



ISOLAMENTO E SELEÇÃO DE FUNGOS PARA A BIORREMEDIAÇÃO A PARTIR DA COMPOSTAGEM DE PODAS DE ÁRVORE

Bárbara Cristina Del Conte Curi Acker¹; Sonia Tomie Tanimoto²; Edneia Aparecida de Souza Paccola²

RESUMO: Entre os principais compostos carbamatos encontra-se o pesticida carbaril (1-naftil metilcarbamato), inseticida de largo espectro, usado para controlar mais de 100 espécies em culturas (como citrus, nozes e tomate), gramados e florestas, sendo também usado como moluscicida e acaricida. Estudos de degradação no solo são essenciais para avaliação da persistência de pesticidas, e a ação dos microrganismos do solo sobre os inseticidas constitui-se em um mecanismo de maior importância. O uso de fungos se constitui num grupo de microrganismos atrativo e promissor como agentes degradadores para monitorar contaminações de solo e águas. No solo, a participação dos fungos na degradação de pesticida em geral envolve a utilização de sistemas enzimáticos que, bioquimicamente, transformam o agrotóxico em nutriente e fonte de energia. Assim, o presente trabalho teve como objetivo isolar fungos filamentosos de compostagem e selecionar os fungos isolados quanto à capacidade de crescimento em meio adicionado de carbaril. Foram encontrados três gêneros de fungos na compostagem *Aspergillus*, *Penicillium* e *Rhizopus*. Na fase seguinte o crescimento dos fungos com carbaril foi impedido pelo superaquecimento sofrido pelo equipamento que apresentou defeito. Conclui-se que este trabalho não pôde ter continuidade, em função de as compostagens terem sido extraviadas no campo de cultivo e os cultivos de fungos terem sido danificados.

PALAVRAS-CHAVE: Degradação; microrganismos; pesticida.

1 INTRODUÇÃO

O uso de agroquímicos permanece como prática comum, especialmente em regiões tropicais (CARVALHO, 2006). Os pesticidas são venenos intencionalmente dispersados no ambiente para controlar pestes, mas também atuam sobre outras espécies causando sérios efeitos paralelos em espécies não-alvos. Resíduos de pesticidas podem persistir em solos, águas e alimentos, contaminando humanos e animais (CARVALHO, 2006). Os carbamatos, usados como inseticidas e herbicidas, encontram-se entre as classes de pesticidas mais utilizadas no Brasil. Esses compostos são muito instáveis em condições neutras e alcalinas em temperatura ambiente. O profam, primeiro representante dessa classe, foi seguido pelo clorprofam, barbam, asulam, carbutilato e clorbufam. Essas substâncias são sais ou ésteres do ácido carbônico com substituições dos hidrogênios hidroxílicos e amínicos por átomos, grupos funcionais ou radicais (GALLI et al., 2006). Entre os principais compostos carbamatos encontra-se o pesticida carbaril (1-naftil metilcarbamato), inseticida de largo espectro, usado para controlar mais de 100 espécies em culturas (como citrus, nozes e tomate), gramados e florestas, sendo também usado como moluscicida e acaricida (EXTONET, 2007). Desde 1995, o governo do Reino Unido admite a existência de ligações entre o câncer e o carbaril. Em adição, a organização relacionada ao ambiente *The Pesticides*

¹ Acadêmica do Curso de Agronomia do Centro Universitário de Maringá – UNICESUMAR, Maringá – Paraná. Bolsista do Programa de Indução de Bolsas da UniCesumar (PROIND). barbaracker@hotmail.com

² Orientadoras, Docentes do Curso de Agronomia e do Programa de Mestrado em Tecnologias Limpas do Centro Universitário de Maringá – UNICESUMAR, Maringá – Paraná. Bolsistas do Programa de Indução de Bolsas da UniCesumar (PROIND).



Trust pretende colocar a expressão “potencial carcinógeno humano” nas etiquetas dos produtos contendo carbaril (GHAUCH et al., 2001).

