbusculares

Figura 8: Placas de Petri contendo bactérias solubilizadoras em atividade enzimática



Fonte: Subprojeto - BRC 01/14: Fungos micorrízicos arbusculares

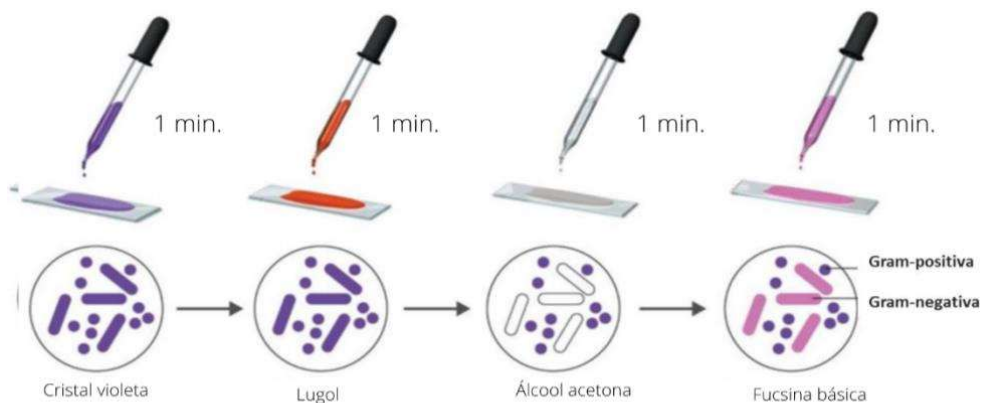
Os microrganismos obtidos do isolamento foram inoculados novamente ao meio de cultivo seletivo, para testar se estes eram realmente solubilizadores de fosfato. E então, os microrganismos resultantes deste último teste, foram submetidos a coloração de Gram e por fim, armazenados em glicerol a 20°C para posteriores análises e testes em plantas.

3.7 Coloração de Gram

Os microrganismos obtidos do isolamento foram submetidos a técnica coloração de Gram, objetivando a análise morfológica desse grupo funcional. A coloração de Gram é um procedimento que possibilita que as bactérias retenham a cor com base nas diferenças nas propriedades químicas e físicas da parede celular.

O uso dos corantes permite aumentar o contraste e evidenciar a estrutura bacteriana. O objetivo principal dessa técnica é analisar estruturalmente a forma, arranjo e a cor das células bacterianas e em seguida classificar conforme suas características morfológicas (cocos, bacilos, espirilo, vibrião). As bactérias do tipo Gram-positivas ao fim do processo devem apresentar uma coloração roxa, enquanto as bactérias Gram-negativas deverão apresentar uma coloração rosa (FREITAS; PICOLI, 2007; KASVI, 2019). Para realizar esse método com as bactérias provenientes do isolamento, foram utilizadas lâminas estéreis e essas estavam marcadas com o nome da área de origem das bactérias que foram analisadas. O procedimento realizado ocorreu da seguinte forma: Uma gota de água era adicionada nas lâminas, e logo em seguida era utilizada uma ponteira estéril para adicionar uma pequena quantidade de bactéria sobre a gota adicionada em cada lâmina. Depois disto, fazendo uso de ponteiros, era então feito o esfregaço nas lâminas, destacando que para cada lâmina era utilizada uma ponteira diferente e estéril para não contaminar as lâminas com microrganismos de diferente áreas e locais. Seguidamente, o esfregaço existente em cada lâmina foi coberto com gotas de cristal violeta e deixado por aproximadamente 1 minuto. Em seguida foi adicionada água destilada sobre as lâminas e retirado o excesso. As lâminas foram cobertas com lugol por mais 1 minuto e foram novamente lavadas com água para retirar o excesso. Posteriormente foram adicionadas gotas de álcool acetona e as lâminas foram lavadas novamente. E por fim, foram adicionadas gotas de fucsina básica por mais um minuto, deixou-se escorrer o excesso, e as lâminas foram lavadas com água destilada. Deixou-se as lâminas secar ao ar livre e elas foram então analisadas no microscópio. Logo abaixo é possível visualizar um esquema ilustrando o processo e as etapas de coloração de Gram.

Figura 9: Representação esquemática das etapas de coloração de Gram.

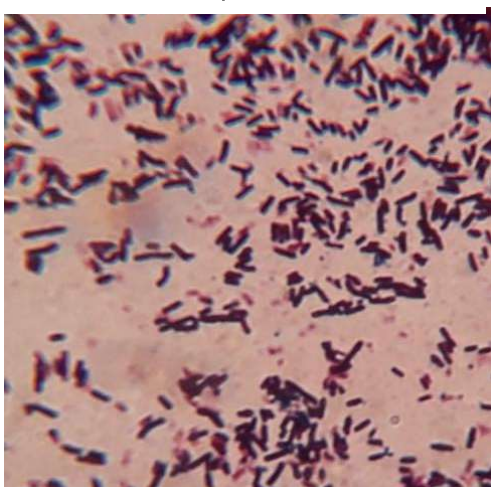


Fonte: Kasvi 2019; adaptado por Alaécio Araújo, 2022.

A técnica de coloração de Gram empregada nesse trabalho, permitiu-nos a visualização de células bacterianas e de sua classificação, como Gram-positivas e Gram-negativas. E além do mais, tornou possível a classificação dos tipos morfológicos (cocos, bacilos, espirilo, vibrião) existente em cada lâmina analisada no microscópio ótico.

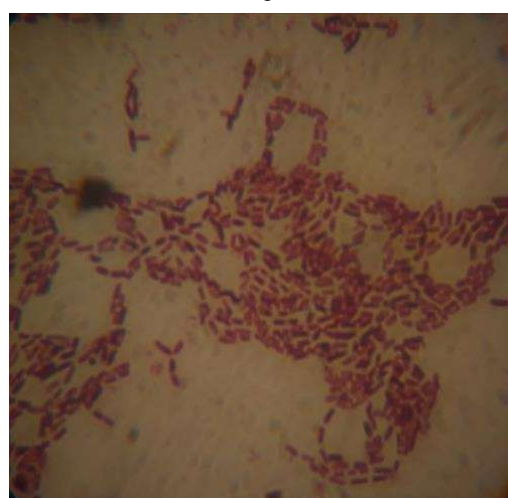
As imagens de algumas lâminas analisadas e etapas do processo de coloração de Gram podem ser observadas, logo abaixo.

