

**15019 - Isolamento e seleção de fungos para biorremediação a partir de solo manejado com herbicidas.**

*Isolation and screening of fungi for bioremediation from soil managed with herbicides.*

BARBOSA, Nara Priscila da Silva<sup>1</sup>; NASCIMENTO, Ivaneide de Oliveira<sup>2</sup>; SILVA, Patrícia Barbosa Rodrigues<sup>3</sup>; CAVALCANTE, Denise Lima<sup>4</sup>.

1 Universidade Estadual do Maranhão (CESI), [narapriszilabarbosa@gmail.com](mailto:narapriszilabarbosa@gmail.com); 2 Universidade Estadual do Maranhão (CCA), [ivaneide\\_agro@yahoo.com.br](mailto:ivaneide_agro@yahoo.com.br); 3 Universidade Federal de Pernambuco (Dant), [patricia.barbossa@gmail.com](mailto:patricia.barbossa@gmail.com); 4 Universidade Estadual do Maranhão, [denisecavalcante@ig.com.br](mailto:denisecavalcante@ig.com.br), (CESI).

**Resumo:** O presente trabalho teve por objetivo isolar fungos filamentosos de solos manejados com os herbicidas Roundup Original e DMA 806 BR que poderão ser eficientes em estudos de biorremediação. Os fungos isolados foram cultivados em batata-dextrose-ágar contendo 50 ppm de herbicida e incubados em estufa a 30°C por cinco 5 dias. A cada 24 horas mediu-se o crescimento dos fungos para o cálculo da velocidade de crescimento radial do raio das colônias. Os resultados foram analisados através de Anova e do teste de Tukey. O desenvolvimento desses fungos em meio contendo herbicida demonstra a possibilidade da utilização desses microrganismos na biorremediação de solos contaminados por esses compostos.

**Palavras-chave:** Poluentes; Microrganismo; Solos; Fungos Filamentosos.

**Abstract:** This study aimed to isolate filamentous fungi of soils managed with Roundup Original and DMA 806 BR that can be effective in bioremediation studies. The isolates were cultured on potato dextrose agar containing 50 ppm of herbicide and incubated in an oven at 30 ° C for five 5 days. The measured every 24 hours the growth of the fungi for calculating the radial growth rate of the radius of the colonies. The results were analyzed by ANOVA and Tukey test. The development of these fungi in a medium containing herbicide demonstrates the possibility of using these micro-organisms in bioremediation of soils contaminated by these compounds.

**Keywords:** Pollutants; Microorganism; Soils; filamentous fungi.

## Introdução

Ao entrarem em contato com o solo, os herbicidas estão sujeitos a processos físico-químicos que regulam seu destino no ambiente, podendo ser tornar uma grande ameaça à biodiversidade. A degradação dos compostos não significa a perda da atividade biológica. Somente a conversão total ou mineralização da substância em compostos amplamente distribuídos na natureza e que podem entrar nos ciclos biogeoquímicos é que representa descontaminação (LUCHINI et al., 2000).

Dentre as inúmeras tecnologias para remediação, destaca-se a biorremediação. A biorremediação consiste na utilização de processo ou atividade biológica por meio de organismos vivos, que possuam a capacidade de modificar ou decompor determinados poluentes, transformando contaminantes em substâncias inertes (JACQUES et al., 2010).

Os fungos apresentam uma série de características que os tornam interessantes para aplicação em sistemas de biorremediação. São elas: capacidade de crescer sob as condições de estresse ambiental; seu modo de crescimento, induzido quimiosstaticamente em direção à fonte de carbono orgânico, por meio do alongamento e ramificação das hifas, que permitem a colonização de grandes áreas e o sistema de biodegradação fúngico, realizado por enzimas extracelulares. Dessa forma, o contato superficial com o contaminante é otimizado, aumentando sua biodisponibilidade e sua biodegradação (CHANDER et al., 2004).

