

DETERMINAÇÃO DA ATIVIDADE METABÓLICA E DESENVOLVIMENTO FÚNGICO SOLO CONTAMINADO POR HIDROCARBONETOS

João Leonardo Uller¹; Ruth Noemi Tanaka Miyazaki²; José Hilton Bernardino de Araújo³

INTRODUÇÃO

Uma das estratégias para reduzir o problema da contaminação de solos com hidrocarbonetos sem perturbar o ecossistema é introduzir organismos capazes de degradar essas moléculas em outras não prejudiciais. O reino mais estudado nesse ramo são os fungos produtores de lignina peroxidase, levando em consideração as substâncias de grande atividade enzimática produzidas por eles capazes de digerir hidrocarbonetos, os, geralmente emergida de fungos residentes em ambientes repletos de celulose como galhos secos em decomposição, troncos de árvores, entre outros resíduos vegetais.

Essa tecnologia da biorremediação vem sendo utilizada em vários países, pois é um dos métodos mais eficientes e de menor custo, apesar de requerer um tempo mais longo para promover a degradação ou remoção dos contaminantes.

O objetivo principal desse trabalho foi realizar a biorremediação de solos contaminados por hidrocarbonetos utilizando fungos ligninolíticos nativos coletados em um parque da cidade de Campo Mourão, no Paraná.

PROCEDIMENTOS METODOLÓGICOS

Coleta de fungos: A coleta foi realizada no Parque Municipal Joaquim Teodoro de Oliveira – PMJTO, no dia 06 de março de 2013, às 17:45 h, com a ajuda do Dr. José Hilton Bernardino de Araújo. A temperatura local encontrava-se na faixa de 16 a 17°C, com um índice de umidade de 90% em razão das recentes chuvas, favorecendo o desenvolvimento de diversos fungos no local, principalmente, os ascomicetos e os basidiomicetos utilizados nesse projeto (Figura 1a,1b,1c) e

¹Técnico Integrado em Informática. E-mail: joao_uller@hotmail.com

²Técnico Integrado em Informática - UTFPR Câmpus Campo Mourão. E-mail: ruthnoemi34378@gmail.com

³Orientador. Engenharia Ambiental - UTFPR - Câmpus Campo Mourão. E-mail: jaraujo@utfpr.edu.br

identificados por meio de sites especializados em fungos.

Figura 1 – 1a. Espécime de *Polyporus tenuiculus* (P. Beauv.) Fr.; Figura 1b. Espécime de *Clitocybefragrans* (With) P. Kumm; Figura 1c. Espécime de *Polyporus sanguineus* (L.) G. Mey. coletada no PMJTO em 06 de março de 2013. (Darnis, 2013; Naturespot, 2013)



Preparação do solo e de serragem: O solo foi coletado no dia 13 de março de 2013, às 15:45h na Universidade Tecnológica Federal do Paraná, sendo de qualidade latossolo roxo com textura argilosa de ph 6,3. Na data, a umidade relativa se encontrava 85% e a temperatura na faixa de 18 a 20°C. A serragem foi coletada em uma serraria do município, sendo constituída de pinus. Posteriormente esses materiais foram esterilizados em um secador de bandejas durante 3 horas à temperatura de 105 °C.

Seleção de fungos para biorremediação: Os diversos fungos foram colocados em garrafas do tipo Pet contendo 500 mL de água estéril e 5 g dos contaminantes agrotóxico (Roundup base glifosato), óleo de soja e óleo diesel em cada garrafa. Outras garrafas estéreis contendo apenas água contaminada sem a presença de fungos foram usadas como controle. O intuito desse procedimento foi verificar quais os fungos se desenvolveriam nestes ambientes, para em seguida, selecionar o mais apto para o processo de biorremediação, cultivando-os em meio BDA (Batata-Dextrose-Ágar).

Ensaio de biorremediação em solos: Em outro procedimento, foram inseridas as mesmas variedades de fungos em potes plásticos de polipropileno contendo 500g de solo e 5g de serragem com os mesmo contaminantes usados nas garrafas, além de 10g de água. Os recipientes permaneceram semi fechados durante 120 dias em uma estufa bacteriológica a uma temperatura na faixa de 28°C com umidade controlada.