Figura 10: Visualização de células bacterianas do tipo morfológico: Bacilos Gram-positivos



Fonte: Subprojeto - BRC 01/14: Fungos micorrízicos arbusculares

Figura 11: Visualização de células bacterianas do tipo morfológico: Bacilos Gram-negativos



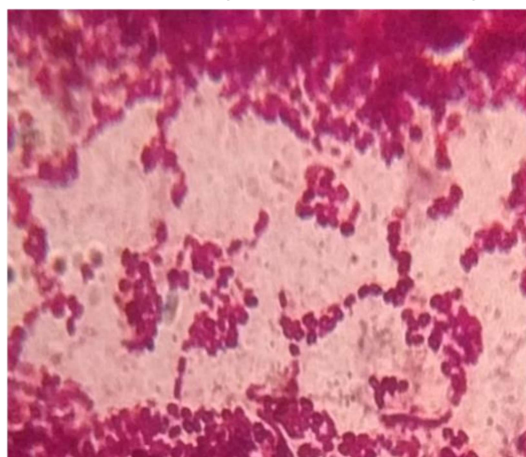
Fonte: Subprojeto - BRC 01/14: Fungos micorrízicos arbusculares

Figura 12: Realização da técnica de coloração de Gram



Fonte: Subprojeto - BRC 01/14: Fungos micorrízicos arbusculares

Figura 13: Visualização de células bacterianas do tipo morfológico: Cocos Gram-negativos



Fonte: Subprojeto - BRC 01/14: Fungos micorrízicos arbusculares

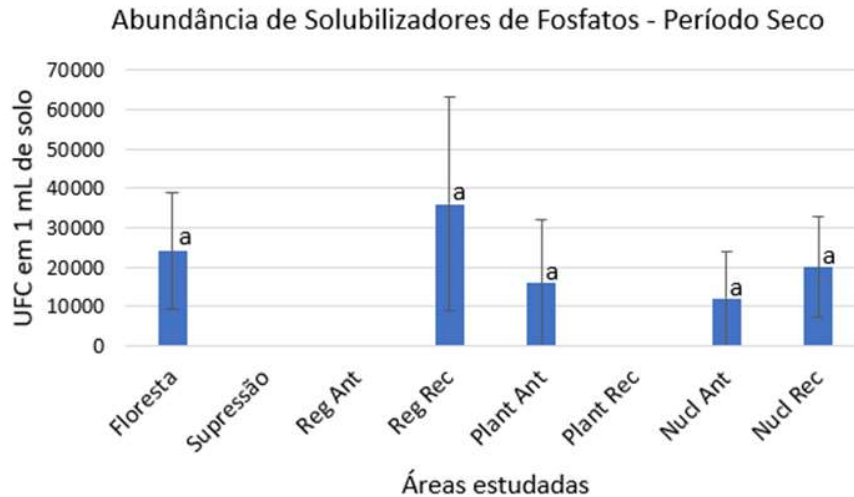
4. RESULTADOS E DISCUSSÕES

Conforme descrito na metodologia, de cada amostra de solo foram retirados 10 mL. Foi adotado neste trabalho as medidas em volume porque a equipe considerou com base em outros estudos que no ambiente em recuperação o solo compreende pequenos fragmentos de vegetais, pedras, bolhas de ar, agregados, pequenos animais que porventura venham junto na amostra. Caso o material fosse peneirado, estaria se saindo muito mais da normalidade de um ambiente, considerando que o fato de se colher uma amostra, embalar em saco plástico, transportar e tratar já tira totalmente o material de suas condições reais no campo que se pretende estudar e traçar hipóteses sobre ele. Nas placas de Petri que receberam as porções de solução diluída de solo, após dez dias em incubação, foram contadas as colônias que apresentavam halo translúcido ao redor, proveniente da produção de ácidos orgânicos que dissolvem os cristais de fosfato que dão o tom opaco ao meio de cultivo SF². Cada colônia crescida na placa foi multiplicada por 20 porque somente 50 microlitros de solução foram inoculados nas placas e esse valor obtido foi multiplicado por 1000 porque foram inoculados os tubos de ensaio da terceira diluição. Assim por exemplo: 5 colônias que estavam em 50 microlitros de solução X 20 = 100 UFC (Unidades formadoras de colônias) se tivéssemos colocado 1 mL na placa X 1000 porque eram do terceiro tubo de ensaio de diluições decimais = 100.000 de UFC em 1 mL de solo.

Observando o gráfico da figura 14 é perceptível que no período seco as áreas que mais se assemelham com floresta em termo de quantidade microbiana (microrganismos abundantes por mL de solo) são: Regeneração Recente e Nucleação Recente, por apresentar uma quantidade significativa de microrganismos solubilizadores de fosfato, chegando a ultrapassar a área controle (floresta). Já no gráfico da figura.16 que representa os números de microrganismo no período chuvoso, nota-se que as áreas que mais se assemelham com a área controle em termo de quantidade microbiana são: Plantio Recente e Regeneração Natural Recente.

² O meio de cultura para microrganismos solubilizadores de fosfato é um meio específico e seletivo para esse grupo funcional com habilidades de solubilização de fosfato, pois a sua composição possui nutrientes e componentes que propiciam o crescimento e o desenvolvimento especificamente desse grupo funcional e inibe que outros diferentes grupos se desenvolvam (KASVI, 2018).

Figura 14: Representação gráfica da abundância de microrganismos solubilizadores de fosfato no período seco.

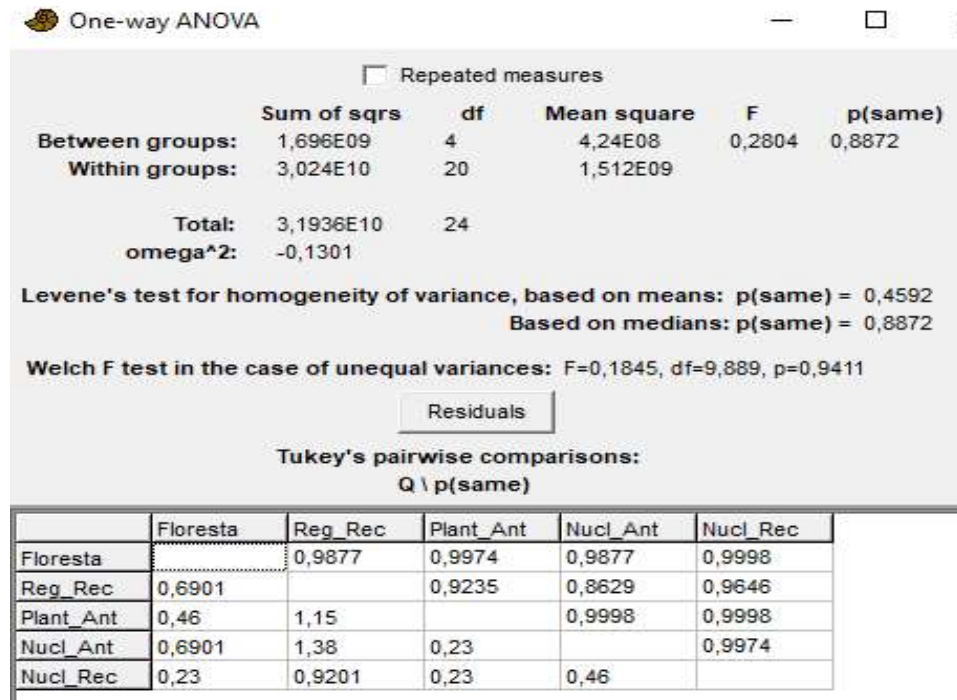


Fonte: Subprojeto - BRC 01/14: Fungos micorrízicos arbusculares.

