

O USO DE FUNGOS PARA A DEGRADAÇÃO DE AGROTÓXICOS

Maria Heloisa de Araujo Cassoli (PIBIC/CNPq/FA/UEM), Rafael Castoldi
(Orientador). E-mail: rcastoldi@uem.br
Universidade Estadual de Maringá, Centro de Ciências Biológicas, Maringá, PR.

Ciências Biológicas - Bioquímica de Microrganismos

Palavras-chave: Agrotóxicos; fungos da podridão branca; biorremediação.

RESUMO

Com a acentuada expansão agrícola para suprir a demanda do mercado, o uso dos agrotóxicos para combater pragas, ervas daninhas e doenças, aumentou deliberadamente, resultando em inúmeros prejuízos para o meio ambiente. Dessa forma, a biorremediação vem se destacando de uma forma promissora para a diminuição de poluentes na natureza. O objetivo deste projeto foi de realizar tratamentos biológicos com o uso de fungos da podridão branca para a degradação de diferentes agrotóxicos utilizados na agricultura. A degradação dos contaminantes foi analisada pela técnica de ATR-FTIR e utilizando a enzima lacase. A degradação dos agrotóxicos foi efetiva, com destaque para o cultivo utilizando o fungo *Ganoderma lucidum* (GL) com o agrotóxico DMA 806 e *Trametes versicolor* (M3) com o agrotóxico Match EC que houve aumento em até 5 vezes na produção enzimas com a presença do agrotóxico. De acordo com as análises de ATR FTIR, o fungo GL se mostrou eficiente na degradação do agrotóxico DMA, pois as bandas relativas ao agrotóxico desapareceram por completo.

INTRODUÇÃO

Os agrotóxicos têm sido aplicados deliberadamente na agricultura, visando o controle de diversas pragas e gerando consequentemente um aumento na produção agrícola para suprir as crescentes necessidades do mercado. O uso indiscriminado de pesticidas, fungicidas, herbicidas, entre diversos outros produtos químicos, tem ocasionado modificações no ambiente, contaminando desde a água e o solo até os seres humanos (BRAIBANTE; ZAPPE, 2012).

Os impactos da degradação ambiental estão se intensificando, levando à conscientização sobre a necessidade de métodos sustentáveis para mitigar essa deterioração. A biorremediação é uma técnica de baixo custo que utiliza organismos vivos para transformar ou remover contaminantes, sendo eficaz em áreas altamente poluídas onde a biodegradação natural é lenta. Um exemplo é o uso de fungos da podridão branca, que produzem enzimas extracelulares como lacase, manganês peroxidase e lignina peroxidase, capazes de converter lignina em CO₂ e degradar poluentes como pesticidas. (SALVI; MARINA BIANCHINI, 2011). É possível verificar a degradação dessas moléculas por meios de técnicas como a análise da atividade da lacase e o ATR FTIR.

Desta forma, é de suma importância a redução da concentração de agrotóxicos no ambiente. Visto que este composto possui alta resistência a degradação, este trabalho tem como objetivo selecionar fungos da podridão branca da madeira e analisar sua eficiência na degradação dos agrotóxicos DMA 806, Glifosato, Abacus HC e o Match EC, que são muito utilizados nas plantações agrícolas.

MATERIAIS E MÉTODOS

Os fungos foram obtidos na coleção de culturas do Laboratório de Bioquímica de Microrganismos e Alimentos da UEM e os agrotóxicos com um agricultor local.