### **Metodologia**

A pesquisa foi realizada no Laboratório de Fitopatologia, Microbiologia e Alimentos do departamento de Química e Biologia da Universidade Estadual do Maranhão (CESI), em 2012/2013.

Foram coletadas 2 amostras compostas de solos manejados com os herbicidas Dma 806 Br e Roundup Original para o isolamento de fungos. O isolamento de fungos foi realizado pela técnica de diluições seriadas segundo Menezes et. al. (2004). Foram medidos 25 gramas de solo de cada amostra, o solo medido foi adicionado a um Erlenmeyer e em seguida acrescido 250 mL de água destilada esterilizada, essa solução foi mantida sob agitação mecânica por 30 minutos. Da suspensão obtida foram preparadas diluições decimais até a obtenção da diluição desejada de 1:1000. Alíquotas da diluição final foram espalhadas de maneira uniforme em placas de petri contendo meio de cultura batata-dextrose-ágar (BDA), essas placas assim preparadas, foram incubadas em estufa a 25°C por 5 dias. As colônias fúngicas que cresceram nas placas de petri foram purificadas por meio de repicagem, em seguida foi realizado o microcultivo em laminas para assim ser feita identificação dos microrganismos. Foram isolados e identificados os fungos *Curvularia sp.*, *Aspergillus terreus*, *Trichoderma viridi*, *Penicillium sp.*, *Aspergillus versicolor*. Esses microrganismos foram testados quanto a sua capacidade de crescer em meio de cultivo BDA com a adição de herbicida. O experimento foi realizado por delineamento inteiramente casualizado. A seleção dos microrganismos foi realizada através de plaqueamento em BDA contendo 50ppm de Dma 806 Br e Roundup Original para todos os tratamentos, fazendo a inoculação pontual do fungo no centro da placa de petri. Os cultivos foram mantidos em estufa a 25°C por 5 dias, sendo medido o diâmetro da área recoberta pelo fungo, a cada 24 horas.

A velocidade de crescimento radial, que é o coeficiente angular da reta obtida pela regressão linear dos raios das colônias em função do tempo, foi calculada através de regressão linear dos raios das colônias, utilizando-se a seguinte equação:  $r(t) = a + VCR \times t$ . Onde  $r$  é o raio (mm),  $t$  é o tempo (dias)  $VCR$  é a velocidade de crescimento radial ( $cm.d^{-1}$ ). Os resultados das VCRs dos fungos foram avaliados através de Análise de Variância e Teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade para comparação de médias.

## Resultados e discussões

As velocidades de crescimento radial (VCR) obtidas através da regressão linear dos raios das colônias dos fungos isolados foram analisadas através da Análise de Variância e comparação de médias pelo Teste de Tukey. Os resultados apresentados na Tabela 1 e no Quadro 1 indicam que o experimento não foi significativo ao nível de 5% de probabilidade ( $.01 \leq p < .05$ ).

**Tabela 1: Média da velocidade de crescimento radial dos fungos testados.**

TRATAMENTO	FUNGOS TESTADOS				
	<i>A. terreus</i>	<i>Penicillium</i> sp.	<i>Curvularia</i> sp.	<i>A. versicolor</i>	<i>T. viridi</i>
CONTROLE	0.2440 abB	0.2200 aB	0.4280 aA	0.1020 aC	0.2820 aB
DMA 806 BR	0.3040 aB	0.2620 aB	0.4040 abA	0.1420 aC	0.1660 bC
ROUNDUP O.	0.2260 bB	0.1980 aB	0.3320 bA	0.0960 aC	0.2600 aAB
CV (%)	20,04				

dms para colunas = 0.0745 - Classific.c/letras minúsculas; dms para linhas = 0.0872 - Classific.c/letras maiúsculas; As médias seguidas pela mesma letra não diferem estatisticamente entre si. Foi aplicado o Teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade.

