



**RAQUEL SOBRAL DA SILVA**

**RIZOBACTERIAS SOBRE O CRESCIMENTO DO MILHO E BIOMASSA  
MICROBIANA EM SOLO CONTAMINADO COM CROMO.**

**TERESINA- PI**

**2020**

**RAQUEL SOBRAL DA SILVA**

**RIZOBACTERIAS SOBRE O CRESCIMENTO DO MILHO E BIOMASSA  
MICROBIANA EM SOLO CONTAMINADO COM CROMO**

Dissertação apresentada à Universidade Federal do Piauí, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Agronomia - Agricultura Tropical, para obtenção do título de mestre em Agronomia.

**Orientador**

Dr. Ademir Sérgio Ferreira de Araújo

**TERESINA – PI**

**2020**

**FOLHA DE APROVAÇÃO****RIZOBACTERIAS SOBRE O CRESCIMENTO DO MILHO E BIOMASSA  
MICROBIANA EM SOLO CONTAMINADO COM CROMO**

Dissertação apresentada à Universidade Federal do Piauí, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Agronomia - Agricultura Tropical, para obtenção do título de Mestre em Agronomia.


**Aprovado em: 28  
de Setembro de 2020**

**Comissão Julgadora:**

---

Prof. Dr<sup>o</sup>. Ademir Sérgio Ferreira de Oliveira- CCA/UFPI

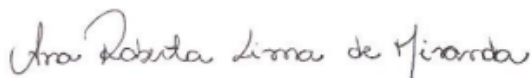
**(Orientador)**



---

Prof<sup>o</sup> Jadson Emanuel Lopes Antunes- CCA/UFPI

**(Membro Interno)**



---

Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup> Ana Roberta Lima de Miranda- IFMA

**(Membro externo)**

**TERESINA – PI**

**2020**

FICHA CATALOGRÁFICA  
Universidade Federal do Piauí  
Biblioteca Comunitária Jornalista Carlos Castello Branco  
Divisão de Processos Técnicos

S586r Silva, Raquel Sobral da.  
Rizobactérias sobre o crescimento do milho e biomassa microbiana em solo contaminado com cromo. / Raquel Sobral da Silva. – 2020.  
48 p.  
Dissertação (Mestrado) – Pós-Graduação em Agronomia - Agricultura Tropical, Universidade Federal do Piauí, Teresina, 2020.  
“Orientação: Prof. Dr. Ademir Sérgio Ferreira de Araújo”.

1. Resíduo orgânico.
2. Metais pesados.
3. Qualidade do solo.
4. Exopolissacarídeos.
5. Rizodegradação. I. Título.

CDD 633.15

*DEDICO...*

*A minha vó Arcanja com todo amor, a meus pais Rute e José Garcia pelo apoio incondicional, aos meus irmãos e em especial a Kely por embarcar nessa jornada comigo e a todas as pessoas da minha vida que acreditaram na minha capacidade de persistir.*

*Amo cada um de vocês ♥.*

## AGRADECIMENTOS

Antes de tudo agradeço a Deus por mais essa oportunidade de crescimento e por tudo que ele faz na minha vida a cada segundo.

A Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pelo investimento e oportunidade de crescimento profissional, a Universidade Federal do Piauí (UFPI) em especial o Centro de Ciências Agrárias e seus setores Ridesa (Rede Interuniversitária para o Desenvolvimento do Setor Sucroenergético), Deas (Departamento de engenharia agrícola e solos) e Laso (Laboratório de análise de solos) por terem me dado suporte na realização desta pesquisa. Assim como todos os professores que compõe o Programa de Pós-Graduação em Agronomia da UFPI, pelos ensinamentos durante as disciplinas que fiz.

Aos meu orientador Professor Dr. Ademir Sergio e Co - orientador Professor Dr. Jadson Antunes, pela confiança e paciência ao longo destes dois anos de trabalho e pelos ensinamentos que levarei eternamente.

A minha família em especial a minha Vó Arcanja Gomes da Silva, que me criou e sempre me incentivou a ser cada dia melhor, e a quem todo dia eu direciono minha saudade. Aos meus pais Rute Sobral da Silva e José Garcia Gomes da Silva por que mesmo na simplicidade sempre deram duro para nada faltar aos filhos, eu amo muito vocês.

As minhas irmãs e irmão por serem os melhores do mundo, Jaylande, Jaqueline, Bruna, Fabiana e Ana Cecília Sobral da Silva, José Lucas Sobral da Silva e a mais nova integrante da família minha sobrinha Ághata Cristina um ser humano cheio de luz que veio abrilhantar nossa casa.

Aos meus primos e primas que são como meus irmãos, em especial a Ivanayra, Mayara, Sanayra, Lucas e Izânio, pelos conselhos, conversas e ensinamentos ao longo desses dois anos de aprendizagem. As minhas melhores estrelas Ana Lina e Aldenira, amo vocês.

Aos amigos que do Laso, Mariane, Igda, Ingrid Stafany (Fanny), Delânio, Lara, Remedios, Luciana, Júnia, Carla e Dona Nilvânia. Vocês todos foram essenciais ao longo desses dois anos, vou levar a amizade de cada um

eternamente comigo. Gostaria de agradecer em especial a Regina, Macedo Jr., João Pedro, Marineide, Sandra, Claudyanne e Antônio Victor que me acompanharam nos momentos mais complicados do meu trabalho e por terem a paciência para repassar os ensinamentos de laboratório durante minhas análises. Aos técnicos Louise Oliveria e Sr. Teddy Arrais pelo auxílio ao longo desta pesquisa.

Aos amigos que fiz no CCA, em especial Dona Célia, Cleríston, Vicente, Ana Raquel, Ingrid, Smaillo, Edson, Ane, Carla e Anderson. Vocês são incríveis, a nossa amizade vai ser eterna. Aos amigos de longa data Ivanayra, Mayara, Ramyle e Mateus eu sempre vou agradecer por ter vocês na minha vida.

E a todos que de maneira direta ou indireta fizeram parte desta conquista na minha vida. Obrigada

*“Aquele que luta com monstros deve acautelar-se para não  
tornar-se também um monstro.*

*Quando se olha muito tempo para um abismo, o abismo olha  
para você...”*

*~Friedrich Nietzsche~*



## RESUMO GERAL

O acúmulo de metais pesados como o cromo (Cr) é uma problemática para o desenvolvimento da agricultura em áreas contaminadas. No entanto processos como o uso de microrganismos com capacidade de degradação de metais tornam-se uma estratégia para biorremediar estes ambientes. Objetivou-se com este estudo investigar o efeito de rizobactérias no acúmulo de Cr e no crescimento de plantas de milho em solos contaminados com esse metal e avaliar a influência do Cr nas propriedades microbiológicas do solo. O estudo foi realizado na casa de vegetação da Universidade Federal do Piauí, em delineamento inteiramente casualizado, sob esquema fatorial (6x2) sendo seis isolados bacterianos e duas condições de solo. O solo foi previamente coletado em área com histórico de nove anos consecutivos de aplicação do lodo de curtume compostado (LCC) e em solo de mata nativa sem histórico de uso (sem cromo). Submeteu-se as sementes de milho (*Zea mays*) AG1051 a inoculação com rizobactérias obtidas de nódulos de feijão – fava (*Phaseolus lunatus* L.) cultivado em ambiente contaminado por cromo, sendo selecionado um total de 5 isolados bacterianos que apresentaram melhor tolerância ao cromo (LCC 04, LCC 41, LCC 69, LCC 81) e um isolado referência na produção de exopolissacarídeos (IPA 403) além de uma testemunha controle, sem inoculação e com presença de adubação nitrogenada (Control), 60 dias após a semeadura as plantas foram coletadas e submetidas a avaliações, assim como o solo, avaliou-se parâmetros fisiológicos e morfológicos da planta como massa seca da raiz e parte aérea (MSPa; MSR), relação MSPa/ MSR; clorofila total e nitrogênio total (NTotal) além do fator de bioacumulação e translocação de cromo nas partições (raiz e parte aérea), observou-se a respiração basal do solo e carbono microbiano do solo além do coeficiente microbiano. As maiores medias para MSPa foram observadas para o isolado LLC 41 e LCC 81 no solo sem cromo, os maiores valores de MSR por sua vez foram observados para os tratamentos LCC 41 e LCC 69 para o solo com Cr; Já para os fatores de acumulação IPA 403 apresentou menor acumulação de cromo Conclui-se que rizobactérias favorecem a degradação do cromo em ambiente contaminado com o elemento traço, ao passo que auxiliam na performance de crescimento das plantas de milho.

**Palavras Chave:** Resíduo orgânico; metais pesados; qualidade do solo; exopolissacarídeos; rizodegradação.

## ABSTRACT

The accumulation of heavy metals such as chromium (Cr) is a problem for the development of agriculture in contaminated areas. However, processes such as the use of microorganisms capable of degrading metals become a strategy for bioremediation of these environments. The objective of this study was to investigate the effect of rhizobacteria on the accumulation of Cr and on the growth of corn plants in soils contaminated with this metal and to evaluate the influence of Cr on the microbiological properties of the soil. The study was carried out in the greenhouse of the Federal University of Piauí, in a completely randomized design, under a factorial scheme (6x2) with six bacterial isolates and two soil conditions. The soil was previously collected in an area with a history of nine consecutive years of application of composted tannery sludge (LCC) and in native forest soil without a history of use (without chromium). Maize seeds (*Zea mays*) AG1051 were subjected to inoculation with rhizobacteria obtained from nodules of lima beans (*Phaseolus lunatus* L.) grown in a chromium-contaminated environment, and a total of 5 bacterial isolates that showed better chromium tolerance were selected. (LCC 04, LCC 41, LCC 69, LCC 81) and an isolated reference in the production of exopolysaccharides (IPA 403) in addition to a control control, without inoculation and with the presence of nitrogen fertilization (Control), 60 days after sowing the plants were collected and submitted to evaluations, as well as the soil, physiological and morphological parameters of the plant were evaluated as dry mass of the root and aerial part (MSPa; MSR), MSPa / MSR ratio; total chlorophyll and total nitrogen (NTotal), in addition to the bioaccumulation factor and chromium translocation in the partitions (root and aerial part), basal soil respiration and soil microbial carbon were observed in addition to the microbial coefficient . The highest averages for MSPa were observed for the LLC 41 and LCC 81 isolate in the soil without chromium, the highest MSR values were observed for the treatments LCC 41 and LCC 69 for the soil with Cr; As for the accumulation factors, IPA 403 showed less accumulation of chromium. It can be concluded that rhizobacteria favor the degradation of chromium in an environment contaminated with the trace element, while helping the growth performance of corn plants.

**Keywords:** Organic waste; heavy metals; soil quality; exopolysaccharides; rhizodegradation

### LISTA DE FIGURAS

<b>Figure 1</b> Shoot (A) and roots (B) dry weight, and root:shoot ratio (C) of maize inoculated with PGPB grown in soil with (+Cr) and without (-Cr).....	38
<b>Figure 2</b> Nitrogen (A) and chlorophyll (B) content in maize inoculated with PGPB grown in soil with (+Cr) and without (-Cr). .....	39
<b>Figure 3</b> Cr accumulation in plants (A) and the translocation factor (B) in maize inoculated with PGPB grown in soil with (+Cr) and without (-Cr).....	40
<b>Figure 4</b> Soil respiration (A) microbial biomass C (B) and respiratory quotient (C) after inoculation of maize with PGPB in soil with (+Cr) and without (-Cr). .....	41

### LISTA DE TABELA

<b>Tabela 1</b> Values of the chemical analysis for soil with chromium (+Cr) and soil without chromium (-Cr).....	35
---	----

## SUMÁRIO

<b>RESUMO GERAL</b> .....	ix
<b>ABSTRACT</b> .....	x
<b>LISTA DE FIGURAS</b> .....	xi
<b>LISTA DE TABELA</b> .....	xi
<b>1 INTRODUÇÃO GERAL</b> .....	13
<b>2 REVISÃO DE LITERATURA</b> .....	15
<b>2.1 Aplicação de lodo de curtume compostado e o acúmulo de Cromo no solo e nas plantas.</b> .....	15
<b>2.2 Ação de bactérias promotoras de crescimento de plantas (BPCP) em ambiente contaminado por Cromo.</b> .....	17
<b>2.3 Influência do Cr na Biomassa microbiana do solo.</b> .....	19
<b>REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS</b> .....	23
<b>Article submitted to Bioscience Journal - Rhizobacterias on maize growth and soil microbial biomass C in a Cr-contaminated soil.</b> .....	32
<b>Abstract</b> .....	32
<b>1 Introduction</b> .....	33
<b>2 Material and methods</b> .....	35
<b>3 Results</b> .....	37
<b>4 Discussion</b> .....	421
<b>5 Conclusion</b> .....	454
<b>References</b> .....	465

## 1 INTRODUÇÃO GERAL

Resíduos agroindustriais são aqueles compostos por matéria prima agrícola com adição durante o processamento industrial de outras substâncias, como ocorre na indústria curtumeira (PIRES; MATIAZZO, 2008). O descarte inapropriado de resíduos industriais, proporcionado principalmente pelo acúmulo de metais pesados aumenta o potencial tóxico ao longo da cadeia alimentar. Com isso o emprego desses na agricultura tem se mostrado uma promissora alternativa para a redução do impacto ambiental (ARAUJO et al., 2020).