Para os testes preliminares foram selecionados 3 fungos da podridão branca, sendo eles *Trametes versicolor*, *Pleurotus ostreatus* e *Ganoderma lucidum*, os quais foram cultivados em meio BDA preparado com batata, ágar bacteriológico a 1,8%, suplementado com glicose e extrato de levedura a 1%. Os agrotóxicos utilizados foram DMA 806, Glifosato, Abacus HC e o Match EC, sendo que nos primeiros testes as concentrações utilizadas foram, 60 µg/mL, 50 µg/mL, 10 µg/mL, 40 µg/mL respectivamente. Após a adição do agroquímico, os meios foram autoclavados à 121°C por 15 minutos. Discos miceliais de 10 mm dos basidiomicetos foram inoculados em placas de petri contendo somente BDA (controle), e em placas contendo BDA com o respectivo agrotóxico para o comparativo. Os cultivos foram feitos em duplicata totalizando 10 placas para cada fungo utilizado, todos cultivados em incubadora a 28 °C por 10 dias. O halo de crescimento do micélio foi medido diariamente para determinação dos melhores fungos degradadores que foram utilizados em análises posteriores.

Após analisar os resultados desse experimento, foi separado os agrotóxicos que os fungos conseguiram degradar melhor, dobrando as suas concentrações, dos agrotóxicos que os fungos tiveram mais dificuldade, diluindo suas concentrações no meio BDA. Dessa forma, os agrotóxicos Match e DMA tiveram suas concentrações diluídas para ser testados novamente no meio com o fungo PO e M3, e com o fungo GL esses agrotóxicos tiveram suas concentrações dobradas. Já o Abacus teve sua porção dobrada para os fungos PO e M3 e para o fungo GL teve sua concentração diluída. O glifosato teve sua quantia dobrada para os três fungos. Os fungos que apresentaram melhor resultado foram utilizados para o cultivo em meio líquido, preparado com meio mineral suplementado com glicose a 0,5% e extrato de levedura a 0,2%, em frascos de 125 mL contendo 25 mL de meio.

O meio líquido foi preparado em triplicata, com glicose 1%, extrato de levedura 5% em Vogel (1:50). Todos os materiais utilizados foram esterilizados em autoclave à 121 °C por 15 min

Em seguida foram inoculados três discos miceliais de 10 mm nos frascos e todos os meios foram deixados na estufa por 7 dias. Ao final dos 7 dias de incubação, os cultivos foram filtrados em bomba à vácuo e as biomassas foram secadas em estufa até peso constante e o líquido filtrado foi armazenando em Eppendorf, para a determinação das atividades enzimáticas e para o acompanhamento do processo de degradação do agrotóxico.

A atividade da lacase (EC 1.10.3.2) foi medida com ABTS em tampão acetato de sódio 50 mM (pH 5) a 40 °C. A leitura das absorbâncias foi feita a 420 nm para

verificar a atividade enzimática. Foi utilizada a técnica de ATR-FTIR para determinar os diferentes picos de absorbância dos agrotóxicos (LIU, KAZARIAN, 2022)., realizada em parceria com o Departamento de Ciências da Universidade Estadual de Maringá.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Com base nos resultados após 10 dias de incubação nos cultivos em meio sólido (Figura 1) utilizando os agrotóxicos DMA 806, Glifosato, Abacus HC e o Match EC, e depois mais 10 dias de incubação com as concentrações de agrotóxicos diluídas ou dobradas de acordo com o mal ou bom desenvolvimento do fungo no meio, respectivamente, os fungos *Pleurotus ostreatus* (PO) e *Trametes versicolor* (M3), não conseguiram degradar as concentrações dobradas, e o *G. lucidum* (GL) as concentrações diluídas do agrotóxico ABACUS, sendo assim ele foi considerado muito tóxico para os fungos, sendo descartado dos experimentos seguintes, enquanto que os outros agrotóxicos foram selecionados para o cultivo em meio líquido.

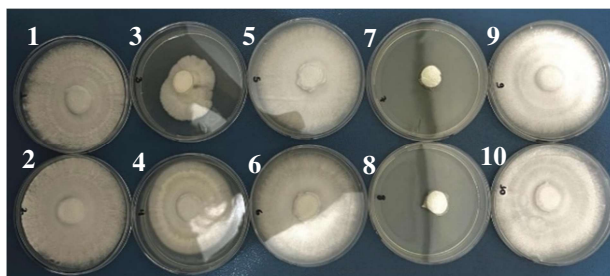


Figura1- Utilizando o fungo M3: 1 e 2 o controle, 3 e 4 meio com Match, 5 e 6 meio com DMA, 7 e 8 meio com Abacus, 9 e 10 meio com Glifosato.