O ambiente com maior número de bactérias solubilizadoras de fosfatos por mL de solo no período seco foi a Regeneração Natural Recente figura 14. Apesar das áreas em estudo neste trabalho ser as áreas onde foi extraído bauxita a alguns anos, para se entender a dinâmica dos microrganismos no solo precisamos fazer algumas comparações e, como num exame de sangue, nossas referências foram, uma área de floresta próximo das áreas em estudo e uma área onde ainda não se explorou a bauxita mas já foi removida a floresta, chamada pelas equipes da empresa mineradora de “área de supressão vegetal” e aqui no trabalho, somente “supressão”.

Aplicado um teste estatístico aos números de bactérias solubilizadoras de fosfatos por mL de solo em cada área, utilizando o software gratuito PAST, foi possível se comparar as áreas pela técnica da “Análise de variância” figura 15, este procedimento estatístico leva em consideração vários fatores mas, principalmente a distância que cada número tem da média em uma amostra e culmina por permitir se a diferença entre a média de uma amostra é “significativa”, ou seja, real, em relação a outra amostra, ou somente obra do acaso:

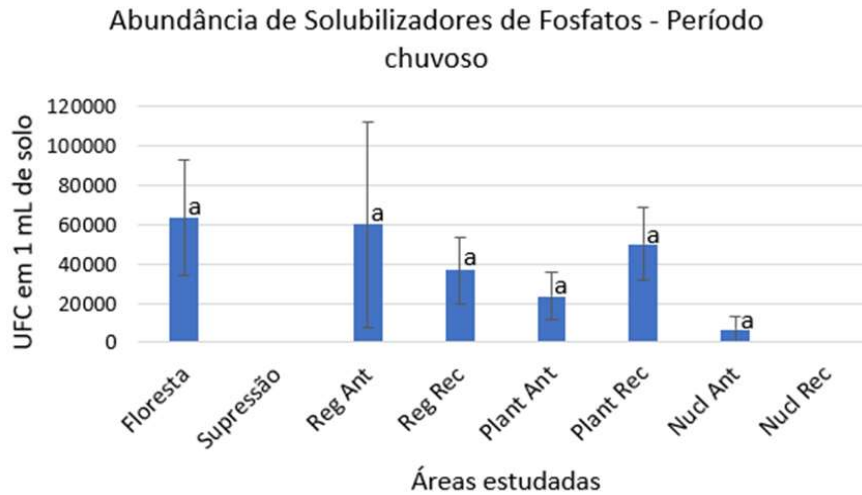
Figura 15: Comparação das áreas pela técnica da Análise de variância utilizando o software PAST



Fonte: Subprojeto - BRC 01/14: Fungos micorrízicos arbusculares

No software PAST, quando duas amostras são significativamente diferentes, elas aparecem em cor de rosa no quadro de análises, em trabalhos científicos estas diferenças costumam ser demonstradas nos gráficos ou tabelas que trazem os valores por letras. Neste caso, apesar de na área de Regeneração Natural Recente ter sido observado os maiores números de Solubilizadores de Fosfatos por mL de solo, esta área não difere significativamente da Floresta, nem do Plantio antigo, nem da Nucleação Antiga ou Recente (todos tiveram letra **a**). Algumas áreas não entraram na análise estatística porque não apresentaram microrganismos solubilizadores de fosfatos, tendo abundância zero.

Figura 16: Representação gráfica da abundância de microrganismos solubilizadores de fosfato no período chuvoso.

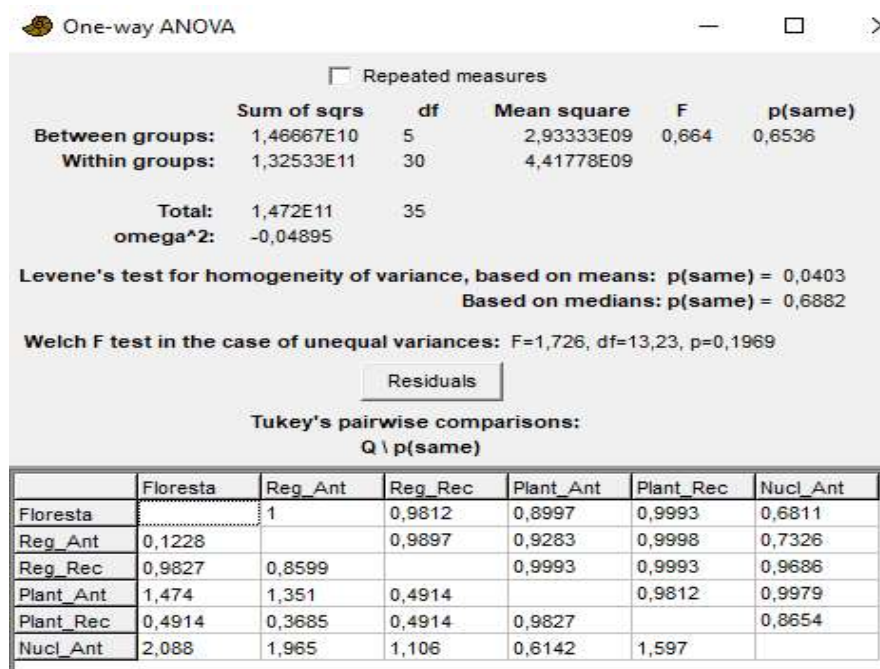


Fonte: Subprojeto - BRC 01/14: Fungos micorrízicos arbusculares.

A floresta, que no período seco tinha uma média de 24 mil UFC (Unidades Formadoras de Colônias) de microrganismos Solubilizadoras de Fosfatos por mL de solo, agora, assim como a área de Regeneração Natural Recente, subiu essa média para 63 mil. Apesar de ser a área com maior abundância, a Floresta continua não diferindo significativamente das demais áreas onde foram detectados microrganismos Solubilizadores de Fosfatos, na Análise de Variância todos estão na mesma classe e recebem, simbolicamente as mesmas letras classificatórias, isso ocorre porque a variação do número de microrganismos de uma amostra pra outra é muito grande, essa variação pode ser conferida pela proporção das barras de Erro Padrão apresentadas nos gráficos que reportam a abundância de microrganismos

Em uma mesma área pode se ter uma amostra com muitos microrganismos por mL e outra bem próxima com nenhum ou muito poucos. Fato este que se reflete na análise estatística. Todas as áreas estudadas receberam em suas médias a letra “a”, expressa pelas diferenças não significativas entre estas médias reveladas pela análise de variância do software PAST.