Diante da problemática exposta, o conhecimento da toxidez, da decomposição no ambiente e o desenvolvimento de métodos precisos de quantificação de resíduos de carbaril em águas, solos e alimentos tornaram-se de fundamental importância. Com relação à decomposição no ambiente, a busca por microrganismos que sejam capazes de decompor estes pesticidas é de grande valor.

2 MATERIAL E MÉTODOS

Para o isolamento e seleção dos fungos para biorremediação a partir da compostagem, inicialmente faz-se necessário à montagem do composto orgânico. Para a realização da compostagem foram utilizados resíduos provenientes da poda de galhos, folhas e aparas de grama do campus da UNICESUMAR (Centro Universitário de Maringá). O material utilizado foram resíduos vegetais, resíduos vegetais e esterco de animais e resíduos vegetais com nitrogênio em 3 parcelas.

As fases do processo como relata Kiehl (1998), onde a primeira fase dita inicial e rápida de fitotoxicidade ou de composto cru ou imaturo, seguida de uma segunda fase de semi-cura ou bioestabilização, para atingir finalmente a terceira fase, a humificação, acompanhada da mineralização de determinados componentes da matéria orgânica, serão acompanhadas.

Os resíduos serão armazenados em local adequado onde os galhos triturados foram misturados aos outros resíduos para formar a pilha de compostagem. As pilhas preparadas foram alternadas com camadas de terra, esterco e nitrogênio, respectivamente em cada parcela.

A aeração das pilhas com o revolvimento manual e a adição do pó de café, para evitar odores como relata Paixão (2012). As fases do processo como temperatura, pH, umidade, a cor, odor e granulometria das pilhas serão avaliados após os 120 dias (análises químicas e biológicas).

O isolamento e manutenção dos fungos obtidos das três leiras de compostagem montadas será segundo a metodologia de Colla et al. (2008), onde através da técnica de diluições seriadas, onde 25 g de amostra de compostagem homogeneizadas em 225 mL de água peptonada 0,1% (diluição 10^{-1}).

A segunda diluição (10^{-2}) foi realizada transferindo-se 1 mL da diluição 10^{-1} para tubo de ensaio contendo 9 mL de água peptonada 0,1%, e assim sucessivamente até a diluição 10^{-3} . As amostras então plaqueadas em placas de Petri contendo meio PDA (potatodextrose-ágar) acidificado.

De cada diluição foi retirada uma alíquota de 0,1 mL e realizada a inoculação na superfície do meio solidificado, realizando-se o espalhamento com uma alça de Drigalsky. As placas foram incubadas a 30°C, durante 5 dias. A seqüência do isolamento realizou-se através da técnica de esgotamento por estrias. Os microrganismos isolados foram mantidos a 4°C, em tubos de ensaio com ágar inclinado contendo o meio PDA.

Para identificação microscópica dos microrganismos isolados foram identificados quanto ao gênero pelas características microscópicas das colônias, após o preparo de microcultivos em lâminas.

Os microrganismos isolados na etapa anterior foram selecionados para a biorremediação, onde foram testados quanto à sua habilidade de crescer em PDA acidificado de carbaril. A seleção dos microrganismos foi realizada através de



plaqueamento em PDA adicionado de carbaril fazendo-se uma inoculação pontual no centro da placa de Petri contendo o meio de cultivo.

Uma suspensão de esporos em ágar 0,1 % foi preparada e realizada a inoculação com um micropipetador, para evitar-se espalhamento de esporos sobre a superfície.

Os cultivos foram mantidos em estufa a 30°C por 5 dias, sendo medido o diâmetro da área recoberta pelo fungo, a cada 24 horas. As placas de Petri ficaram marcadas com três raios, com a finalidade de se medir o crescimento radial dos fungos a cada 24 horas.