Respirometria de solos: Em tratamentos biológicos do solo é necessário conhecer a cinética de crescimento dos microrganismos. Um dos métodos mais simples e mais rápido para o cálculo dos parâmetros cinéticos são os testes de respirometria. Estes testes de tratabilidade medem e interpretam a taxa de

respiração dos microrganismos refletindo dois dos mais importantes processos bioquímicos, o crescimento da biomassa microbiana e o consumo do substrato empregado.

A atividade microbiana é demonstrada pela produção de CO₂ a partir dos microrganismos, indicando assim que ao metabolizar um substrato presente no solo, existe como resultado, a absorção de oxigênio e a liberação de CO₂, que pode ser medido.

A utilização da respirometria pode ser aplicada na determinação da influência da toxicidade e do grau de inibição da população microbiana sobre o substrato contaminado, além da atividade metabólica de microrganismos fermentadores ou biorremediadores sobre o substrato presente no solo, sendo a respiração ou emissão de CO₂, o indicador biológico utilizado (Bernardes e Soares, 2005).

Sendo assim, em outro experimento utilizamos o fungo *Polyporus sanguineus* (L.) G. Mey em um respirômetro de Bartha e Pramer (1965) adaptado (Figura 3), pois segundo o artigo Avaliação Química e Toxicológica De Solo Contaminado Por Hpas Submetido à Biodegradação Pelo Fungo Basidiomiceto *Pycnoporus sanguineus* de Maria Vilmária Fontes Carvalho, o fungo apresentou grande potencial na degradação de HPA's (Hidrocarbonetos Policíclicos Aromáticos) selecionados pela autora que estão presentes em diversos derivados de petróleo. O respirômetro continha 50g de solo, 2,5g de serragem, 1g de gasolina, 1g de óleo de soja e 1g de água destilada que era renovada a cada semana, após a titulação da solução de 0,5 mol/L de KOH recolhida no processo de degradação realizada pelo fungo durante 7 semanas.

Figura 3 - Respirômetro adaptado.



A titulação foi realizada com HCl 1 mol/L. Os resultados da curva de CO₂ foram calculados segundo a equação: $\mu\text{molCO}_2 = (A - B) \times 50 \times f_{\text{HCl}}$. Em que A =

volume de HCl 1 M utilizado para titular a solução de controle; B = volume de HCl 1M utilizado para titular a solução do respirômetro; 50 = fator para transformar equivalente em μmol de CO_2 ; f_{HCL} = fator do HCL 1 M (Melissa Riani Costa, 2009).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Após o período de duas semanas foi possível observar os fungos se desenvolvendo nas garrafas Pet, com crescimento mais intenso na garrafa contendo óleo de soja e razoável na garrafa contendo Óleo Diesel, em especial para o fungo *Polyporus sanguineus* (L.) G. Mey, que foi escolhido para os ensaios de respirometria.

Pode-se verificar pelo Gráfico 1 a curva de desenvolvimento da variedade de fungos nos potes em área (cm^2) contendo solo e contaminante. Pôde-se observar metabolismo ativo dos fungos devido à extensão que as hifas alcançaram, mesmo em um ambiente pobre em nutrientes, atingindo em alguns casos 15 cm^2 .

No Gráfico 2 é possível perceber a curva de produção de CO_2 , determinado por titulação, medida em μmol , pelo fungo *Polyporus sanguineus* (L.) G. Mey ao longo de 7 semanas no respirômetro adaptado

Gráfico1 – Curva de crescimento fúngico no solo em (cm^2). (S= Semana).