A indústria curtumeira em especial a responsável pela produção do couro “*West-blue*” apresenta uma relevante contribuição na geração de resíduo poluente, este resultante dos processos de transformação da peça durante a fase de curtimento (HOINACKI et al., 1994). O resíduo denominado lodo de curtume (LC), é caracterizado principalmente por possuir elevado teor de cromo (Cr), metal que possui alta capacidade de bioacumulação no ambiente (ARAUJO et al., 2013; OLIVEIRA et al., 2015; SOUZA et al., 2017).

O lodo de curtume entretanto, demonstra potenciais aplicabilidades no setor agrícola, em virtude de ser fonte de substâncias orgânicas e inorgânicas com capacidade de fertilizar o solo (SHAHID et al., 2017) e por decorrência favorecer a nutrição dos vegetais (MALAFAIA et al., 2016). Sendo assim, as áreas agrícolas apresentam-se como uma alternativa viável de utilização deste material.

No entanto um tratamento especial deve ser considerado visando a melhor decomposição do LC antes da aplicação no solo. Uma alternativa de melhoria da qualidade do lodo de curtume corresponde à submissão do mesmo ao processo de compostagem (OLIVEIRA; ARAUJO; MELO 2015) processo, este, eficaz para a decomposição de resíduos orgânicos, melhorando sua qualidade biológica, química e física (SINGH et al. 2011) como reportados por ARAUJO et al., (2013); SOUZA et al., (2018).

Embora o lodo de curtume mesmo após submetido ao processo de compostagem tenha capacidade de promover melhorias tanto no solo (SAHID et al., 2017) e auxiliar no crescimento das plantas (ARAÚJO et al., 2013; MIRANDA et al., 2014; GUIMARAES et al., 2015; ARAÚJO et al., 2016) ainda apresenta

potencial favorável a bioacumulação e translocação de cromo no solo e nas plantas, após sucessivas aplicações no ambiente (SOUSA et al., 2017), além disso pesquisas relatam que o uso a longo prazo resulta em aumento da salinidade, alcalinidade do solo, (MIRANDA, et al., 2014), e alterações nas propriedades biológicas do solo, (CARDOSO et al. 2013), tais como a biomassa e comunidade microbiana (ARAUJO et al. 2010).

Todavia parte da comunidade bacteriana do solo desenvolvem mecanismos de sobrevivência em condições de presença de metais pesados (YIN et al., 2015). Um grupo específico de bactérias que apresenta destaque na capacidade de sobrevivência em diferentes condições estressantes são as bactérias promotoras de crescimento de plantas (BPCPs), sendo as mesmas promissoras em processos de biorremediação de ambientes contaminados (SINGH et al., 2013). O uso de bactérias é um dos variados métodos que podem ser considerados viáveis para uso, visando a redução dos efeitos tóxicos de metais pesados, em especial o cromo, em plantas e no solo (ROCHA et al., 2018).

Dentro da perspectiva apresentada objetivou-se com este estudo investigar o efeito de rizobactérias no acúmulo de Cr e no crescimento de plantas de milho em solos contaminados com esse metal e avaliar a sua influência nas propriedades microbiológicas do solo.

## 2 REVISÃO DE LITERATURA

### 2.1 Aplicação de lodo de curtume compostado e o acúmulo de Cromo no solo e nas plantas.

As indústrias curtumeiras ocupam uma posição de destaque nas movimentações econômicas do Brasil, com números acima de 80 milhões de dólares somente no primeiro trimestre de 2020 (CICB,2020). No entanto esta é uma das atividades responsáveis pela geração de um resíduo prejudicial ao meio ambiente, denominado lodo de curtume (MALAFAIA et al., 2016). Esse rejeito industrial advém dos processos de curtimento, ao qual a pele animal é submetida para a obtenção final do couro (ARAUJO et al., 2013).

O lodo de curtume é um subproduto final do processo produtivo curtumeiro, caracterizado por apresentar alta concentração de elementos químicos, em especial o cromo (Cr) (ROCHA et al., 2018), que possui alta carga poluente para todos os níveis tróficos da cadeia alimentar (ADHIKARI et al., 2020).

Com diferentes ordem de magnitudes para as concentrações do cromo na composição que podem variar de 44,900 mg/ kg<sup>-1</sup> (ALIBBAD; CURS, 2016), até 19,229 mg/kg<sup>-1</sup> (JUEL et al., 2017) em lodo de curtume seco quando proveniente da produção de couro do tipo *West-blue*, que é caracterizado por ter como produto peças já prontas para serem submetidos a tingimentos, recurtimento e acabamento, sendo que cerca de 98% dos couros produzidos no Brasil são curtidos com sais de cromo.

No entanto existem outras formas de obtenção de couro que independem do uso de metais nos seus processos de transformação como o couro *West-White* e *West- brown* resultantes do emprego de extratos tanantes vegetais ou sintéticos com grupos reativos na estrutura proteica. Também pode-se fazer o curtimento com taninos naturais para obtenção de couros pesados, como couros industriais e solas. Os produtos inorgânicos mais utilizados como curtentes são os sais de cromo, de zircônio, de alumínio e de ferro, e os produtos orgânicos utilizados são os curtentes vegetais, curtentes sintéticos, aldeídos e parafinas sulfocloradas (CICB, 2012).

Destaca-se que o Cr não tem nenhum papel biológico conhecido na fisiologia e metabolismo bioquímico das plantas (REALE et al., 2016). Sendo que altas concentrações do elemento pode causar redução no crescimento das plantas e ao mesmo tempo, acumular o metal nos tecidos vegetais (ALI et al., 2015; FAROOQ et al., 2016; REALE et al., 2016), além de afetar processos metabólicos essenciais ao desenvolvimento das espécies vegetais tais como, fotossíntese (CHEN et al., 2018) e a fixação de carbono (SINGH et al., 2013).

No interior da planta o Cr pode causar estresse oxidativo, provocando danos, alterações no comprimento de raiz e morte celular (GUPTA et al., 2019). Além disso após a entrada de Cr pelas raízes, o transporte por translocação para os tecidos ocorre muito lentamente, razão pela qual o Cr é retido preferencialmente na raiz (SHING et al., 2013).

Embora o LC apresente efeitos poluentes devido a presença de Cr na sua composição, ele possui aplicabilidade do ponto de vista agrônomo, pois contém uma considerável carga de compostos orgânicos e carbonatos (ARAUJO et al., 2015) que podem contribuir para o bom desenvolvimento das plantas (SOUSA et al., 2018) e como condicionador de solo (SHARMA et al., 2017). Porém, para que seja utilizado como fonte nutricional, ele precisa passar por um processo de compostagem, visando a redução de seu efeito tóxico que ocorre através da ação dos organismos do solo que atuam na decomposição do material orgânico (SOUSA et al., 2017). Estudos prévios tem demonstrado melhorias na fertilidade do solo e crescimento das plantas com a aplicação de lodo de curtume compostado (LCC) (SOUSA et al., 2018; BORGES et al., 2007; MALAFAIA et al., 2016). Respostas positivas tem sido listadas sobre seu uso nas mais variadas culturas como rabanete (NABAVINIA et al. 2015), café (BERILLI et al., 2018) feijão-caupi (GONÇALVES et al., 2014) e milho (SOUSA et al., 2018).

Entretanto, ainda assim o LCC tende a apresentar Cr na sua composição e aplicações permanentes deste composto podem levar ao acúmulo de grandes teores do metal (SOUSA et al., 2018) e também aumentar o pH e a salinidade do solo (SOUSA et al., 2017; ARAUJO et al., 2013; BERILLI et al., 2014). Em particular, o Cr pode ser absorvido pela microbiota benéfica do solo, causando efeito em sua composição, assim como pelas plantas, nas quais altera as



funções fisiológicas (STAMBULSKA et al., 2018) prejudicando assim o seu desenvolvimento.

No entanto algumas propriedades do solo podem contribuir para atenuar o efeito negativo de metais, como o pH do solo que altera a solubilidade e as formas do metal (ASHRAF et al., 2017), uma vez que valores de pH abaixo de 5,5 favorece a formação de Cr (III), devido ao potencial redox, reduzindo a toxicidade do elemento (LIU et al., 2019). Assim como a matéria orgânica (MO) desempenha um papel importante no controle da mobilidade, biodisponibilidade e sorção de Cr e outros metais no solo, sabendo-se que altos teores de MO podem reduzir também a toxicidade do Cr (SHAHID et al., 2012; 2013).

Visando reduzir os efeitos negativos do acúmulo do Cr, alguns microrganismos promotores de crescimento tem sido utilizados como biorremediadores de metais pesados no solo, como bactérias do gênero *Bacillus* sp. (LIU et al., 2019), *Pseudomonas* sp.; WU et al., (2016). Esses microrganismos também podem potencializar e melhorar a aplicação do LCC, tornando possível seu uso sem ocasionar grandes efeitos deletérios, como o acúmulo do cromo nas plantas (ROCHA et al., 2019).

## **2.2 Ação de bactérias promotoras de crescimento de plantas (BPCP) em ambiente contaminado por Cromo.**

A pressão ambiental do solo pode selecionar bactérias capazes de desenvolver interações complexas com outros microrganismos do solo e plantas (SALEEM; MOE, 2014) principalmente quando em condições adversas. Dentre estas condições, a contaminação do solo por metais pesados com destaque para o cromo pode afetar a diversidade de bactérias colonizadoras de raízes (MIRANDA et al., 2018).

De modo geral, várias são os grupos bacterianos identificados com potencial de degradação de Cromo (SAHID et al., 2017). Dentre estes encontram-se bactérias conhecidas como promotoras de crescimento de plantas (BPCPs), que apresentam características promissoras na atenuação dos efeitos dos metais nas espécies vegetais (ROCHA et al., 2018).

As BPCPs mais estudadas em condições de estresses ambientais são as *Pseudomonas*, *Bacillus*, *Streptomyces*, *Rhizobium*, *Bradyrhizobium*,

*Acetobacter*, *Agrobacterium*, *Enterobacter* e *Burkholderia* (MARIANO et al., 2004). Estas bactérias, quando associadas às raízes das plantas, podem reduzir os efeitos da contaminação (GREIPSSON, 2011), por metais no solo (ALI et al., 2013).

Na literatura existem vários estudos que listam a ação de bactérias na atenuação de metais pesados tais como: *Bacillus sp.*, *Pseudomonas fluorescens*, *Sporosarcina saromensis* e *Leucobacter chromiireducens* (JOUTEY et al., 2016; RAN et al., 2016); *Sporosarcina saromensis* (RAN et al., 2016), *Pseudomonas putida* (KAMRAN et al., 2016), *Microbacterium sp.* (SONI et al., 2014), *Arthrobacter sp.* (ROSALES et al., 2012), *Intrasporangium sp.* (LIU et al., 2012).