A partir das amostras coletadas do meio líquido, os experimentos contendo o fungo GL com agrotóxico DMA, o fungo M3 com os agrotóxicos DMA e o Match EC, fungo PO com o agrotóxico Match EC e com o Glifosato, a degradação dos agrotóxicos foi efetiva. Com destaque para o experimento com o GL/DMA e o M3/Match EC que houve aumento em até 5 vezes na produção das enzimas de lacase com a presença do agrotóxico. No entanto o experimento contendo M3 e Match EC, durante a análise de ATR FTIR não houve mudança significativa nas bandas.

Com base nos espectros de ATR-FTIR para analisar degradação dos agrotóxicos, no meio contendo fungo GL e agrotóxico DMA, as bandas relativas ao contaminante químico desapareceram por completo (Figura 2), indicado pela baixa absorbância da molécula. Esse resultado implica que após o tratamento, o herbicida DMA teve sua estrutura diminuída pelo fungo.

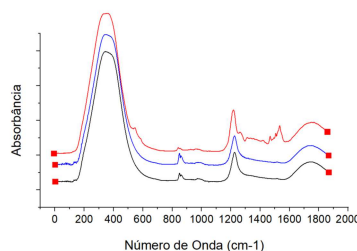


Figura 2- Gráfico de ATR-FTIR do meio contendo fungo GL e agrotóxico DMA. Sendo que quanto maior a absorbância, maior a quantidade da molécula na amostra.
Vermelho – meio apenas com Agrotóxico; Azul – Apenas a presença do fungo; Preto – Cultivo de fungo com agrotóxico.

CONCLUSÕES

Os dados obtidos revelaram que por mais que os meios sólidos contendo GL/Glifosato, GL/Match, M3/Glifosato e PO/DMA tiveram desenvolvimento dos fungos, nos meios líquidos esse crescimento decaiu e durante os testes da lacase, não houve mudanças significativas na liberação de enzimas, indicando que eles não foram eficientes para a diminuição da toxicidade.

É importante destacar que os experimentos contendo GL/DMA e M3/MATCH aumentaram em até 5 vezes a produção de enzimas. Por mais que o GL não tenha se desenvolvido de forma visivelmente relevante no meio sólido e líquido contendo o DMA com as concentrações dobradas, de acordo com o teste ATR-FTIR a degradação do agrotóxico foi efetiva no experimento. Com base nos dados anteriores pode-se supor que os fungos podem ter a capacidade de biorremediar áreas contaminadas com agroquímicos, porém mais testes devem ser realizados para analisar a eficiência desses diferentes fungos na biorremediação de agrotóxicos.

AGRADECIMENTOS

Agradeço a UEM pelo apoio financeiro. Ao meu orientador Rafael Castoldi e ao Laboratório de Bioquímica de Microrganismos e Alimentos (DBQ) - UEM.

REFERÊNCIAS

BRAIBANTE, M. E. F.; ZAPPE, J. A. A química dos agrotóxicos. **Química Nova na Escola**, v. 34, n.1, p. 10-15, 2012. Disponível em: q-dos-agroto3b3xicos1.pdf (wordpress.com). Acesso em: 16 agosto 2024.

DE SALVI, M. B. Fungos basidiomicetos em biorremediação. **Curso de capacitação de Monitores e Educadores. Instituto de botânica**, 2011.

LIU, G-L., KAZARIAN, S. G. Avanços recentes e aplicações ao patrimônio cultural usando espectroscopia ATR-FTIR e imagens espectroscópicas ATR-FTIR. **Analista**, v. 147, n. 9, p. 1777-1797, 2022. Acesso em: 16 agosto 2024.