## Quadro 1: Quadro de análise

FV	GL	SQ	QM	F
Trat(F1)	2	0.01815	0.00908	3.7848 *
Fungo(F2)	4	0.57554	0.00908	60.0022 **
Int. F1xF2	8	0.07827	0.00978	4.0802 **

\*\* significativo ao nível de 1% de probabilidade ( $p < .01$ )

\* significativo ao nível de 5% de probabilidade ( $.01 \leq p < .05$ )

ns não significativo ( $p \geq .05$ )

Colla et al. (2008), demonstraram que dentre os fungos isolados de solo contaminado com atrazine e atrazine+simazine, os fungos que apresentaram maior velocidade de crescimento radial foram os fungos do gênero *Aspergillus* e *Penicillium*. Semelhante aos dados obtidos por Colla et al. (2008), fungos do gênero *Aspergillus* isolados neste estudo demonstraram uma boa velocidade de crescimento radial em meio de cultivo com a adição de 50 ppm DMA 860 BR e Roundup Original, sendo estes úteis para estudo de biorremediação em solos. Mattos et al. (2010) mediu o crescimento radial de colônias fúngicas degradadoras do herbicida glifosato, sendo observado crescimento dos fungos *Cochliobolus heterostrophus* e *Fusarium anthophilum*. O composto glifosato que é princípio ativo do herbicida Roundup Original também foi testado, todos os fungos utilizados no experimento obtiveram crescimento satisfatório. Segundo Martinez et al. (2008), meio de cultura enriquecido com herbicida foi eficiente para isolar fungos degradadores de sulfentazona, sendo isolados do solo *Penicillium* sp., *Chrysosporium* sp. e *Metarrhizium* sp. No presente estudo, em meio de cultura enriquecido com os herbicidas DMA 860 BR e Roundup Original o gênero *Penicillium* sp. obteve um bom desenvolvimento, indicando potencialidade para degradar estes compostos químicos.

Os fungos isolados neste trabalho demonstraram potencial para serem utilizados em estudo de biorremediação, no entanto para saber de fato se degradaram os compostos químicos presentes nos herbicidas DMA 806 BR e Roundup Original, é indispensável à realização de um bioensaio avaliando as enzimas produzidas pelos

fungos na degradação dos compostos químicos, isoladamente, presente nos herbicidas.

### **Conclusões**

Neste estudo, os resultados obtidos não apresentaram diferenças significativas ao nível de 5% de probabilidade ( $.01 \leq p < .05$ ), o desenvolvimento desses fungos em meio contendo herbicida demonstra a possibilidade da utilização desses microrganismos em estudos de biorremediação.

### **Referências bibliográficas:**

CHANDER, M.; ARORA, D. S.; BATH, H. K. Biodecolourisation of some industrial dyes by white-rot fungi. **Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology**, Hampshire, v. 31, n. 2, p. 94-97, 2004.

COLLA, L. M. et al. Isolamento e seleção de fungos para biorremediação a partir de solos contaminados com herbicidas triazínicos. **Ciênc. agrotec.**, Lavras, v. 32, n. 3, p. 809-813, 2008.

JACQUES, R. J. S.; SILVA, K.J. da; BENTO, F.M.; CAMARGO, F.A.O. Biorremediação de um solo contaminado com antraceno sob diferentes condições físicas e químicas. **Ciência Rural**, v.40, n.2, p.280-287, 2010.

LUCHINI, L.C.; ANDRÉA, M.M. de. Comportamento ambiental de agrotóxicos. **Horticultura Brasileira**, Brasília, v.18, p.33-35, 2000.

MARTINEZ, C. O. Caracterização de bactérias e fungos envolvidos na degradação de sulfentazona em solos. In: **Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento Embrapa Meio Ambiente**, 22 p. Embrapa Meio Ambiente. 2008

MATTOS, M. L.T. et al. **Metodologia para Obtenção de Fungos Degradadores do Herbicida Glifosato**, 24p. Embrapa Clima Temperado, 2010.

MENEZES, M.; ASSIS, S. M. P. **Guia prático para fungos fitopatogênicos**. 2. ed. Ver. E ampl. Recife: UFRPE, Imprensa Universitária, 2004.