Esses microrganismos possuem diferentes mecanismos de redução da toxicidade dos metais, tais como o cromo no solo e em plantas onde podem ser citados a biossorção, biolixiviação, imobilização, acúmulo intracelular e transformações catalizadas por enzimas (DIXIT et al., 2015). A comunidade microbiana reduz o Cr da sua forma mais tóxica a uma menos nociva, o que provocará a estabilização do metal no solo e consequente diminuição da sua transferência para as culturas (SHAHID et al., 2017).

No entanto faz-se importante ressaltar que os processos de redução do cromo para formas menos nocivas é muito variante em função das cepas bacterianas (DHALL et al., 2010), da concentração de cromo existente, assim como das propriedades físico-químicas do solo (SHAHID et al., 2017; JOUTEY et al., 2016).

Além disso alguns microrganismos podem sintetizar substâncias extracelulares, como exopolissacarídeos (EPs) (PRAJAPATI et al., 2013) que atuam na defesa contra estressores ambientais (YILDIZ; KARATAS, 2018; ANTUNES et al., 2017). Os EPs permitem que as bactérias consigam sobreviver em ambientes com elevada toxicidade por metal, pois algumas espécies são capazes de reduzir e/ou acumular-nos nesta rede polimérica (KARTHIK et al., 2017) como por exemplo o gênero *rhizobium sp.* (SÁ et al., 2019).

Estudos demonstram que o aumento da produção de algumas proteínas específicas por bactérias são observadas como forma de combater o estresse

metálico (Van Bogelen et al, 1987). Assim os microrganismos que possuem a capacidade de produção de exopolissacarídeos tem um papel significativo na manutenção da saúde e qualidade do solo em áreas contaminadas (WEZEL et al., 2014).

Ademais alguns indicadores de qualidade do solo podem auxiliar na compreensão de como se dar o comportamento da biomassa microbiana quando em situação de estresse por metais pesados, como por exemplo a atividade enzimática e o carbono da biomassa microbiana (FEIZE et al., 2020).

### **2.3 Influência do Cr na Biomassa microbiana do solo.**

A biomassa microbiana do solo (BMS) compreende a parte viva e mais ativa da matéria orgânica (SPARLING, 1992), sendo determinada como o agente de transformações bioquímicas no solo (WARDLE, 1994), funcionando assim como depósito de nutrientes tanto para as comunidades microbianas futuras, como para as plantas (BROOKES et al., 2001).

Além disso constitui uma forte indicadora de alterações no equilíbrio do sistema (SMITH; PAUL., 1990), uma vez que os micróbios do solo desempenham papéis significativos na reciclagem de nutrientes das plantas, manutenção da estrutura do solo, desintoxicação de produtos químicos nocivos e no controle de pragas e crescimento das plantas (ZHENG et al., 2010). Com isso, os microrganismos do solo por possuírem uma maior sensibilidade aos estresses ambientais, podem ser utilizados na percepção de mudanças no ecossistema, quando comparado aos demais organismos inseridos nas mesmas condições de contaminação (ZHANG et al., 2016).

Diversos fatores podem acarretar interferência tanto quantitativa como qualitativa na biomassa microbiana do solo. Dentre eles, pode-se destacar a quantidade e disponibilidade de substrato orgânico, fatores bióticos como temperatura, umidade e aeração; disponibilidade de nutrientes, assim como a presença de metais pesados no ambiente (MOREIRA; SIQUEIRA, 2002; FRANCHINI et al., 2007).

Esses fatores de alterações do meio promovem uma rápida mudança no comportamento desses microrganismos visando principalmente sua sobrevivência, acarretando uma modificação dos mecanismos adaptativos das

comunidades microbianas em termos de abundância, diversidade e estrutura (SANTOS et al., 2012; SHEIK et al., 2012).

Estudos têm mostrado que a exposição a longo prazo a metais tóxicos pode ocasionar uma redução da diversidade microbiana e das atividades destes no solo (ZHANG et al., 2010), como por exemplo causar influencia na concentração de carbono da biomassa microbiana (FEIZI et al., 2020).

Impactos causados pela presença de metais pesados têm sido demonstrados por pesquisadores ao longo do tempo, como efeitos adversos na biomassa microbiana (BRETON et al., 2013; SILVA et al., 2014; DENG et al., 2015; ARAÚJO et al., 2016) e na estrutura da comunidade (XU et al., 2009; ZHU et al., 2013; AHEMAD et al., 2015). Isso significa, que qualquer mudança qualitativa ou quantitativa no solo causadas pela poluição por metais pesados se traduz em distúrbios no funcionamento da biomassa microbiana e por consequência do ecossistema (STEFHANOWICZ et al., 2019).

Destaca-se que áreas que recebem material enriquecido com cromo, como é o caso daquelas usadas para descarte de lodo de curtume compostado, tendem a apresentar uma maior restrição e/ou modificação da comunidade microbiana existente ao longo do tempo (MIRANDA et al., 2018), que vão desde redução ao total desaparecimento de alguns grupos bacterianos existentes nestes locais contaminados (CHODAK et al., 2013). No entanto, os mecanismos adaptativos como adsorção e acumulação de metais pesados; secreção microbiana de enzimas e metabolitos bioativos (isto é, substâncias poliméricas extracelular, sideróforos e ácidos orgânicos) como exopolissacarídeos (PANDA et al., 2020; KODAMALA et al., 2018), tendem a ser rotas utilizadas por esses microrganismos como medida para diminuir a toxicidade, eles alteram o estado redox dos elementos tóxicos e aumentando a complexação e a biodisponibilidade dos metais (HAO et al., 2014) garantindo assim a resistência desses microrganismos no meio contaminado.

Mesmo dispondo de mecanismos adaptativos, os efeitos causados pelo estresse metálico na biomassa microbiana pode acarretar a inibição de funções específicas de alguns grupos de microrganismos (MIRANDA et al., 2014). Podem também comprometer a funcionalidade de espécies fundamentais a processos

como a mineralização, fixação biológica de nitrogênio e desnitrificação, que se categorizam como funções primordiais para o equilíbrio do ambiente (DENG et al., 2015; DUAN et al., 2018).

Além disso, podem afetar a existência de algumas comunidades raras (GANS et al., 2007), reduzir a atividade enzimática, a diversidade funcional, causar alteração na estrutura taxonômica ou aumentar a tolerância da comunidade (STEFANOWICZ et al., 2019; AZARBAD et al., 2013; CHEN et al., 2013; GUO et al., 2017). Estudos ainda relatam que microrganismos no solo sob estresse de metais pesados desviam energia do crescimento para funções de manutenção celular (FEIZE et al., 2020).

Vale destacar que a dinâmica da biomassa microbiana do solo é regida pela dinâmica da matéria orgânica existente (WARDLE et al., 1995). Assim observa-se que Actinobacteria, Proteobacteria e Firmicutes apresentam-se como grupos importantes de microrganismos nativos com capacidade de estabelecer-se em ambientes com altas concentrações de material orgânico, inorgânico e metais pesados no solo (POLTI et al., 2014).

Sob estas condições, pode-se perceber que ocorrem mudanças na concentração de alguns elementos como por exemplo o aumento do conteúdo de carbono e nitrogênio no solo quando feito o emprego de lodo de curtume compostado. Isso pode ser justificado pela ação dos microrganismos sob o conteúdo de matéria orgânica presente no material (ARAÚJO et al., 2016).

No entanto, vale ressaltar que mesmo quando o material é submetido a processo de compostagem, as altas concentrações de Zinco, Cromo e Cádmio, podem favorecer a redução da diversidade da biomassa microbiana (SCHERER et al., 2011). Ambientes contaminados com lodo de curtume compostado podem também apresentar modificação nas atividades enzimáticas desempenhadas pelos microrganismos do solo, como a diminuição da atividade da desidrogenase (DHA) e da diacetato de fluoresceína (FDA) (SANTOS et al., 2011).

Assim, o conhecimento da ação do lodo de curtume compostado na atividade de biomassa microbiana e enzimas é importante para entender e elucidar as consequências de alterações da qualidade do solo (LIU et al., 2020). Assim, entender o comportamento dos microrganismos e favorecer a

identificação da sua capacidade de biodegradar como podem colaborar significativamente com o aperfeiçoamento das técnicas de biorremediação (LI et al., 2020).

## REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

ADHIKARI, A.; ADHIKARI, S.; GHOSH, S.; AZAHAR, I.; SHAW, A. K. ROY, D.; ROY, S.; SAHA, S.; HOSSAIN, Z. Imbalance of redox homeostasis and antioxidant defense status in maize under chromium (VI) stress. **Environmental and Experimental Botany**, v. 169, p. 103-873,2020.

AHEMAD, M. Enhancing phytoremediation of chromium-stressed soils through plant-growth-promoting bacteria. **Journal of Genetic Engineering and Biotechnology**, v. 13, p. 51-58, 2015.

ALI, S.; CHAUDHARY, A.; RIZWAN, M.; ANWAR, H.T.; ADREES, M.; FARID, M.; IRSHAD, M.K.; HAYAT, T.; ANJUM, S.A. Alleviation of chromium toxicity by glycinebetaine is related to elevated antioxidant enzymes and suppressed chromium uptake and oxidative stress in wheat (*Triticum aestivum* L.). **Environmental Science Pollutions Research**. v.22, p. 10669- 10678, 2015.

ALI, S.; FAROOQ, M.A.; YASMEEN, T.; HUSSAIN, S.; ARIF, M.S.; ABBAS, F.; BHARWANA, S.A.; ZHANG, G. The influence of silicon on barley growth, photosynthesis and ultra-structure under chromium stress. **Ecotoxicology Environmental Safety**. V. 89, p. 66- 72, 2013.

ALIBARDI, L.; COSSU, R. Pre-treatment of tannery sludge for sustainable landfilling. **Waste Management**, v. 52, p. 202–211. 2016.

ANTUNES, J. E. L.; LYRA, M. C. C. P.; OLLERO, F. J.; FREITAS, A. D. S.; OLIVEIRA, L. M. S.; ARAÚJO, A. S. F.; FIGUEIREDO, M. V. B. Diversity of plant growth-promoting bacteria associated with sugarcane. **Genetics and Molecular Research**, n. 16, 2017.

ARAUJO, A. S. F.; DE MELO, W. J.; ARAUJO, F. F.; VAN DEN BRINK, P. J. Long-term effect of composted tannery sludge on soil chemical and biological parameters. **Environmental Science and Pollution Research**, 8 p, 2020

ARAUJO, A. S. F.; LIMA, L. M.; SANTOS, V. M.; SCHMIDT, R. Repeated application of composted tannery sludge affects differently soil microbial biomass, enzymes activity, and ammonia-oxidizing organisms. **Environmental Science and Pollution Research**, v. 23, p.19193–19200, 2016.

ARAUJO, A. S. F.; MELO, W. J.; SINGH, R. P. Municipal solid waste compost amendment in agricultural soil: changes in soil microbial biomass. **Reviews in Environmental Science and Biotechnology**, v 9, p.41–49, 2010.

ARAUJO, A. S. F.; MIRANDA, A. R. R.; OLIVEIRA, M. L. J.; SANTOS, V. M; NUNES, L. A. P. L.; MELO, W. J. Soil microbial properties after 5 years of consecutive amendment with composted tannery sludge. **Environmental Monitoring and Assessment**, v. 187, p. 4153-4160, 2015.

ARAUJO, A. S. F.; SILVA, M. D. M.; LEITE, L. F. C.; ARAUJO, F. F.; DIAS, N. S. Soil pH, electric conductivity and organic matter after three years of consecutive

amendment of composted tannery sludge. **African Journal of Agricultural Research**, v. 8, n. 14, p. 1204-1208, 2013.

ASHRAF, A.; BIBI, I.; NIAZI, N. K.; OK, Y. S.; MURTAZA, G.; SHAHID, M.; KUNHIKRISHNAN, A.; LI, D.; MAHMOOD, T. Chromium(VI) sorption efficiency of acid-activated banana peel over organo-montmorillonite in aqueous solutions. **International Journal of Phytoremediation**, v. 19, p. 605–613, 2017.

AZARBAD, H.; NIKLI\_NSKA, M.; VAN GESTEL, C. A. M.; VAN STRAALLEN, N. M.; REOLING, W. F. M.; LASKOWSKI, R. Microbial community structure and functioning along metal pollution gradients. **Environmental Toxicology and Chemistry**, v.32, p. 1992-2002, 2013.