Figura 17: análise estatística feita através do software PAST

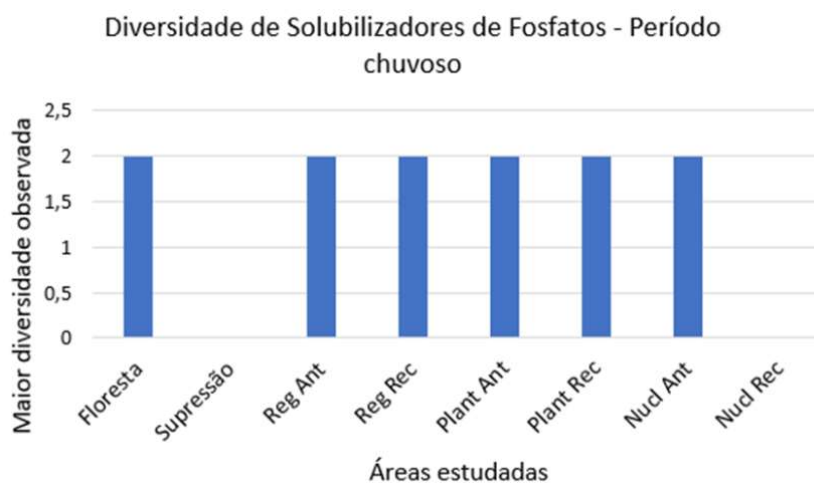


Fonte: Software PAST, adaptado por Alaécio Araújo, 2022

Fazendo uma leitura interpretativa do gráfico da Figura 18, que apresenta a diversidade microbiana de microrganismos solubilizadores de fosfato no período chuvoso e realizando uma análise comparativa entre os dados obtidos e disposto no gráfico, é possível notar um comportamento atípico e inesperado, pois em todas as áreas de restauração florestal estudadas e analisadas mantiveram-se iguais em termos numéricos. Já no gráfico da figura 19 que exibe o número da diversidade microbiana de bactérias solubilizadoras no período seco, destaca-se nesse cenário comparativo as áreas de Restauração Florestal: Nucleação Antiga e Regeneração Recente. Por apresentar uma quantidade significativa de microrganismos diversos no período seco, ultrapassando termos numéricos, inclusive a própria área de floresta que foi utilizada como área controle.

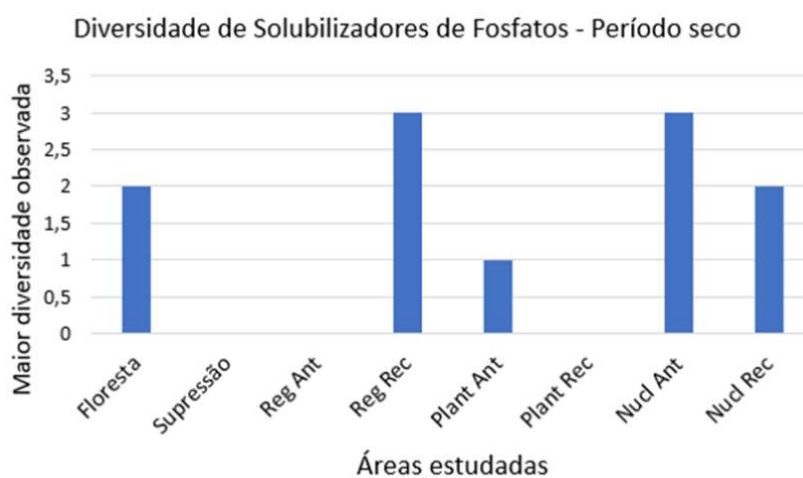
O que se esperava de diferente do observado é com relação à diversidade de microrganismos Solubilizadores de Fosfatos no período chuvoso. Em outros grupos e em outros trabalhos a diversidade aumenta e a abundância diminui quando há mais recursos. No caso do trabalho aqui em tela, isso não ocorreu. Em todas as áreas onde foram detectados Solubilizadoras de fosfatos, somente dois morfotipos foram identificados (ver figura18).

Figura 18: Representação gráfica da diversidade de microrganismos solubilizadores de fosfato no período chuvoso.



Fonte: Subprojeto - BRC 01/14: Fungos micorrízicos arbusculares

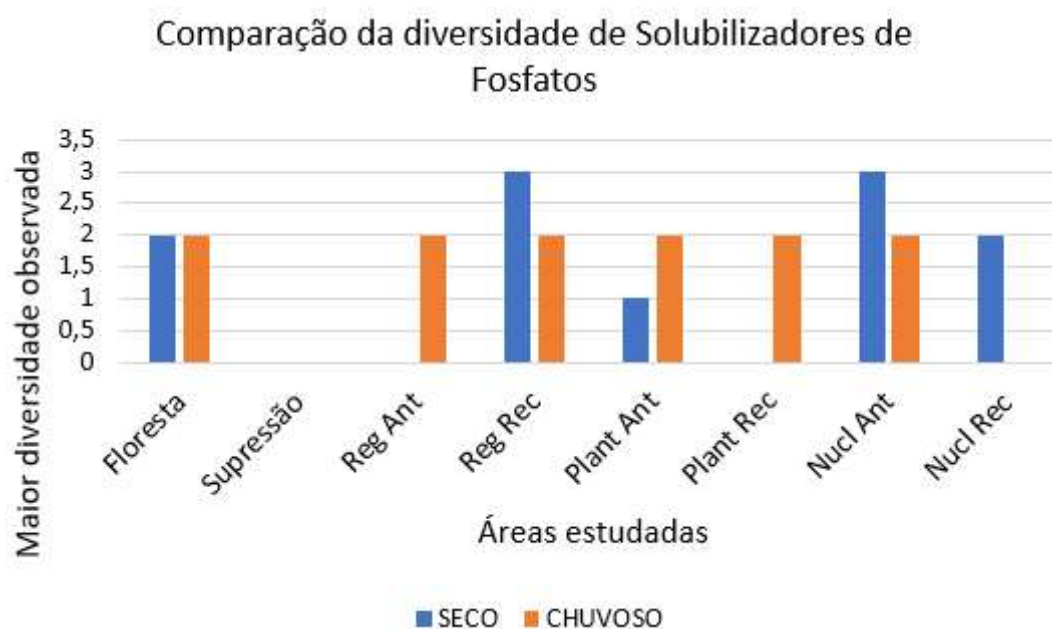
Figura 19: Representação gráfica da diversidade de microrganismos solubilizadores de fosfato no período seco



Fonte: Subprojeto - BRC 01/14: Fungos micorrízicos arbusculares.