Foram medidos seis raios em cada placa, diariamente. Foram realizadas sete replicatas. A velocidade de crescimento radial calculada através de regressão linear dos raios das colônias, utilizando-se a Equação 1, onde r é o raio (mm), t é o tempo (d) e VCR é a velocidade de crescimento radial (cm.d-1). $r(t) = VCR \cdot t$ (1). Os resultados de VCR dos fungos foram avaliados através de Análise de Variância e Teste de Tukey, para comparação de médias.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

No período inicial de etapas da compostagem, o composto não atingiu a fase termofílica, com média de temperatura de 24°C e pouca umidade (figura 1). Entretanto a fase termofílica desejada 50° C não foi atingida devido ao fato do experimento ser confundido com descarte comum (resíduos de podas internas da instituição).

Segundo Pereira Neto & Lelis (1999) durante a realização de um estudo, onde verificaram que em condições de clima tropical, o limite inferior do teor de umidade pode chegar até 10%.

Verificou-se também que em aglomerados de compostos orgânicos onde não foi realizado o controle de umidade, foram registrados valores de 5% de umidade e nenhuma atividade de degradação, porém, após 35 dias, quando a umidade foi corrigida para 55-60%, a atividade microbiológica, até então cessada, se restabeleceu em um período médio de 28 horas, registrando-se temperaturas termofílicas.

Nesta fase foram isolados três fungos, pertencentes aos gêneros *Aspergillus*, *Penicillium* e *Rhizopus* em meio BDA.

Na segunda etapa do projeto que consistia na contaminação dos microrganismos com carbaril não pode ser concluída devido problemas instrumentais com a estufa. Porém segundo alguns autores estes gêneros de fungos são viáveis para biorremediação de pesticidas. Colla *et al* (2007) relatam o crescimento dos gêneros *Aspergillus*, *Penicillium* e *Trichoderma*, em meio contaminado com a atrazine indicando a possibilidade de utilização desses fungos em estudos de biorremediação de solos contaminados com herbicidas triazínicos podendo atingir um potencial remediador de aproximadamente 40%.



Figura1. (A) Compostagem de grama do tipo esmeralda; (B) Compostagem de galhos de Sibipiruna; (C) Compostagem de galhos de Oiti; (D) Compostagem de folhas de Sibipiruna; (E) Compostagem de folhas de Oiti.

4 CONCLUSÃO

Foram encontrados três gêneros de fungos na compostagem *Aspergillus*, *Penicillium* e *Rhizopus*. Na fase seguinte o crescimento dos fungos com carbaril foi impedido pelo superaquecimento sofrido pelo equipamento que apresentou defeito. Conclui-se que este trabalho não pôde ter continuidade, em função de as compostagens terem sido extraviadas no campo de cultivo e os cultivos de fungos terem sido danificados.

REFERÊNCIAS

CARVALHO, F. P. Agriculture, pesticides, food security and food safety. **Environ. Sci. Policy**, v. 9, n. 7-8, p. 685-692, 2006.

COLLA, L. M.; PRIMAZ, A. L.; LIMA, M.; BERTOLIN, T. E.; COSTA, J.A.V. Isolamento e seleção de fungos para biorremediação a partir de solo contaminado com herbicidas triazínicos. **Ciênc. Agrotec.**, Lavras, v. 32, n. 3, p. 809-813, maio/jun., 2008.

EXTONET. The Extension Toxicology Network. **Pesticide information profile**. Disponível em: <http://extoxnet.orst.edu/pips/carbaryl.htm>. Acesso em: 5 mar. 2007.

GALLI, A.; DE SOUZA, D.; GARBELLINI, G. S.; COUTINHO, C. F. B.; MAZO, L. H.; AVACA, L. A.; MACHADO, S. A. S. Utilização de técnicas eletroanalíticas na determinação de pesticidas em alimentos. **Quim. Nova**, v. 29, n. 1, p. 105-112, 2006.



KIEHL, E. J. Manual de Compostagem: maturação e qualidade do composto. Piracicaba, :**E. J.Kiehl**, 1998.

PAIXÃO, R. M.; SILVA, L. H. B. R.; TEIXEIRA, T. M. Análise da viabilidade da compostagem de poda de árvore no campus do Centro Universitário de Maringá. VI Mostra Interna de Trabalhos de Iniciação Científica ISBN 978-85-8084-413-9. 2012.