BERILLI, S. S.; MARTINELLI, L.; FERRAZ, T. M.; FIGUEIREDO, F. A. M. M. A.; RODRIGUES, W. P.; BERILLI, A. P. C. G.; SALES, R. A.; FREITAS, S. J. Substrate Stabilization Using Humus with Tannery Sludge in Conilon Coffee Seedlings. **Journal of Experimental Agriculture International**, v. 21, n. 1, p. 1-10, 2018.

BERILLI, S. S.; QUIUQUI, J. P. C.; REMBINSKI, J.; SALLA, P. H. H.; GABRIEL BERILLI, A. P. C.; LOUZADA, J. M. Utilização de lodo de curtume como substrato alternativo para a produção de mudas de café conilon. **Coffee Science**, v. 9, n. 4, p. 472-479, 2014.

BORGES, J. D.; BARROS, R. G.; SOUZA, E. R. B.; OLIVEIRA-JÚNIOR, J. P.; LEANDRO, W. M.; OLIVEIRA, I. P.; CARNEIRO, M. F.; NAVEZ, R. V.; SONNENBERG, N. E. Teores de micronutrientes nas folhas de milho fertilizadas com lodo de curtume. **Bioscience Journal**, v. 23, n. 2, p. 1-6, 2007.

BRETON, J.; MASSART, S.; VANDAMME, P.; BRANDT, E. D.; POT, B.; FOLIGNÉ, B. Ecotoxicology inside the gut: impact of heavy metals on the mouse microbiome. **BMC Pharmacology & Toxicology**, v. 14, n. 62, 2013.

BROOKES, P. The soil microbial biomass: concept, measurement and applications in soil ecosystem research. **Microbiology Environmental**, v.16, p. 131–140, 2001.

CARDOSO, E. J. B. N.; VASCONCELLOS, R. L. F.; BINI, D.; MIYAUCHI, M. Y. H.; SANTOS, C. A.; ALVES, P. R. L.; PAULA, A. M.; NAKATANI, A. S.; PEREIRA, J. M.; NOGUEIRA, M. A. Soil health: looking for suitable indicators. What should be considered to assess the effects of use and management on soil health. **Scientia Agricola**, v.70, p. 274–289, 2013.

**CENTRO DAS INDUSTRIAS CURTUMEIRAS DO BRASIL**. MDIC/ SECEX - ELABORADO PELO CICB, 2020. Disponível em: << [http:// cicb.org.br/storage/files/repositories/php00e4wn-total-impo-jan2020.pdf](http://cicb.org.br/storage/files/repositories/php00e4wn-total-impo-jan2020.pdf)>>. Acesso em 12. jul. 2020.

CHEN, J.; HE, F.; ZHANG, X.; SUN, X.; ZHENG, J.; ZHENG, J. Heavy metal pollution decreases microbial abundance, diversity and activity within particle-



size fractions of a paddy soil. **FEMS Microbiology Ecology**, v. 87, p. 164-181, 2013.

CHEN, Y. E.; MAO, H. T.; MA, J.; WU, N.; ZHANG, C.M.; SU, Y.Q.; ZHANG, Z. W.; YUAN, M.; ZHANG, H.Y.; ZENG, X.Y.; YUAN, S. Biomonitoring chromium III or VI soluble pollution by moss chlorophyll fluorescence, **Chemosphere**, v. 194, p. 220-22, 2018.

CHODAK, M.; GOLEBIEWSKI, M.; MORAWSKA-PLOSKONKA, J.; KUDUK, K.; NIKLIŃSKA, M. Diversity of microorganisms from forest soils differently polluted with heavy metals. **Applied Soil Ecology**, v. 64, p. 7–14, 2013.

DALVI, A. A.; BHALERAO, S. A. Response of plants towards heavy metal toxicity: an overview of avoidance, tolerance and uptake mechanism. **Annals Plant Science**. v.2, p. 362-368, 2013.

DENG, L. Response of rhizosphere microbial community structure and diversity to heavy metal co-pollution in arable soil. **Applied Microbiology and Biotechnology**, v. 99, p. 8259-8269, 2015.

DENG, L.; ZENG, G.; FAN, C.; LU, L.; CHEN, X.; CHEN, M.; WU, H.; HE, X.; HE, Y. Response of rhizosphere microbial community structure and diversity to heavy metal co-pollution in arable soil. **Applied Microbiology Biotechnology**, v.99, p. 8259-8269, 2015.

DHAL, B.; THATOI, H.; DAS, N.; PANDEY, B. D. Reduction of hexavalent chromium by *Bacillus sp.* isolated from chromite mine soils and characterization of reduced product. **Journal Chemical Technology and Biotechnology**, v. 85, p. 1471-1479, 2010.

DIXIT, R.; MALAVIYA, D.; PANDIYAN, K.; SINGH, U. B.; SAHU, A.; SHUKLA, R.; PAUL, D. Bioremediation of heavy metals from soil and aquatic environment: an overview of principles and criteria of fundamental processes. **Sustainability**. v. 7, n.2, p. 2189-2212, 2015.

DUAN, C.; FANG, L.; YANG, C.; CHEN, W.; CUI, Y.; LI, S. Reveal the response of enzyme activities to heavy metals through in situ zymography. **Ecotoxicology Environmental Safety**, v. 156, p.106-115, 2018.

FAROOQ, M.; ALI, S.; HAMEED, A.; BHARWANA, S.; RIZWAN, M.; ISHAQUE, W.; FARID, M.; MAHMOOD, K.; IQBAL, Z. Cadmium stress in cotton seedlings: physiological, photosynthesis and oxidative damages alleviated by glycinebetaine. **Science African Journal Botanic**, v. 104, p. 61-68, 2016.

FEYZI, H.; CHOROM, M.; BAGHERI, G. Urease activity and microbial biomass of carbon in hydrocarbon contaminated soils. A case study of cheshmeh-khosh oil field, Iran. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, n. 199, 2020.

FRANCHINI, J. C.; CRISPINO, C.C.; SOUZA, R. A.; TORRES, E.; HUNGRIA, M. Microbiological parameters as indicators of soil quality under various tillage and crop rotation system in Southern Brazil. **Soil e Tillage Research**, v.92, p. 18-29, 2007.

GANS, J.; WOLINSKY, M.; DUNBAR, J. Computation improvements reveal great bacterial diversity and high metal toxicity in soil. **Science**, v. 309, p.1387-1390, 2005.

GONÇALVES, I. C. R.; ARAÚJO, A. S. F.; NUNES, L. A. P. L.; BEZERRA, A. A. C.; MELO, W. J. Heavy metals and yield of cowpea cultivated under composted tannery sludge amendment. **Acta Scientiarum Agronomy**, v. 36, n. 4, p. 443-448, 2014.

GUIMARAES, W. P.; ARAÚJO, A. S. F.; OLIVEIRA, M. L. J.; ARAÚJO, F. F.; MELO, W. J. Efeito residual de lodo de curtume compostado sobre os teores de cromo e produtividade do milho verde. **Científica**, v. 43, n.1, p.37– 42, 2015.

GUO, H.; NASIR, M.; LV, J.; DAI, Y.; GAO, J. Understanding the variation of microbial community in heavy metals contaminated soil using high throughput sequencing. **Environmental Toxicology and Chemistry**, v.144, p. 300-306, 2017.

GUPTA, P.; KUMAR, V.; USMANI, Z.; RANI, R.; CHANDRA, A.; GUPTA, V. K. Implications of plant growth promoting *Klebsiella sp.* CPSB4 and *Enterobacter sp.* CPSB49 in luxuriant growth of tomato plants under chromium stress. **Chemosphere**, p.124-944, 2019.

HAO, X.; TAGHAVI, S.; XIE, P.; ORBACH, M. J.; ALWATHNANI, H. A.; RENSING, C. Phytoremediation of heavy and transition metals aided by legume-rhizobia symbiosis. **International Journal of Phytoremediation**, v. 16, p. 179–202, 2014.

Hoinacki, E.; Moreira, M. V.; Kiefer, C. G. – Manual Básico do Processamento do Couro. **Senai**, 1994.

JOUTEY, N. T.; BAHAFID, W.; SAYEL, H.; NASSEF, S.; EL GHACHTOULI, N. *Leucobacter chromiireducens* CRB2, a new strain with high Cr(VI) reduction potential isolated from tannery-contaminated soil (Fez, Morocco). **Annals of Microbiology**, v. 66, p. 425–436, 2016.

JUEL, M. A. I.; MIZAN, A.; AHMED, T. Sustainable use of tannery sludge in brick manufacturing in Bangladesh. **Waste Management**, v. 60, p. 259–269. 2017.

KODAMALA, K. R.; SARDAR, U. R.; BHARGAVI, E.; DEVI, I.; BHUNIA, B.; & TIWARI, O. N. Advances in exopolysaccharides based bioremediation of heavy metals in soil and water: A critical review. **Carbohydrate Polymers**, v.199, p.353–364, 2018.

KAMRAN, M. A.; EQANI, S. A. M. A. S.; KATSOYIANNIS, A.; XU, R. K.; BIBI, S.; BENIZRI, E.; CHAUDHARY, H. J. Phytoextraction of chromium (Cr) and influence of *Pseudomonas putida* on *Eruca sativa* growth. **J. Geochem. Explor.** 2016. [http:// dx.doi.org/10.1016/j.gexplo.2016.09.005](http://dx.doi.org/10.1016/j.gexplo.2016.09.005).

KARTHIK, C.; OVES, M.; SATHYA, K.; RAMKUMAR, V. I.; ARULSELVI, P.I. Isolation and characterization of multi-potential *Rhizobium* strain ND2 and its

plant growth promoting activities under Cr(VI) stress. **Archives of Agronomy and Soil Science**, v. 63, p. 1058-1069, 2017.

LI, Q.; YOU, P.; HU, Q.; LENG, B.; WANG, J.; CHEN, J.; OUYANG, K. Effects of co-contamination of heavy metals and total petroleum hydrocarbons on soil bacterial community and function network reconstitution. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, 204, 10 p, 2020.

LIU, B.; SU, G.; YANG, Y.; YAO, Y.; HUANG, Y.; HU, L.; ZHONG, H.; HE, Z. Vertical distribution of microbial communities in chromium-contaminated soil and isolation of Cr(VI)-Reducing strains. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 180, p.242–251, 2019.

LIU, C.; LIN, H.; LI, B.; DONG, Y.; YIN, T. Responses of microbial communities and metabolic activities in the rhizosphere during phytoremediation of Cd-contaminated soil. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 202, p.110-958, 2020.

LIU, J.; LU, Z.; YANG, J.; XING, M.; YU, F.; GUO, M. Effect of earthworms on the performance and microbial communities of excess sludge treatment process in vermifilter. **Bioresourch Technology**, v.117, p. 214–221, 2012.

MALAFAIA, G.; ARAÚJO, F. G.; COSTA ESTRELA, D.; GUIMARÃES, A. T. B.; LEANDRO, W. M.; LIMA RODRIGUES, A. S. Corn production in soil containing in natura tannery sludge and irrigated with domestic wastewater. **Agricultural Water Management**, v.163, p. 211-218, 2016.

MARIANO, R.L.R.; SILVEIRA, E.B.; ASSIS, S.M.P.; GOMES, A.M.A.; NASCIMENTO, A.R.; DONATO, V.M.T.S. Importância de bactérias promotoras de crescimento e de biocontrole de doenças de plantas para uma agricultura sustentável. **Anais da Academia Pernambucana de Ciência Agrônômica**, v.1, p. 89-111, 2004.

MIRANDA, A. R. L.; MENDES, L. W.; ROCHA, S. M. B.; VAN DEN BRINK, P. J; BEZERRA, W. M.; MELO, V. M. M.; ARAUJO, A. S. F. Responses of soil bacterial community after seventh yearly applications of composted tannery sludge. **Geoderma**, v. 318, p. 1-8, 2018.

MIRANDA, A. R. L.; NUNES, L. A. P. L.; OLIVEIRA, M. L. J.; MELO, W. J.; ARAÚJO, A. S. F. Growth and nodulation of cowpea after 5 years of consecutive composted tannery sludge amendment. **Spanish Journal of Agricultural Research**, v.12, p.1175-1179, 2014.