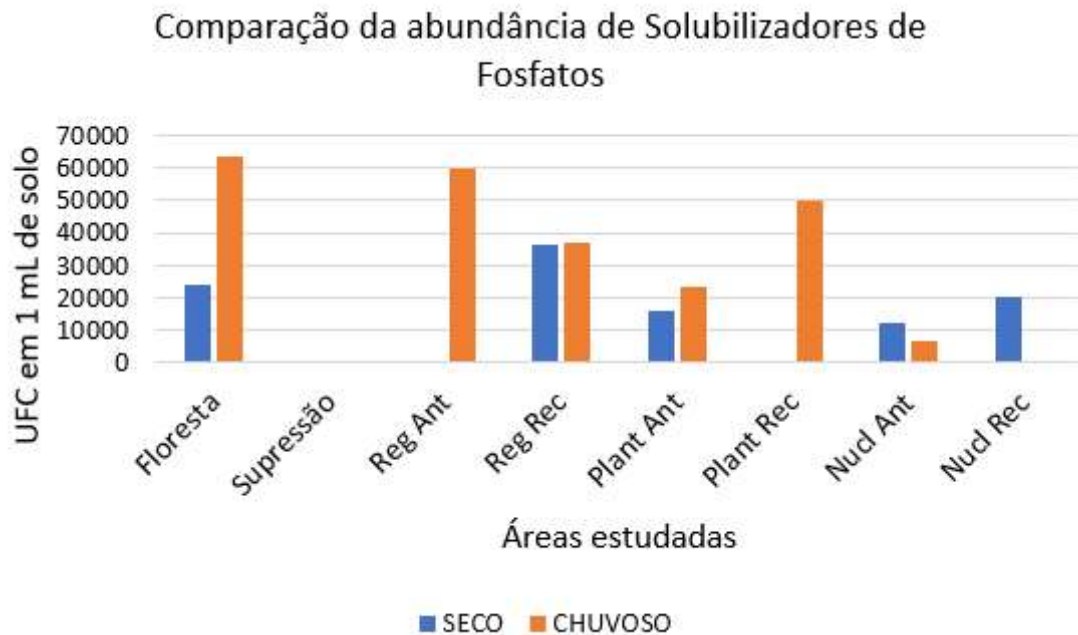
Traçando-se comparações entre os períodos seco e chuvoso, tanto em abundância quanto diversidade pode-se destacar quais as áreas que se comportam de maneira semelhante ou diversa, no gráfico da figura 20 está sendo comparado o número da diversidade de UFC por mL de solo nos períodos seco e chuvoso. Enquanto o gráfico da figura 21 está sendo comparado a quantidade de microrganismos solubilizadores de fosfato por mL de solo em cada área estudada nos períodos secos e chuvoso respectivamente.

Figura 20: Representação gráfica da análise comparativa da diversidade de microrganismos solubilizadores de fosfato no período seco e chuvoso



Fonte: Subprojeto - BRC 01/14: Fungos micorrízicos arbusculares

Figura 21 : Representação gráfica da análise comparativa da abundância de microrganismos solubilizadores de fosfato no período seco e chuvoso



Fonte: Subprojeto - BRC 01/14: Fungos micorrízicos arbusculares

A dinâmica de bactérias solubilizadoras de fosfato BSF é bastante diferente da dinâmica de outros grupos. O esperado é que em um ambiente natural como a Floresta, no período seco observássemos menor diversidade e maior abundância de microrganismos desse grupo. Pensando nas regras da seleção natural, aqueles que sobrevivessem às condições hostis, levariam vantagem e cresceriam muito em número de indivíduos por não ter concorrentes para disputar os recursos e no período chuvoso, encontraríamos menores números, mas uma maior diversidade, pois vários teriam chances. Não foi observado isso. Os números aumentaram grandemente na Floresta, cerca de 3X e a diversidade permaneceu igual e desse modo, essa parte específica do trabalho diverge (ver figura 18 e figura 20) de outros trabalhos e estudos realizados como de Rodrigues *et al.* (2011); Ruivo *et al.* (2002); Sales *et al.* (2008); Alves (2017) e Amarante *et al.* (2010) onde no período chuvoso a população bacteriana apresentou um maior crescimento quando comparada ao período seco. Portanto, segundo Calbrix *et al.* (2005) a heterogeneidade espacial e temporal da microbiota do solo pode ser considerada um fator que dificulta o estudo e as análises da biodiversidade microbiana.

5.CONCLUSÃO

Levando em consideração todas as literaturas revisadas neste trabalho e concernem-se a microrganismos solubilizadores de fosfato e considerando-se também os dados obtidos e discutidos nos resultados é possível concluir que as bactérias solubilizadoras de fosfato são um grupo funcional de microrganismos bastante complexos, volúveis, imprevisíveis e que são pouco explorados no campo de estudo de comparação de área em restauração florestal após a mineração e que por possuírem essa habilidade de solubilização do fosfato, as tornam um grupo funcional muito importante para a natureza, por exercerem um papel crucial na disponibilização do fósforo para as plantas e além de contribuir significativamente para o melhoramento da qualidade do solo. E, portanto, o uso e a aplicação adequada de bactérias solubilizadoras de fosfato em plantios de interesses econômicos e comerciais, pode contribuir consideravelmente para a redução do uso de fertilizantes fosfatados ou até mesmo substituí-los futuramente e dessa maneira acelerar os processos de produções agrícolas e torná-los mais sustentáveis e eficientes.

E este trabalho por ser um dos primeiros a abordar e estudar esse tema, pode contribuir substancialmente para nortear novas pesquisas e facultar o desenvolvimento e aprimoramento de novas metodologias de estudo de grupos funcionais de microrganismos do solo. Podendo inclusive abranger outros grupos de microrganismos do solo e investigar as suas atividades e contribuições para auxiliar as técnicas de restauração florestal empregadas em áreas pós- mineração.

Ao final deste trabalho, pode-se concluir que os objetivos descritos foram alcançados, e desse modo o presente trabalho possibilitou a realização de comparação entre diferentes áreas em processo de restauração florestal, utilizando as bactérias solubilizadoras de fosfato como parâmetro para estabelecer essa análise comparativa. Além disso, permitiu que os membros da equipe conhecessem na íntegra o processo de extração de bauxita e acompanhassem na íntegra também como é a dinâmica de uma mineradora.

E finalmente, após as análises comparativas das áreas nos dois períodos sazonais, pode-se concluir que no período seco, a maior diversidade microbiana, (ou seja, a quantidade de morfotipos bacteriano encontrado em maior número) foi observada nas seguintes áreas: Regeneração Recente e Nucleação Antiga, e desta maneira , foi notado um comportamento inesperado e divergente de outras literaturas

consultadas, pois essas duas áreas citadas ultrapassaram em termos numéricos e quantitativos a própria área de controle nesse período sazonal, demonstrando dessa forma, o quão complexos e imprevisíveis esses microrganismos podem ser; já em termos de quantidades ou abundância desse grupo funcional, as duas áreas de mais destaque por mostrar-se um desenvolvimento significativo no período seco foram: Regeneração Recente e Nucleação Recente. Já no período chuvoso a diversidade microbiana mais uma vez, mostrou-se um comportamento atípico, pois todas as áreas analisadas a diversidade permaneceu igual; apenas dois morfotipos bacteriano foram encontrados. Todavia, a maior abundância de microrganismos solubilizadores de fosfato (bactérias) encontrada nessa sazonalidade e conseqüentemente nas respectivas áreas estudadas e analisadas, destaca-se nesse cenário comparativo em termo de quantidade microbiana as seguintes áreas de restauração florestal: Plantio Recente e Regeneração Antiga.