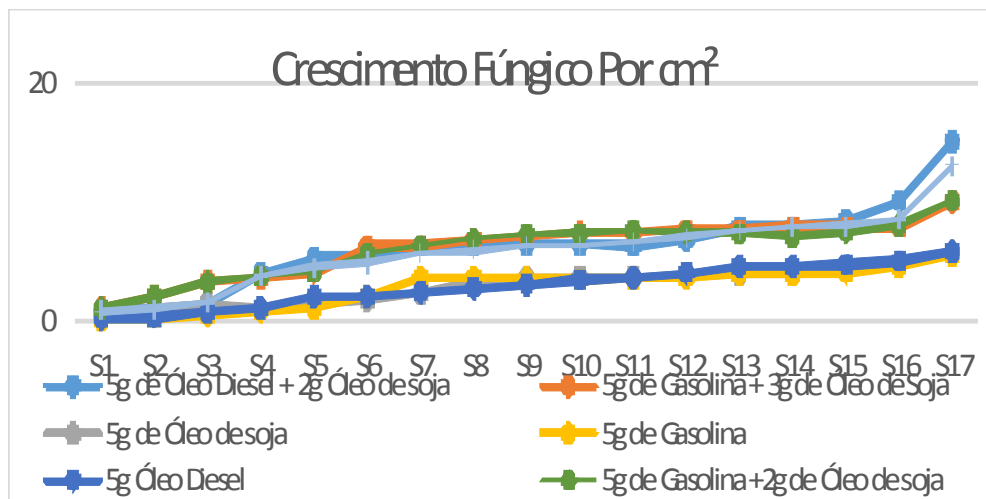
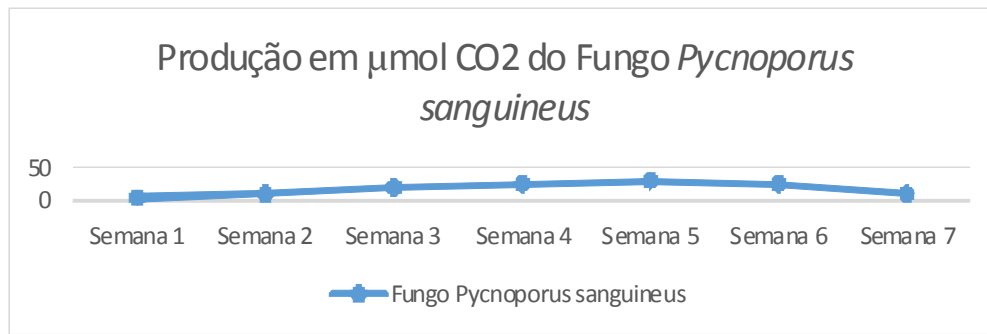


Gráfico 2 – Curva de produção de CO₂ pelo fungo *Pycnoporus sanguineus* (L.) G. Mey em μ mol.



CONCLUSÃO

O fungo selecionado apresentou grande afinidade com os poluentes testados, degradando esses compostos orgânicos em outros menos prejudiciais, pois utilizam os compostos em seu metabolismo celular, o que pode ser comprovado pela produção de CO₂ no teste respirométrico. Esse projeto demonstrou que a biorremediação apesar de ser um processo lento, é muito útil na degradação de diversos poluentes presentes no solo. É necessário que em estudos posteriores sejam incorporados nutrientes como nitrogênio, fósforo e potássio para melhorar o processo de biorremediação.

REFERENCIAS

Bernardes, R. S.; Soares, S. R. A. (2005). *Fundamentos da respirometria no controle de poluição da água e do solo*. Editora Universidade de Brasília: Finatec, Brasília, DF, 164p.

http://darnis.inbio.ac.cr/ubis/FMPro?-DB=ubipub.fp3&-lay=WebBrowse&-error=norec.html&-Format=lista_grupo.htm&-SortField=nombre%20cientifico&-Op=eq&familia::subgrupo_id=71&-Op=eq&visible=Si&-Find <acesso 13 de marco de 2013>

<http://www.naturespot.org.uk/taxonomy/term/19708> <acesso 22 de marco de 2013>

CARVALHO, Maria Vilmária Fontes. *Avaliação Química e Toxicológica De Solo Contaminado Por Hpas Submetido à Biodegradação Pelo Fungo Basidiomiceto *Pycnoporus sanguineus**. 2010. 66 f. Curso de Biotecnologia, Universidade Estadual de Feira Santana, Feira Santana, 2010.

COSTA, R. Melissa. *Uso da Respirometria para Avaliação da Biodegradação Aeróbia de Lixiviados de Resíduos Sólidos Urbanos em Latossolo Vermelho-Escuro*. Dissertação de Mestrado em Tecnologia Ambiental e Recursos Hídricos, Publicação PTARH.DM – 125/09. Departamento de Engenharia Civil e Ambiental, Universidade de Brasília, Brasília, DF. 109p.