MOREIRA, F.M. S.; SIQUEIRA, J. O. Microbiologia e Bioquímica do Solo. 2. ed. Atualizada e ampliada. **Ufla**, p. 729, 2002.

NABAVINIA, F.; EMAMI, H.; ASTARAE, A.; LAKZIAN, A. Effect of tannery wastes and biochar on soil chemical and physicochemical properties and growth traits of radish. **International Agrophysics**, v. 39, p. 333-339, 2015.

OLIVEIRA, J.; FIGUEIREDO, M.; SILVA, M.; MALTA, M.; VENDRUSCOLO, C.; ALMEIDA, H. Production of Extracellular Biopolymers and Identification of Intracellular Proteins and *Rhizobium tropici*. **Current Microbiology**, v. 65, p. 686–691, 2012.

OLIVEIRA, M. L. J.; ARAUJO, S. A. F. DE; MELO, W. J. DE. Chromium in soil organic matter and cowpea after four consecutive annual applications of soil. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v. 39, n. 1, p. 297–302, 2015.

OLIVEIRA, M. L. J.; ARAUJO, S. A. F.; MELO, W. J. Chromium in soil organic matter and cowpea after four consecutive annual applications of. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v. 39, n. 1, p. 297–302, 2015.

PANDA, R.; DAS, M.; NAYAK, S. K. Estimation and optimization of exopolysaccharide production from rice rhizospheric soil and its interaction with soil carbon pools. **Rhizosphere**, p.100-206, 2020.

PIRES, A. M. M.; MATTIAZZO, M. E. **Avaliação da Viabilidade do Uso de Resíduos na Agricultura**. Circular Técnica 19. **EMBRAPA**, v.14, n.4, 9 p, 2009.

POLTI A. M.; APARICIO, J. D.; BENIMELI, C.S.; AMOROSO, M. J. Simultaneous bioremediation of chromium (VI) and lindane in soil by actinobacteria. **International Biodeterioration and Degradation**, v. 88, p. 48-55, 2014.

PRAJAPATI, V. D.; JANI, G. K.; KHANDA, S. M. Pullulan: An exopolysaccharide and its various applications. **Carbohydrate Polymers**, v. 95, p. 540–549, 2013.

RAN, Z.; BI, W.; TAO, C. Q.; XIA, L. X.; MIN, L.; DONG, H.; BEI, G. D.; JUAN, W.; CHUN, F. Bioremediation of Hexavalent Chromium Pollution by *Sporosarcina saromensis* M52 Isolated from Offshore Sediments in Xiamen, China. *Biomedicine Environmental Science*, v.29, p.127-136, 2016.

REALE, L.; FERRANTI, F.; MANTILACCI, S.; CORBOLI, M.; AVERSA, S.; LANDUCCI, F.; BALDISSEROTTO, C.; FERRONI, L.; PANCALDI, S.; VENANZONI, R. Cyto-histological and morpho-physiological responses of common duckweed (*Lemna minor* L.) to chromium. **Chemosphere** 145, 98-105, 2016.

ROCHA, S. M. B.; ANTUNES, J. E. L.; SILVA, A. V. C. R.; OLIVEIRA, L. M. S.; AQUINO, J. P. A.; MELO, W. J.; FIGUEIREDO, M.V. B.; ARAUJO, A.S. F. Nodulation, nitrogen uptake and growth of lima bean in a composted tannery sludge-treated soil. **Ciência Rural**, Santa Maria, v.49:11, 2019.

ROCHA, S. M. B.; MENDES, L. W.; OLIVEIRA, L. M. D. S.; MELO, V. M. M.; ANTUNES, J. E. L.; ARAUJO, F. F.; ARAUJO, A. S. F. Nodule microbiome from cowpea and lima bean grown in composted tannery sludge-treated soil. **Applied Soil Ecology**, v.151, p.103- 542, 2020.

ROCHA, S. M. B.; ANTUNES, J. E. L.; SILVA, A. V. C. R.; OLIVEIRA, L. M. S.; AQUINO, J. P. A.; MELO, W. J.; FIGUEIREDO, M.V. B.; ARAUJO, A.S. F. Nodulation, nitrogen uptake and growth of lima bean in a composted tannery sludge-treated soil. **Ciência Rural**, v.49, p.11, 2019.

SÁ, C.; MATOS, D.; PIRES, A.; CARDOSO, P.; FIGUEIRA, E. Airborne exposure of *Rhizobium leguminosarum* strain E20-8 to volatile monoterpenes:

effects on cells challenged by cadmium. **Journal of Hazardous Materials**, v. 12, p. 1783, 2019.

SALEEM, M.; MOE, L. A. Multitrophic microbial interactions for eco and agrobiotechnological processes: theory and practice. **Trends Biotechnology**, v. 32, p.529–537, 2014.

SANTOS, J. A.; NUNES, L. A. P. L.; MELO, W. J.; FIGUEIREDO, M. B. V.; SINGH, R. P.; BEZERRA, A. A. C.; ARAÚJO, A. S. F. Growth, nodulation and nitrogen fixation of cowpea in soils amended with composted tannery sludge. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v. 35, n. 6, p. 1865-1871, 2011.

SCHERER, H. W.; METKER, D.J.; WELP, G. Effect of long-term organic amendments on chemical and microbial properties of a luvisol. **Plant Soil Environment**, v. 57, p. 513-518, 2011.

SHAHID, M.; PINELLI, E.; DUMAT, C. Review of Pb availability and toxicity to plants in relation with metal speciation; role of synthetic and natural organic ligands. **Journal of Hazardous Materials**, v. 219-220, p.1–12, 2012. doi:10.1016/j.jhazmat.2012.01.060.

SHAHID, M.; PINELLI, E.; DUMAT, C. Review of Pb availability and toxicity to plants in relation with metal speciation; role of synthetic and natural organic ligands. **Journal of Hazardous Materials**, v. 219-220, p.1–12, 2012.

SHAHID, M.; SHAMSHAD, S.; RAFIQ, M.; KHALID, S.; BIBI, I.; NIAZI, N. K.; RASHID, M. I. Chromium speciation, bioavailability, uptake, toxicity and detoxification in soil plant system: A review. **Chemosphere**, v. 178, p.513, 2017.

SHAHID, M.; XIONG, T.; CASTREC-ROUELLE, M.; LEVEQUE, T.; DUMAT, C. Water extraction kinetics of metals, arsenic and dissolved organic carbon from industrial contaminated poplar leaves. **Journal of Environmental Sciences**, v. 25, n, 12, p. 2451–2459, 2013. doi:10.1016/s1001-0742(12)60197-1.

SHARMA, B.; SARKAR, A.; SINGH, P.; SINGH, R. P. Agricultural utilization of biosolids: A review on potential effects on soil and plant grown. **Waste Management**, v.64, p.117-132, 2017.

SHEIK, CODY S.; MITCHELL, T. W.; RIZVI, FARIHA, Z.; REHMAN, Y. F. M. H. S. M.; MICHAEL, J.; KRUMHOLZ, L. R. Exposure of soil microbial communities to chromium and arsenic alters their diversity and structure. **PLoS One** 7, e. 40059, 2012.

SILVA, M. D. M.; BARAJAS-ACEVES, M.; ARAÚJO, A. S. F.; ARAÚJO, F. F.; MELO, W. J. Soil microbial biomass after three years of consecutive composted tannery sludge amendment. **Pedosphere**, v. 24, p. 469–475, 2014.

SINGH, H. P.; MAHAJAN, P.; KAUR, S.; BATISH, D. R.; KOHLI, R. K. Chromium toxicity and tolerance in plants. **Environ. Chem. Lett.** 11, 229e254, 2013.

SINGH, R. P.; SINGH, P.; ARAUJO, A. S. F.; IBRAHIM, M. H.; SULAIMAN, O. Management of urban solid waste: Vermicomposting a sustainable option. **Resources, Conservation & Recycling Journal**, v. 55, p. 719–729, 2011.

SMITH, J. L.; PAUL, E. A. The significance of soil microbial biomass estimations. In: BOLLAG, J.; STOTZKY, G. **Soil Biology & Biochemistry**, v. 6, p. 357- 396, 1990.

SONI, S. K.; SINGH, R.; AWASTHI, A.; KALRA, A.A. Cr (VI) - reducing *Microbacterium* sp. strain SUCR140 enhances growth and yield of *Zea mays* in Cr(VI) amended soil through reduced chromium toxicity and improves colonization of arbuscular mycorrhizal fungi. **Environmental Science Pollutions Research**, v. 21, p.1971–1979, 2014.

SOUSA, R. S.; NUNES, L. A. P. L.; LIMA, A. B.; MELO, W. J.; ANTUNES, J. E. L.; ARAUJO, A. S. F. Chromium accumulation in maize and cowpea after successive applications of composted tannery sludge. **Acta scientiarum-agronomy**, v. 40, p. 1, 2018.

SOUSA, R. S.; SANTOS, V. M.; MELO, W. J.; NUNES, L. A. P. L.; BRINK, P. J. V.; ARAÚJO, A. S. F. Time-dependent effect of composted tannery sludge on the chemical and microbial properties of soil. **Ecotoxicology**, v.26, p.1366–1377, 2017.

SOUZA, E. M.; GALINDO, F. S.; TEIXEIRA FILHO, M. C. M.; SILVA, P. R. T.; SANTOS, A. C.; FERNANDES, G. C. Does the nitrogen application associated with *Azospirillum brasilense* inoculation influence corn nutrition and yield? **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, v.23, n.1, p.53-59, 2019.

SOUZA, E. R. B.; BORGES, J. D.; LEANDRO, W. M.; OLIVEIRA JÚNIOR, J. P.; OLIVEIRA, I. P.; XIMENES, P. A.; CARNEIRO, M. F.; BARROS, R. G. Teores de metais tóxicos nas folhas de plantas de milho fertilizadas com lodo de curtume. **Pesquisa Agropecuária Tropical**, v. 35, n. 2, p. 117-122, 2005.

SPARLING, G. P. Ratio of microbial biomass carbono to soil organic carbon as a sensitive indicator of changes in soil organic matter. **Australian Journal of Soil Research**, v. 30, p. 195-207, 1992.

STAMBULSKA, U. Y.; BAYLIAK, M. M.; LUSHCHAK, V. I. Chromium(VI) Toxicity in Legume Plants: Modulation Effects of Rhizobial Symbiosis. **BioMed Research International**, v.2018, p. 1-13, 2018.

STEFANOWICZ, A. M.; KAPUSTA, P.; ZUBEK, S.; STANEK, M.; WOCH, M. W. Soil organic matter prevails over heavy metal pollution and vegetation as a factor shaping soil microbial communities at historical Zn e Pb mining sites. **Chemosphere**, v. 240, p. 124-922, 2020.

VAN BOGELEN, R. A.; KELLEY, P. M.; NEIDHARDT, F. C. Differential induction of heat shock, SOS, and oxidation stress regulons and accumulation of nucleotides in *Escherichia coli*, **Journal of Bacteriology**, v. 169, p.1987 26–32, 1987.

WARDLE, D. A. Metodologia para a quantificação da biomassa microbiana do solo. In: HUNGRIA, M.; ARAÚJO, R.S. (Eds.), Manual de métodos empregados em estudos de microbiologia agrícola. **EMBRAPA**, Documentos, 46, p.419-436, 1994.

WEZEL, A.; CASAGRANDE, M.; CELETTE, F.; VIAN, J. F. Agroecological practices for sustainable agriculture. A review. **Agronomy for Sustainable Development**, v. 34, p. 1–20, 2014.

WU, L.; YANG, Y.; CHEN, S.; ZHAO, M.; ZHU, Z.; YANG, S.; HE, Q. Long-term successional dynamics of microbial association networks in anaerobic digestion processes. **Water Research**, v. 104, p.1–10, 2016.

XU, Q.; PAN, W.; ZHANG, R.; LU, Q.; XUE, W.; WU, Y.; WANG, G.; JIN, J.; LIU, J.; ZHANG, Q.; LIU, X. Bacterial communities in soy bean rhizosphere in response to soil type, soy bean genotype, and their growth stage. **Soil Biology Biochemistry**, v. 41, p. 919-925, 2009.