E por fim, os resultados obtidos neste trabalho, não foram suficientes para determinar qual técnica de restauração florestal foi a mais eficiente. Depois das análises feitas, notou-se que os quantitativos e por seguinte os comparativos de bactérias solubilizadoras de fosfato entre as áreas não foram significativos para estabelecer que uma determinada técnica poderia ser utilizada como modelo para implementar nas áreas mineradas. E para posteriores estudos e análise desse grupo funcional, pretende-se preparar inóculos bacterianos a partir das bactérias obtidas neste trabalho e aplicar em plantas monocotiledôneas e dicotiledôneas para analisar e verificar se essas bactérias possuem potencial de auxiliar plantas a se desenvolverem melhor .

6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ABREU, C. S. *et al.* **Maize endophytic bacteria as mineral phosphate solubilizers.** Genetics and Molecular Research, 2017.
- ADUAN, Roberto E.; VILELLA, Maria F.; REIS, Fábio B. J. **Os grandes ciclos biogeoquímicos do planeta.** Embrapa cerrados. Planaltina DF, 2004. (Documento 119).
- AIRES, Rafaela. Degradação do Solo : Causa, impactos e consequências . **Myfarm** 2021 Disponível em: <https://www.myfarm.com.br/degradacao-do-solo/>. Acesso em 06 de Jan. de 2021.
- ALVES, Roberta D. M. **A diversidade microbiana comparativa dos parques urbanos de Cuiabá -MT, com o uso de cultivos convencionais e ferramentas moleculares.** 2017. TCC (Curso superior de tecnologia em gestão ambiental). Cuiabá.
- ALVES, Régia E. *et al.* 2015. **A DEGRADAÇÃO E FRAGILIDADE DOS SOLOS NO SUDOESTE DE GOIÁS: O CASO DA BACIA HIDROGRÁFICA DO RIBEIRÃO DA PICADA.** Revista Geográfica de América Central. 56 p. 235-258. Disponível em: <https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=451746028010>. Acesso em 06 de Jan. de 2022.
- AMARANTES, C. B.; RUIVO, M. L. P.; OLIVEIRA, M. L.; MOURA, Q. L. **Diversidade Microbiana em solos de Terra Preta Arqueológica.** Enciclopédia biosfera, v. 6, n. 11. 2010. p.1-10.
- BALIAH, N. T.; PANDIARAJAN, G.; KUMAR, B. **Isolation, identification and characterization of phosphate solubilizing bacteria from different crop soils of Srivilliputtur Taluk,** Virudhunagar District, Tamil Nadu. Tropical Ecology, v. 57, n. 3. 2016. p.465-474.
- BARROTI, G.; NAHAS, E. **População microbiana total e solubilizadora de fósforo em solo submetido a diferentes sistemas de cultivo.** Pesquisa agropecuária brasileira, Brasília, v.35, n.10. 2000. p.2043-2050.
- BECHARA, Fernando Campanhã. **Unidades demonstrativas de restauração ecológica através de técnicas nucleadoras:** Floresta Estacional Semidecidual, Cerrado e Restinga. 2006. Tese (Doutorado em Recursos Florestais) - Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2006. doi:10.11606/T.11.2006.tde-22082006-145733. Acesso em: 2022-01-16.
- BOWLES, T. *et al.* Soil enzyme activities, microbial communities, and carbon and nitrogen availability in organic agroecosystems across an intensively-managed agricultural landscape. **Soil Biology and Biochemistry**, v. 68. 2014. p.252-262,
- BRUGGEN, A. H. C.; SEMENOV, A. M. In search of biological indicators for soil health and disease suppression. **Applied Soil Ecology**, Amsterdam, v. 15, n.1. 2000. p.13-24.

CALBRIX, R.; LAVAL, K. & BARRAY, S. **Analysis of the potential functional diversity of the bacterial community in soil**: A reproducible procedure using sole-carbon-source utilization profiles. *Eur. J. Soil Biol.*, 41:11-20, 2005.

CELSONI, M. **Educação ambiental**: conceitos e princípios Belo Horizonte: FEAM. 2002. p.8-14.

CHRISTOFOLETTI, Sérgio R. *et al.* **Impactos Positivos e Negativos da Atividade Minerária no “APL” de Santa Gertrudes** – SP. Cerâmica Industrial 2014.

COUTINHO, H. L. da C.; OLIVEIRA, V. M. de; MANFIO, G. P.; ROSADO, A. S. Evaluating the microbial diversity of soil samples: methodological innovations. *Anais da Academia Brasileira de Ciências*. Rio de Janeiro. v. 71, n. 3. 1999. p.491-503.

DIAS, G.F. Educação ambiental: **princípios e práticas**. São Paulo, Gaia, 1992. Disponível em : <https://agropos.com.br/fosforo-para-plantas>. Acesso em 06 de outubro de 2021.

DNPM. Departamento Nacional de Produção Mineral. **Arrecadação da CFEM por substância**. Disponível em https://sistemas.dnpm.gov.br/arrecadacao/extra/Relatorios/arrecadacao_cfem_substancia.aspx. acesso em 10 de Novembro de 2021.

DORAN, J. W.; SARRANTONIO, M.; LIEBIG, M. A. **Soil health and sustainability**. *Advances in Agronomy*, San Diego, v. 56. 1996. p.2-54.

EMBRAPA, 2016. **Dia de Campo na TV - Uso de Topsoil na restauração da vegetação nativa do Cerrado**. Disponível em : https://www.embrapa.br/busca-de-noticias?p_p_id=buscanoticia_WAR_pcebusca6_1portlet&p_p_lifecycle=0&p_p_stat_e=pop_up&p_p_mode=view&p_p_col_id=column-1&p_p_col_count=1&buscanoticia_WAR_pcebusca6_1portlet_groupId=1355746&buscanoticia_WAR_pcebusca6_1portlet_articleId=11769892&buscanoticia_WAR_pcebusca6_1portlet_viewMode=print. Acesso em 11 De Janeiro de 2022.

EMBRAPA, 2020. **BOD**. Disponível em : <https://alelowiki.cenargen.embrapa.br/index.php/BOD>. Acesso em 25 de Jan.de 2022.

FAO. (2011). **The state of the world's land and water resources for food and agriculture (SOLAW)** – Managing systems at risk. Food and Agriculture Organization of the United, Rome and Earthscan, London, 308 p.

Fiedler, Peggy & White, Peter & Leidy, Robert. (1997). **The Paradigm Shift in Ecology and Its Implications for Conservation**. 10.1007/978-1-4615-6003-6_9.

FREITAS, Valdionir R.; PICOLI, Simone U. A coloração de Gram e as variações na sua execução. **NewsLab**-Edição 82, 2007. p.124-128.

GATIBONI, L. C. **Disponibilidade de formas de fósforo do solo às plantas**. Tese (Doutorado em Agronomia-Biodinâmica do Solo). Universidade Federal de Santa Maria, Rio Grande do Sul. 2003.

GOLDSTEIN, A. H. **Bacterial solubilization of mineral phosphates: historical perspective and future prospects.** *American Journal of Alternative Agriculture, Greenbelt*, v. 1, n. 2, 1986. p.51-57.

GOMES, E. A. *et al.* Rock phosphate solubilizing microorganisms isolated from maize rhizosphere soil. *Revista Brasileira de Milho e Sorgo*, v.13, n.1. 2014. p.69-81.

GONZÁLEZ, F.H.D.; SILVA, S.C. Introdução à bioquímica clínica veterinária. Porto Alegre: **Universidade Federal do Rio Grande do Sul**. 2006. 357p.

HAMEEDA, B. *et al.* Growth promotion of maize by phosphate-solubilizing bacteria isolated from composts and macrofauna. *Microbiological Research, Jena*, v. 163, n. 2. 2008. p.234-242.

INUI, R. N. Isolamento e identificação de bactérias solubilizadoras de fósforo e produtoras de auxinas em solo com cana-de-açúcar, 2009. 65 p. **Dissertação** (Mestre em Agronomia) - Universidade Estadual Paulista / Faculdade De Ciências Agrárias E Veterinárias, Jaboticabal.

JENKINSON, D. S.; LADD, J. N. Microbial biomass in soil: measurement and turnover. In: PAUL, E. A.; LADD, J. N. (Ed.). **Soil Biology and Biochemistry**, v. 5. 1981. p.415-471.

KASVI, 2019. Coloração de Gram – O que é bactéria Gram-positiva e Gram-negativa? Disponível em : <https://kasvi.com.br/bacteria-gram-positiva-gram-negativa/> Acesso em 04 de Fev. de 2022.

KASVI, 2018. Meios de Cultura – Como diferenciar meio enriquecido, seletivo e diferencial. Disponível em : <https://kasvi.com.br/meios-de-cultura-diferenca/#:~:text=Meio%20de%20Cultura%20Seletivo,o%20crescimento%20do%20microrganismo%20alvo.> Acesso em 15 de Jan. de 2022.

KUCEY, R. M. N.; JANZEN, H. H.; LEGGET, M. E. Microbially mediated increases in plant-available phosphorus. **Advances in Agronomy, New York**, v. 42. 1989. p.199-228.

MARTINS, W.B.R; FERREIRA, G.C; SOUZA, F. P; DIONISIO, L. F. S; OLIVEIRA, F. A. Deposição da serrapilheira e nutrientes em áreas de mineração submetidas a métodos de restauração florestal em Paragominas, Pará. **Rev. Floresta**. Curitiba-PR. V.48. n.1. 2018.

MENDES, L. C.; JUNIOR, F. B. R. Microrganismos e disponibilidade de fósforo (P) nos solos: uma análise crítica. **Planaltina: Embrapa Cerrados, 2003**. (Documento 85).

MOURA, A. R. S. *et al.* PROCESSO DE OBTENÇÃO DO ALUMÍNIO. [**Dissertação**]. BELÉM-PA: Universidade Federal do Pará. 2008. 181p.

NICOLAU, Paula B. Microrganismo é ambiente: Ar, água, solo e extremos. 2016.

NOGUEIRA, M. A. Hungria, M. Indicadores microbiológicos da qualidade do solo. **III Reunião Paranaense de Ciência do Solo**. Londrina: 2013.

NOSK HYDRO. **Mineração em Paragominas**. Disponível em: <https://www.hydro.com/pt-BR/sobre-a-hydro/a-hydro-no-mundo/north-america/brasil/paragominas/mineracao-paragominas/>. Acesso em 21 de Janeiro de 2022.

OGBO, F. C. Conversion of cassava wastes for biofertilizer production using phosphate solubilizing fungi. **Bioresource Technology**, v. 101, n. 11. 2010. p.4120-4124.

OLIVEIRA, C. A. *et al.* Phosphate solubilizing microorganisms isolated from rhizosphere of maize cultivated in an oxisol of the Brazilian Cerrado Biome. *Soil Biology and Biochemistry*, **Oxford**, v. 41. 2009. p.1782-1787.

PAGANINI, Wanderley S.; QUEVEDO, Claudia M. G. Impactos das atividades humanas sobre a dinâmica do fósforo no meio ambiente e seus reflexos na saúde pública. **Ciências e Saúde Coletiva**. São Paulo. 2010.

PAIVA, C. A. O. *et al.* Inoculantes de microrganismos promotores de crescimento em milho: transferindo a diversidade do laboratório para o campo. Sete Lagoas: **Embrapa Milho e Sorgo**, 2018. (Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento, 227).

PANTANO, Glaucia; *Et al.* Sustentabilidade no uso do fósforo: Uma questão de segurança hídrica e alimentar. **Química Nova**: Vol. 39, No.6. São Carlos. 2016.

PAST, Paleontological statistics, 1999-2018. **Reference Manual**. Version 3.20 Disponível em : https://edisciplinas.usp.br/pluginfile.php/4407502/mod_resource/content/1/past3manual.pdf. Acesso em 20 de Jan. De 2022.

PAULILO, Maria.; VIANA, Ana; RANDI, Áurea. **Fisiologia Vegetal**. Florianópolis: Universidade Federal de Santa Catarina. 2015. 182p.

PERRY, J. J.; STALEY, J. T. *Microbiology: Dynamics and Diversity*. United States of America, 1997.

POZZA, Simone A.; Santos, Carmenlucia. Monitoramento e caracterização ambiental. São Carlos: EdUFSCar, 2015. ISBN-978-857600-400-4. pg. 15-96.

Projeto pedagógico do curso de ciências naturais (licenciatura). 2010 Disponível em: https://crca.unifesspa.edu.br/images/ppc/23.1-Cincias_Naturais_PPC_2010.pdf. Acesso em 14 de Dez. de 2021.

REIS, A.; BECHARA, F.C.; ESPINDOLA, M.B.; VIEIRA, N.K.; SOUZA, L.L. **Restauração de áreas degradadas**: a nucleação como base para incrementar os processos sucessionais. *Natureza & Conservação*, Curitiba, v. 1, n. 1, p. 28-36, 85-92, abril de 2003.

RICHARDSON, A. E. *et al.* Acquisition of phosphorus and nitrogen in the rhizosphere and plant growth promotion by microorganisms. **Plant and Soil**, v. 321, 2009. p.305-339.

RICHARDSON, A. E.; SIMPSON, R. J. Soil microorganisms mediating phosphorus availability update on microbial phosphorus. **Plant Physiology**, v. 156, n. 3, 2011. p.989-996.

RODRIGUES, Hernani J. B. *et al.* Variabilidade quantitativa de população microbiana associada às condições microclimáticas observadas em solo de floresta tropical úmida. *Revista Brasileira de Meteorologia*, v.6, n.4. 2011. p.628-638.

ROSADO, A. S. **Diversidade e ecologia de microrganismos do solo.** In: REUNIÃO BRASILEIRA DE FERTILIDADE E NUTRIÇÃO DE PLANTAS, 23; REUNIÃO BRASILEIRA SOBRE MICORRIZAS, 7; SIMPÓSIO BRASILEIRO DE MICRO-BIOLOGIA DO SOLO, 5; REUNIÃO BRASILEIRA DE BIOLOGIA DO SOLO, 2, 2000, Santa Maria. Anais... Santa Maria: UFSM. 2000.