YILDIZ, H.; KARATAS, N. Microbial exopolysaccharides: resources and bioactive properties. **Process Biochemistry Journal**, ed. 72, p. 41 –46, 2018.

YIN, H. Q.; NIU, J. J.; REN, Y. H.; CONG, J.; ZHANG, X. X.; FAN, F. L.; XIAO, Y. H.; ZHANG, X.; DENG, J.; XIE, M.; HE, Z. L.; ZHOU, J. Z.; LIANG, Y. L.; LIU, X. D. An integrated insight into the response of sedimentary microbial communities to heavy metal contamination. **Scientific Reports**, n. 5. 2015.

ZHANG, Y.; HE, X.; LIANG, H.; ZHAO, J.; ZHANG, Y.; XU, C. Long-term tobacco plantation induces soil acidification and soil base cation loss. **Environmental Science and Pollution Research**, v. 23, p. 5442-50, 2016.

ZHENG, F.; ALI, S.; QIU, B.; WU, F.; ZHANG, G. Effects of chromium stress on the subcellular distribution and chemical form of Ca, Mg, Fe, and Zn in two rice genotypes. **Journal Plant Nutrition Soil Science**. v. 173, p. 135–148, 2010.

ZHU, J.; ZHANG, J.; LI, Q.; HAN, T.; XIE, J.; HU, Y.; CHAI, L. Phylogenetic analysis of bacterial community composition in sediment contaminated with multiple heavy metals from the Xiangjiang River in China. **Marine Pollution Bulletin**, v. 70, p.134 – 139, 2013.

**Article submitted to Bioscience Journal - Rhizobacterias on maize growth and soil microbial biomass C in a Cr-contaminated soil.**

**Abstract**

Cr contamination in soil affect the growth of plants as well as this metal accumulates in plants tissues. In addition, this metal can affect soil microbial biomass and activity. Rhizobacteria can protect plants against metals and, at the same time, promote plant growth and could alleviate the effect on microbial biomass. This study evaluated rhizobacterial effect on maize growth and Cr accumulation, and soil microbial biomass C in a Cr-contaminated soil. Maize seeds were inoculated with rhizobacteria and the plants grew in soils with (+Cr) and without (-Cr) contamination of Cr. In Cr-contaminated soil, the treatment LCC41 promoted the highest growth of maize, while LCC04 contributed with the highest N accumulation in plants. The shoot of maize accumulated less Cr with the treatments LCC81, while LCC41 contributed for the highest accumulation of Cr in roots. The accumulation factor was highest in treatment with IPA403, while the treatment with LCC81 showed the lowest values. In conclusion, the rhizobacteria LCC41 and LCC81 could promote plant growth and reduce Cr accumulation in maize, respectively, in Cr-contaminated soil.

**Keywords:** metals, tannery sludge, soil contamination



## 1 Introduction

Metals are important threat to the environment since these elements cannot be degraded naturally and, thus, can persist in the ecosystem and accumulate in soil and, also, in different parts of the food chain (Ogundiran and Osibanjo 2009). Among the main metals, Cr has been an important issue to the environment due to increase in generation and disposal of Cr-contaminated sludge, such as tannery sludge, that have contributed to Cr accumulation in soils (Araujo et al. 2013, 2018).

It is particularly important because the accumulation of Cr, by application of tannery sludge, has promoted changes in soil chemical (Araujo et al. 2013), physical (Araujo et al. 2016) e biological properties (Sousa et al. 2017). In addition, the Cr accumulated in soil has been translocated and bioaccumulated in plants (Sousa et al. 2018). On the other hand, some studies have found different microbes that present tolerance to high Cr concentration (Miranda et al. 2018, 2019), including plant growth-promoting rhizobacteria (Rocha et al. 2019).

Rhizobacteria have been found in soil contaminated with metals since these microbes can present different strategies to withstand these elements (Hao et al. 2014; Ojuedeirie and Babalola 2017). Some rhizobacteria can secrete enzymes and bioactive metabolites that protect plants against metals and, at the same time, promote plant growth (Hao et al. 2014). For example, these rhizobacteria act producing and releasing enzymes and exopolysaccharide (EPS) that can assist the detoxification of metals and, indirectly improving the plant growth (Lal et al. 2018). In the case of Cr, the tolerance of rhizobacteria is associated with their ability to produce and release enzymes that enable them to thrive high concentration of this metal (Tirry et al. 2018). Recent study in a Cr-contaminated soil, Rocha et al. (2019) found and selected some rhizobacteria with high biochemical capability and tolerance to high concentration of Cr. Therefore, the use of Cr-tolerant rhizobacteria may present potential in Cr-contaminated soil acting on plant growth promotion (Anyanwu and Ezaka 2011).

The inoculation of rhizobacteria could also alleviate the effect of Cr on soil microbial biomass and activity. Since rhizobacteria stimulate the root growth, they could influence microbial biomass through rhizospheric effect (Souza et al., 2015). In addition, these bacteria release some extracellular enzymes that

contributes to decompose organic residues and increase the microbial biomass and activity (Moraes et al., 2018).

In this study, we used some promising isolates of rhizobacteria, with high biochemical capability, tolerance to Cr and production of EPS, found by Rocha et al. (2019) in Cr-contaminated soil. This evaluation is important since these rhizobacteria could be potentially used in plants ameliorating Cr stress, avoiding Cr translocation to plants and promoting plant growth. Thus, the aim of this study was evaluated five rhizobacteria on maize growth and soil microbial biomass in a Cr-contaminated soil.

## 2 Material and methods

The study was conducted in a greenhouse located at Department of Soil and Agricultural from Federal University of Piauí, Brazil (05° 05' S; 42° 48' W. 75 m). Pots (2.8 l<sup>-1</sup>) were filled with soil collected from the experimental field with application for ten years of composted tannery sludge (CTS). In this study, we used soil from site with application of 20 ton ha<sup>-1</sup> CTS (highest rate) that presented an accumulation of about 300 mg kg<sup>-1</sup> Cr. As control without CTS, we collected an adjacent soil, (without CTS application) that does not present Cr.

In order to design the experiment, Cr was extracted by the DTPA-TEA method and measured using the USEPA-3050 method (USEPA 1986). Thus, two soil conditions were used in this experiment, according to Cr concentration: soil without Cr (-Cr) and soil with Cr (+Cr). The chemical characteristics of the soil (Table 1) without Cr) and soil with Cr.

**Tabela 1** Values of the chemical analysis for soil with chromium (+Cr) and soil without chromium (-Cr).

<b>Conditons of soil</b>	<b>pH</b> H <sub>2</sub> O	<b>M.O</b> g kg <sup>-1</sup>	<b>P</b> mg kg <sup>-1</sup>	<b>K</b>	<b>Ca</b> Cmolc kg <sup>-1</sup>	<b>Mg</b>	<b>Cr</b> mg.kg <sup>-1</sup>
<b>without Cr</b>	5,8	5,3	4,3	38,2	1,8	0,5	0
<b>With Cr</b>	6,6	12,1	7,8	70,3	3,3	1,2	320

In both soil conditions, we used rhizobacteria that presented high biochemical capability, tolerance to Cr and production of EPS (Rocha et al., 2019) in the presence of Cr, being: LCC04, LCC41, LCC69, and LCC81. A potential rhizobacteria, with high production of EPS, isolated by OLIVEIRA et al. (2012) was used as a microbial reference. A treatment without inoculation and fertilization was used as control. The experiment design was completely randomized in a factorial scheme with two Cr concentration and six treatments, in four replicates.

All rhizobacteria were grown in YM culture medium with growth for a period of 48 hours at a temperature equivalent to 28° C. Then, the isolates grew in YM medium in agitation (180 rpm) at 28 ° C until the concentration of 10<sup>9</sup> colony

forming units, measured in a 650 nm spectrophotometer. These aqueous suspensions containing each isolate were used as bacterial inoculant. Maize (*Zea mays L.*, AG1051) seeds were surface-disinfested (5% sodium hypochlorite for 30 min) and were rinsed with sterile distilled water. These disinfested seeds were used in experimental procedures. Bacterial aqueous suspension was applied directly onto the seeds, in the planting, in the amount of 1 ml<sup>-1</sup> per seed.

At the harvest (60 days after plant emergence), soil and plants were collected. Soil microbial biomass C (MBC) was estimated using the chloroform fumigation-extraction method according to Vance et al. (1987). The extraction efficiency coefficients of 0.38 was used to convert the difference in C between fumigated and non-fumigated soils in MBC. Soil respiration was monitored with a daily measurement of CO<sub>2</sub> evolution under aerobic incubation at 25 °C for 7 days (Alef and Nannipieri, 1995). The respiratory quotient (qCO<sub>2</sub>) was calculated from the ratio between respiration and MBC and is expressed as mg CO<sub>2</sub> kg<sup>-1</sup> MBC day<sup>-1</sup>.

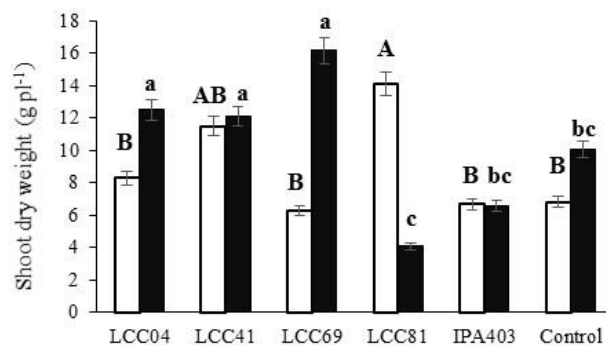
The shoot was separated from roots and they were dried (65°C; 72 h) and weighed to determine both shoot (SDW) and roots (RDW) dry weight. Total N content in shoot was estimated by Kjeldahl method. The accumulation of N (AcN) in shoot was estimated by the SDW and total N content. Chromium content in shoot and roots were estimated according to the method described in USEPA-3050 (USEPA, 1986). The translocation factor of Cr (TF) (Patel et al. 2016) was calculated as:

$$\mathbf{TF} = \text{Cr content in the shoot (mg kg}^{-1}\text{)}/\text{Cr content in the roots (mg kg}^{-1}\text{)}$$

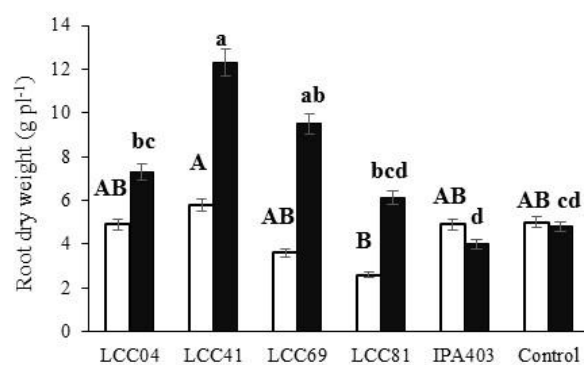
Shapiro-Wilk and Bartlett tests were used to test the normality and homogeneity of variance of data, respectively. Except for Cr accumulation and TF, all data were statistically analyzed using an analysis of variance (ANOVA) considering a factorial design with two soil condition (-Cr and +Cr) and six treatment (isolates and control), and their interactions. The means were compared by the Tukey test. All data were analyzed using the R software.

### 3 Results

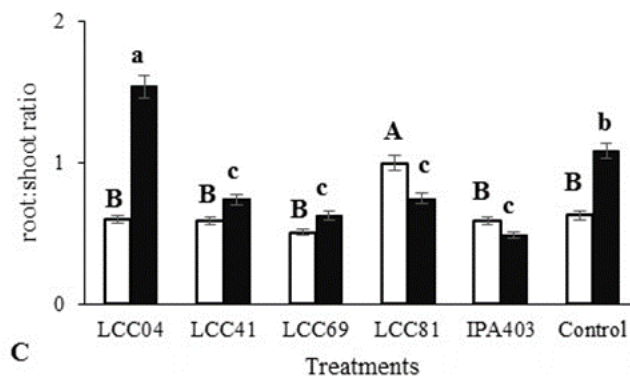
ANOVA indicated differences between treatments and soil condition for all evaluated parameters. In soil without Cr, the treatment with LCC81 promoted higher values of SDW than other treatments, while that, in soil contaminated with Cr, the treatments LCC04, LCC41, and LCC69 showed the better performances on SDW (Figure 1A). RDW showed a tinny variation according to treatments in soil without Cr (Figure 1B). The exception was the treatment LCC41 that was significantly higher than LCC81. In Cr-contaminated soil, the treatment LCC41 promoted the highest RDW as compared with LCC04, LCC81, IPA403 and control. The treatment LCC81 promoted the highest root:shoot ratio in soil without Cr, while that, in soil contaminated with Cr, the treatment LCC04 contributed for the highest root:shoot ratio (Figure 1C).