RUIVO, M. L. P. *et al.* **Propriedades do solo e fluxo de CO₂ em Caxiuanã, Pará:** experimento LBA - Esecaflor. In: KLEIN, E. L.; VASQUEZ, M. L.; ROSA-COSTA, M. L. (Orgs.) *Contribuições à Geologia da Amazônia*, V.3. SBG-Núcleo Norte. 2002. p.291-299.

SALES, T. M. *et al.* **Diversidade de bactérias de solo em clareiras e floresta nativa provenientes de áreas de terra firme alteradas pela exploração de petróleo.** In: SEMINÁRIO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA DA EMBRAPA AMAZÔNIA ORIENTAL, 12, 2008, Belém. Anais... Belém: Embrapa, 2008.

SALOMÃO, R. P.; BRIENZA, Júnior S.; ROSA, N. A. Dinâmica de reflorestamento em áreas de restauração após mineração em unidade de conservação na Amazônia. **Revista Árvore**. 2014. p.1-24.

SAMPAIO, João A.; ANDRADE, Mônica C.; DUTRA, Achilles J. B. Rochas e minerais industriais: Usos e especificações. 2ª Edição. Rio de Janeiro. 2008. p.311-312.

SANTOS, D. R.; GATIBONI, L. C.; KAMINSKI, J. Fatores que afetam a disponibilidade do fósforo e o manejo da adubação fosfatada em solos sob sistema plantio direto. *Ciência Rural*, v.38, n.2. 2008. p.576-586.

SER - Society for Ecological Restoration International. Princípios da SER International sobre a restauração ecológica. 2004.

Disponível em: <https://www.ser.org/resource/resmgr/custompages/.../SER.../ser-primer> portuguese.pdf. Acesso em: 20 de Dez. de 2021.

SILVA, A. C.; VIDAL, M.; PEREIRA, M. G. Impactos ambientais causados pela mineração e beneficiamento de caulim. Rem: **Rev. Esc. Minas [online], Ouro Preto**, vol.54, n.2, p.133-136, abr./jun. 2001. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1590/S0370-44672001000200010>>. Acesso em: 18 de Set. de 2021.

SILVA, A. C. S. *Et al.* Ocorrência de bactérias solubilizadoras de fosfato nas raízes de plantas de importância econômica em Manaus e Rio Preto da Eva, Amazonas. Manaus. **Journal of Biotechnology and Biodiversity**; Vol. 2, N. 1. 2011. p.37.

SILVA, Filho, G. N. Solubilização de fosfatos pela microbiota do solo. **Tese**. (Doutorado em Agronomia -Ciência do Solo) – Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre. 1998.

SOUCHIE, E. L.; Abboud, A. C. S.; Caproni, A. L. Solubilizadores de fosfatos in vitro por microrganismos rizosféricos de guandu. **Bioscience Journal**, 23. 2007. p.53-60.

SPOSITO, G.; ZABEL, A. The assessment of soil quality. **Geoderma**, Amsterdam, v.114, n. 3/4. 2003. p.143-144.

STAUFFER, M. D.; SULEWSKI, G. Fósforo - essencial para a vida. In: **Simpósio sobre fósforo na agricultura brasileira**, 2003. Piracicaba. Anais Piracicaba: Potafos. 2004. p.1.

TAIZ, L.; ZEIGER, E. Fisiologia vegetal. 5ª Ed. **Editora Guanabara Koogan**. Porto Alegre. 2013. p.454-460.

TIEDJE, J. M.; CHO, J. C.; MURRAY, A.; TREVES, D.; XIA, B.; AHOU, J. Soil teeming with life: new frontiers for soil science. In: REES, R. M.; BALL, B. C.; CAMPEBELL, C. D.; WATSON, C. A. (Org.). Sustainable management of soil organic matter. Wallingford: CAB International. 2001. p.393-412.

TRINDADE, J. R. **Mineração e políticas de desenvolvimento local para o município de Parauapebas no Pará**. 2011. Disponível em: <http://mineralis.cetem.gov.br/bitstream/cetem/1161/1/Minera%C3%A7%C3%A3o%20e%20pol%C3%ADticas%20de%20desenvolvimento%20local.pdf>. Acesso em: 16 de Nov. de 2021.

UNCCD. (1994). United Nations Convention to Combat Desertification and Drought. Disponível em: www.unccd.int. Acesso em 06 de Jan. de 2022.

VALERI, S. V. E; Senô, K. C. A. Manejo e recuperação Florestal: Legislação, uso da água e sistema agroflorestais. **Funep**, Jaboticabal. 2004.

VASSILEVA, M. et al. Multifunctional properties of phosphate-solubilizing microorganisms grown on agro-industrial wastes in fermentation and soil conditions. **Applied Microbiology and Biotechnology**, v. 85, n. 5. 2010. p.1287-1299.

VASSILEVA, N. *et al.* Biotechnological tools for enhancing microbial solubilization of insoluble inorganic phosphates. **Geomicrobiology Journal**, v. 31. 2014. p.751-763.

VERMELHO, A. B; PEREIRA, A. F; COELHO, R. R. R; PADRÓN, T. S. Práticas de Microbiologia. Rio de Janeiro. **Guanabara Koogan**. 2006.

VERZUTTI, João. Fósforo para plantas: Conheça a dinâmica desse macronutriente. **Agropós**. Disponível em: <https://agropos.com.br/fosforo-para-plantas/>. Acessado em 06 de Out. de 2021.

WANDERLEY, L. J. Movimentos sociais em área de mineração na Amazônia Brasileira. **e-cadernos (online)**, 2012. Disponível em: <http://eces.revues.org/1117#quotation>. Acesso em 17 de Nov. de 2021.

WANDERLEY, Luiz J. Por trás dos desastres e conflitos da mineração. **Ciência Hoje**. 2019. Disponível em: <https://cienciahoje.org.br/artigo/por-tras-dos-desastres-e-conflitos-da-mineracao/>. Acesso em 22 de Jan. de 2022.

WORLD ALUMINIUM. Sustainable bauxite mining guidelines. **First Edition**. 2018. Disponível em: http://www.world-aluminium.org/media/filer_public/2018/05/18/170518_sbmj_final.pdf. Acesso em: 11 de Set. de 2021.

YARRANTON, G.A.; MORRISON, R.G. Spatial dynamics of a primary succession: nucleation. Oxford. **Journal of Ecology**, v. 62, n. 2. 1974. p.417-428.

YOUNG, L. S. et al. Endophytic establishment of the soil isolate Burkholderia sp. CC-A174 enhances growth and P-utilization rate in maize (*Zea mays* L.). **Applied Soil Ecology, Amsterdam**, v. 66. 2013. p.40-47.

ZILLI, J. É. *et al.* Diversidade microbiana como indicadora de qualidade do solo. **Cadernos de ciências & tecnologias**. Brasília, v. 20, n. 3. 2003. p.391-411.