**A**

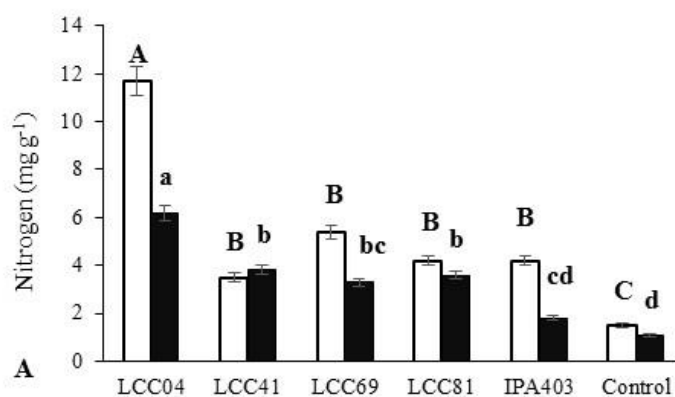


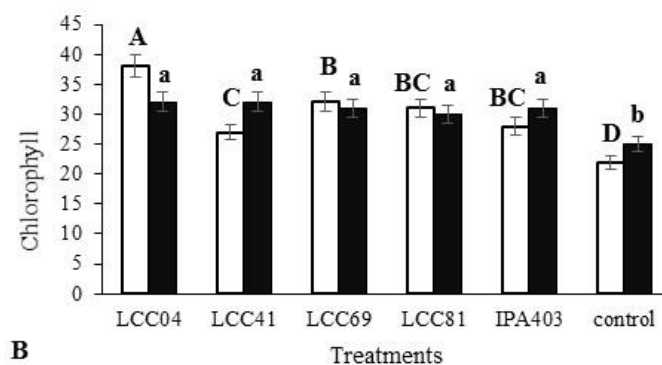
**B**



**Figure 1** Shoot (A) and roots (B) dry weight, and root:shoot ratio (C) of maize inoculated with PGPB grown in soil with (+Cr) and without (-Cr). Different uppercase and lowercase letters indicate a significant difference ( $p < 0.01$ ) between treatments indicate a significant difference ( $p < 0.01$ ) between treatments in soil -Cr and +Cr, respectively. The bars represent the standard error of the mean ( $n = 4$ ).

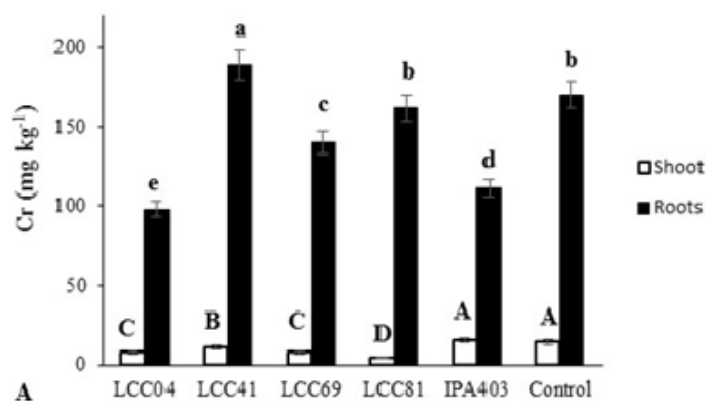
The maize plants accumulated more N in the treatment LCC04, in soil without Cr (Figure 2A). Interestingly, LCC04 also contribute with more N to maize in Cr-contaminated soil. The treatment LCC04 also contributed with the highest values of chlorophyll in soil without Cr (Figure 2B). However, in soil contaminated with Cr, there were not significant differences between treatments.

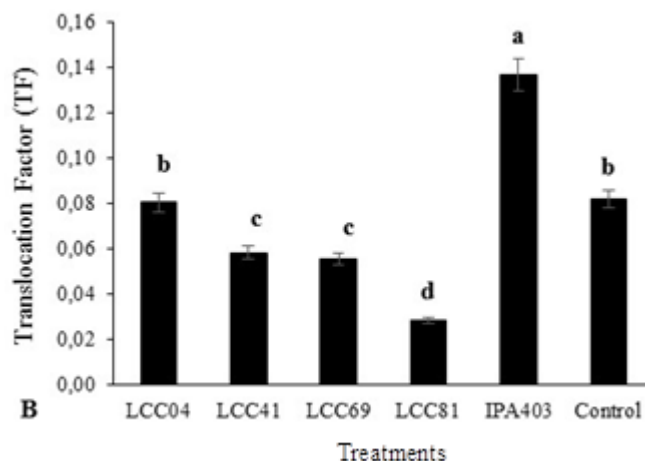




**Figure 2** Nitrogen (A) and chlorophyll (B) content in maize inoculated with PGPB grown in soil with (+Cr) and without (-Cr). Different uppercase and lowercase letters indicate a significant difference ( $p < 0.01$ ) between treatments in soil -Cr and +Cr, respectively. The bars represent the standard error of the mean ( $n = 4$ ).

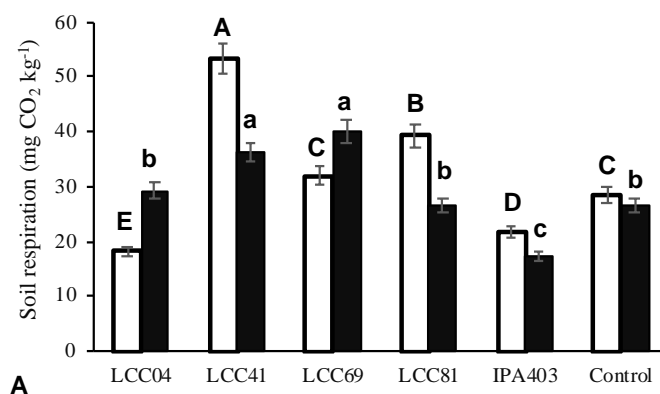
The accumulation of Cr in maize differed significantly according to the treatments (Figure 3A). In Cr-contaminated soil, the shoot accumulated less Cr with the treatment LCC81, while plants under the treatments IPA403 and control accumulated more Cr in the shoot. The treatment LCC41 contributed for the highest accumulation of Cr in roots. The accumulation factor, i.e. translocation of Cr from roots to shoot, was highest in treatment IPA403, while the treatment LCC81 showed the lowest accumulation factor (Figure 3B).



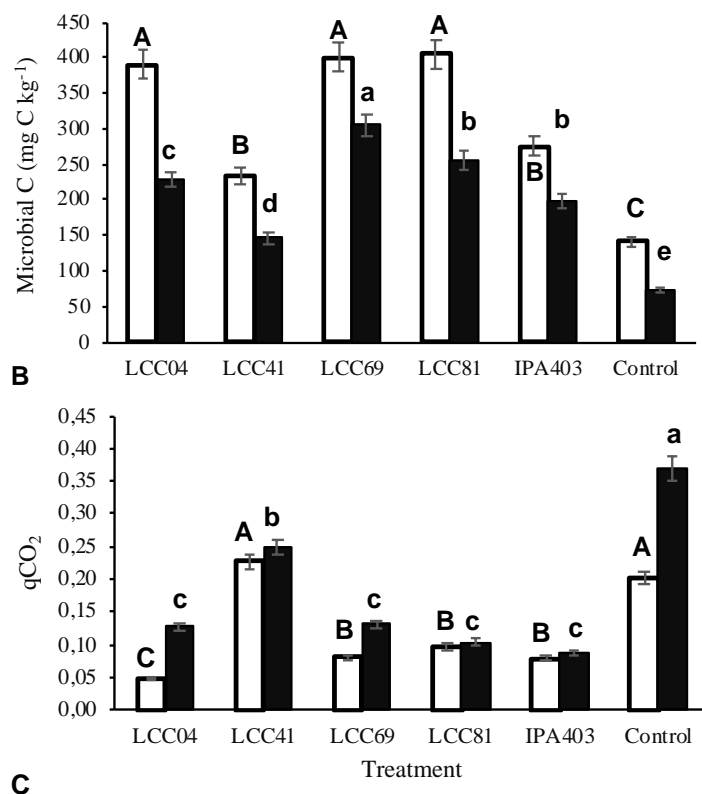


**Figure 3** Cr accumulation in plants (A) and the translocation factor (B) in maize inoculated with PGPB grown in soil with (+Cr) and without (-Cr). Different uppercase and lowercase letters indicate a significant difference ( $p < 0.01$ ), between treatments in shoot a and roots, respectively. The bars represent the standard error of the mean ( $n = 4$ ).

In soil without Cr, soil respiration was higher and lower in treatments LCC41 and LCC04 (Figure 4A). In Cr-contaminated soil, the higher soil respiration was found in treatments LCC41 and LCC69, while the lowest value was observed with IPA403. Soil MBC was higher in treatments LCC04, LCC69, and LCC81 in soil without Cr (Figure 4B), while that the highest value of MBC was found in the treatment LCC69. For both soil conditions, the control presented the lowest values of MBC. In soil without Cr, the values of  $qCO_2$  were highest and lowest in treatments LCC41 and control, respectively (Figure 4C).







**Figure 4** Soil respiration (A) microbial biomass C (B) and respiratory quotient (C) after inoculation of maize with PGPB in soil with (+Cr) and without (-Cr). Different uppercase and lowercase letters indicate a significant difference ( $p < 0.01$ ) between treatment in soil -Cr and +Cr, respectively. The bars represent the standard error of the mean ( $n = 4$ ).

In contrast, the control had the highest value of  $qCO_2$  in Cr-contaminated soil. On the other hand, the treatments LCC04, LCC69, LCC81, and IPA403 presented the lower  $qCO_2$ .

#### 4 Discussion

In this study, we evaluated the influence of some rhizobacteria, selected from Cr-contaminated (LCC04, LCC41, LCC69, and LCC81) and uncontaminated (IPA403) sites, on maize growth, accumulation of Cr, and soil microbial biomass. In general, the rhizobacteria showed distinct influences on maize growth and soil microbial biomass parameters in soil with and without Cr.

The results showed that, in Cr-contaminated soil, shoot biomass was significantly stimulated with the rhizobacteria LCC04, LCC41, and LCC69 by a range of 50% to 100% as compared to the control. Interestingly, LCC41 promoted higher efficiency to increase the maize roots by about three times than the control. Thus, these rhizobacteria, especially LCC41, reduced the detrimental effects of high Cr concentration on maize growth. previous studies have reported some Cr-tolerant rhizobacteria present the ability for increasing plant growth in the presence of this element (Rajkumar et al. 2006; Maqbool et al. 2015; Tirry et al. 2018). Recently, Tirry et al. (2018) found a rhizobacteria able to promote plant growth of Alfafa in Cr-contaminated soil.

Rhizobacteria present the ability to stimulate plant growth directly, by production of phytohormone, and indirectly, by amelioration of metal stress (Mallick et al. 2018). According to Chiboub et al. (2016), several metal-tolerant rhizobacteria are capable of producing phytohormones, such as indole-3-acetic acid (IAA), and enzymes even under metal stress conditions. Indeed, the rhizobacteria LCC04, LCC41, and LCC69 presented high capability of producing IAA and enzymes in soil with high Cr concentration (Rocha et al. 2019). Specially, LCC41 produced about 70  $\mu\text{g IAA ml}^{-1}$  under 100 mg Cr  $\text{kg}^{-1}$  soil. Thus, it may have contributed for increasing maize growth through of inoculation of this rhizobacterium. The results also showed the rhizobacteria LCC81 promoting the maize shoot in soil without Cr, while the same performance was not observed in Cr-contaminated soil. It may mean that this rhizobacterium, although efficient in uncontaminated soil, does not present efficiency in Cr-contaminated soil.

The rhizobacteria LCC004, LCC41, LCC69, and LCC81, used in this study, were isolated from soil contaminated with Cr (Rocha et al., 2019) and have higher ability to fix N in contaminated soil, while that IPA403 was selected from uncontaminated soil (Oliveira et al. 2012). Therefore, the higher N accumulation

in plants by using the rhizobacterium LCC04 could reflect its tolerance and biochemical capability. Compared to others rhizobacteria, LCC004 is catalase, urease and phosphatase positive in the presence of 200 mg Cr kg<sup>-1</sup> soil (Rocha et al. 2019). The urease catalyzes the hydrolysis of urea to ammonium and then it could be uptaken by plants (Nosheen and Bano 2014), while catalase protects plants against the oxidative stress (Santos et al. 2018). Therefore, these characteristics contribute for increasing N accumulation under Cr-contamination. The higher N accumulation in plants, by inoculating LCC004, contributed for higher chlorophyll content. However, in Cr-contaminated soil, no isolates influenced the accumulation of chlorophyll in plants.

In general, the results show that Cr is more accumulated in roots than shoots, and it agrees with previous studies that found more accumulation of Cr (Sousa et al. 2018) and Cu (Rizvi and Khan 2018) in maize roots. Recently, Patel et al. (2016) assessed the accumulation of Cr in *Mentha spicata* and found higher accumulation in roots. The results showed an influence of rhizobacteria LCC81 reducing the translocation of Cr from roots to shoot. Recent studies have reported that metal-tolerant rhizobacteria could present the ability to immobilize and reduce the bioavailability of metals and their consequent accumulation in the plants and, at the same time, promote plant growth (Han et al. 2018; Wang et al. 2018). For example, *Bacillus megaterium* promoted the growth of *Brassica juncea*, *Luffa cylindrica* and *Sorghum halepense* and contributed for decreasing the translocation of Ni to shoots (Rajkumar and Freitas 2013). Recently, Rizvi and Khan (2018) reported that the inoculation of *Azotobacter chroococcum* lowered the Cu and Pb accumulation in maize and it was due to the metal chelation and immobilization. There is some speculation that some substances produced by rhizobacteria, such as IAA, siderophores and exopolysaccharides, could help plants to resist the metal contamination. In addition, they also form biofilms which restricted the metal uptake in these plants (Das and Sarkar 2018; Rizvi and Khan 2018).

In general, the results of soil microbial parameters showed a positive influence of the isolates on soil respiration and microbial biomass C. Interestingly, the treatment with LCC69 showed the better results for soil respiration and microbial biomass C, in Cr-contaminated soil. Since soil respiration is recognized

as useful indicator of microbial activity (Alef and Nanipieri, 1995), these results suggest that the rhizobacteria LCC69 stimulates the soil microbial biomass and activity in Cr-contaminated soil. In contrast, microbial biomass decreased, while qCO<sub>2</sub> increased, in the control under Cr-contamination condition. It suggests that high contamination of Cr inhibits the microbial biomass and promotes soil microbial stress (Souza et al., 2017).

## **5 Conclusion**

This study showed that rhizobacteria isolated from Cr-contaminated soil presented potential to support plant growth and improve soil microbial biomass. Thus, the rhizobacteria LCC41 and LCC81, could potentially promote maize growth and reduce Cr accumulation in shoot, respectively, in soil contaminated with this metal. In addition, the rhizobacteria LCC69 stimulated more microbial biomass and activity. Further studies should be done aiming to verify the ability of these isolate on Cr degradation.

## References

Alef K, Nannipieri P (1995) *Methods in soil microbiology and biochemistry*. New York: Academic.

Anyanwu CU, Ezaka E (2011) Growth responses of chromium (VI) tolerant bacteria to different concentrations of chromium. **Int J Bas Appl Scien** 11: 41-44.

Araújo ASF, Lima LM, Melo WJ, Santos VM, Araújo FF (2016) Soil properties and cowpea yield after six years of consecutive amendment of composted tannery sludge. **Acta Scientiarum. Agronomy** 38: 407-413.

Araújo ASF, Santos VM, Miranda ARL, Nunes LAPL, Dias CTS, Melo WJ (2018) Chemical variables influencing microbial properties in composted tannery sludge-treated soil. **International Journal of Environmental Science and Technology** 15: 1793-1800.

Araújo ASF, Silva MDM, Leite LFC, Araujo FF, Dias NS (2013) Soil pH, electric conductivity and organic matter after three years of consecutive applications of composted tannery sludge. **African Journal of Agricultural Research** 8: 1204-1208.

Awasthi, S. et al. (2018) A consortium of alga (*Chlorella vulgaris*) and bacterium (*Pseudomonas putida*) for amelioration of arsenic toxicity in rice: A promising and feasible approach. **Environ. Exp. Bot.** 150, 115–126.

Chiboub M, Saadani O, Fatnassi IC, Abdelkrim S, Abid G, Jebara M, Jebara SH (2016) Characterization of efficient plant-growth-promoting bacteria isolated from *Sulla coronaria* resistant to cadmium and to other heavy metals. **C R Biol** 339: 391-398

Das J, Sarkar P (2018) Remediation of arsenic in mung bean (*Vigna radiata*) with growth enhancement by unique arsenic-resistant bacterium *Acinetobacter lwoffii*. **Sci. Total Environ.** 624: 1106–1118.

Han H, Sheng X, Hu J, He L, Wang Q (2018) Metal-immobilizing *Serratia liquefaciens* CL-1 and *Bacillus thuringiensis* X30 increase biomass and reduce heavy metal accumulation of radish under field conditions. **Ecotoxicol. Environ. Saf.** 161: 526–533.

Hao X, Taghavi S, Xie P, Orbach MJ, Alwathnani HA, Rensing C, Wei G (2014) Phytoremediation of heavy and transition metals aided by legume-rhizobia symbiosis. **Int J Phytoremediation** 6: 179–202.

Lal S, Ratna S, Ben O, Said RK (2018) Biosurfactant and exopolysaccharide-assisted rhizobacterial technique for the remediation of heavy metal contaminated soil: An advancement in metal phytoremediation technology. **Environmental Technology & Innovation** 10: 243-263.

Mallick I, Bhattacharyya C, Mukherji S, Dey D, Sarkar SC, Mukhopadhyay UK, Ghosh A (2018) Effective rhizoinoculation and biofilm formation by arsenic immobilizing halophilic plant growth promoting bacteria (PGPB) isolated from mangrove rhizosphere: A step towards arsenic rhizoremediation. **Sci Total Environ** 610–611: 1239-1250.

Maqbool Z, Asghar HN, Shahzad T, Hussain S, Riaz M, Ali A, Maqsood M (2015) Isolating, screening and applying chromium reducing bacteria to promote growth and yield of okra (*Hibiscus esculentus* L.) in chromium contaminated soils. **Ecotoxicol Environ Saf** 114: 343-349.

Miranda ARL, Antunes JEL, Araujo FF, Melo VMM, Bezerra WM, van Den Brink PJ, Araújo ASF (2018). Less abundant bacterial groups are more affected than the most abundant groups in composted tannery sludge-treated soil. **Scientific Reports** 8: 11755.

Miranda ARL, Mendes LW, Lemos LN, Antunes JEL, Amorim MR, Melo VMM, Melo, WJ, van Den Brink PJ, Araújo ASF (2019) Dynamics of archaeal community in soil with application of composted tannery sludge. **Scientific Reports** 9: e7347.

Moraes MCHS, Medeiros EV, Andrade DS, Lima LD, Santos ICS, Martins Filho AP (2018) Microbial biomass and enzymatic activities in sandy soil cultivated with lettuce inoculated with plant growth promoters. **Revista Caatinga**, 31: 860-870.

Nosheen A, Bano A (2014) Potential of plant growth promoting rhizobacteria and chemical fertilizers on soil enzymes and plant growth. **Pak J Bot** 46: 1521-1530.

Ogundiran MB, Osibanjo O (2009) Mobility and speciation of heavy metals in soils impacted by hazardous waste. **Chemical Speciation & Bioavailability**, 21: 59-69.

Ojuederie OB, Babalola OO (2017) Microbial and Plant-Assisted Bioremediation of Heavy Metal Polluted Environments: A Review. **Int J Environ Research Public Health** 14: 1504.

Oliveira J, Figueiredo M, Silva M, Malta M, Vendruscolo C, Almeida H (2012) Production of Extracellular Biopolymers and Identification of Intracellular Proteins and *Rhizobium tropici*. **Curr. Microbiology** 65, 686-691.

Patel A, Pandey V, Patra DD (2016). Metal absorption properties of *Mentha spicata* grown under tannery sludge amended soil-its effect on antioxidant system and oil quality. **Chemosphere** 147: 67-73.

Rajkumar M, Ma Y, Freitas H (2013) Improvement of Ni phytostabilization by inoculation of Ni resistant *Bacillus megaterium* SR28C. **J. Environ. Manag.** 128: 973–980.

Rajkumar M, Nagendran R, Lee KJ, Lee WH, Kim SZ (2006) Influence of plant growth promoting bacteria and Cr<sup>6+</sup> on the growth of Indian mustard. **Chemosphere** 62: 741-748.

Rizvi A, Khan MS (2018) Heavy metal induced oxidative damage and root morphology alterations of maize (*Zea mays L.*) plants and stress mitigation by metal tolerant nitrogen fixing *Azotobacter chroococcum*. **Ecotoxicol. Environ. Saf.** 157: 9–20.

Rocha SMB, Antunes JEL, Araujo JMA, Aquino JPA, Melo WJ, Mendes LW, Araújo ASF (2019) Capability of plant growth-promoting bacteria in chromium-contaminated soil after application of composted tannery sludge. **Annals of Microbiology** 665-671.

Santos AA, Silveira JAG, Bonifacio A, Rodrigues AC, Figueiredo MVB (2018) Antioxidant response of cowpea co-inoculated with plant growth-promoting bacteria under salt stress. **Braz J Microbiol** 49: 513-521.



Sousa RS, Nunes LAPL, Bonifacio A, Melo WJ, Araújo ASF (2018) Chromium accumulation in maize and cowpea after successive applications of composted tannery sludge. **Acta Scientiarum. Agronomy** 40: e35361.

Sousa RS, Santos VM, Melo WJ, Nunes LAPL, Van den Brink PJ, Araujo ASF (2017) Time-dependent effect of composted tannery sludge on the chemical and microbial properties of soil. **Ecotoxicology** 26: 1366-1377.

Sousa RS, Santos VM, Melo WJ, Nunes LAPL, Van den Brink PJ, Araújo ASF (2017) Time-dependent effect of composted tannery sludge on the chemical and microbial properties of soil. **Ecotoxicology** 26: 1366-1377.

Souza R, Ambrosini A, Passaglia LMP (2015) Plant growth-promoting bacteria as inoculants in agricultural soils. **Genetics and Molecular Biology**, 38: 401-419.

Tirry N, Joutey NT, Sayel H, Kouchou A, Bahafid W, Asri M, El Ghachtouli N (2018) Screening of plant growth promoting traits in heavy metals resistant bacteria: Prospects in phytoremediation. **Journal of Genetic Engineering and Biotechnology** 16: 613-619.

Tirry N, Joutey T, Sayel N, Kouchou H, Bahafid A, Asri WM, El Ghachtouli N (2018) Screening of plant growth promoting traits in heavy metals resistant bacteria: Prospects in phytoremediation. **Journal, genetic engineering & biotechnology** 16: 613–619.

USEPA (1986) United States Environmental Protection Agency. Test method for evaluating solid waste. 3<sup>rd</sup> ed., Washington, DC, 252 p.

Vance ED, Brookes PC, Jenkinson DS (1987) An extraction method for measuring soil microbial biomass C. **Soil Biol. Biochem.** 19 : 703–707.

Wang Q, Zhang WJ, He LY, Sheng XF (2018) Increased biomass and quality and reduced heavy metal accumulation of edible tissues of vegetables in the presence of Cd-tolerant and immobilizing *Bacillus megaterium* H3. **Ecotoxicol. Environ. Saf.** 148: 269–274.