

Seleção de Fungos Degradadores de Gasolina em Solo Contaminado⁽¹⁾.

Maiko de Ávila Cassiano⁽²⁾; Jonathan Lourenço⁽³⁾; Lucas Carvalho Basílio de Azevedo⁽⁴⁾.

⁽¹⁾ Trabalho executado com recursos da Pró-reitoria de Pesquisa e Pós-graduação (PROPP) da UFU.

⁽²⁾ Bolsista PIBIC FAPEMIG; Graduando em Engenharia Ambiental; Universidade Federal de Uberlândia; Uberlândia, MG; maiko_avila@hotmail.com; ⁽³⁾ Graduando em Engenharia Ambiental; Universidade Federal de Uberlândia; ⁽⁴⁾ Professor; ICIAG/Universidade Federal de Uberlândia.

RESUMO: O crescente uso de hidrocarbonetos como fonte energética, associado ao descaso ambiental gera diversas consequências dentre elas a contaminação do solo por gasolina. A seleção de micro-organismos com potencial degradador desses contaminantes, e, sua futura utilização para técnicas de biorremediação é importante, pois gera uma solução mais barata e mais viável a processos físico-químicos. O solo coletado na área rural de Uberlândia foi contaminado com gasolina e incubado por 35 dias. O isolamento seguiu com diluições em série (10^{-2} a 10^{-6}) que foram inoculadas em placa de petri contendo meio mineral. As placas foram incubadas a uma temperatura de 30°C por sete dias. Terminado esse período, foi feita a medida o crescimento radial dos fungos. Os dados foram submetidos à análise de variância e as médias de UFC (g solo)⁻¹ foram comparadas pelo teste de Tukey ($p < 0,05$). O solo contaminado não seleciona um número maior de fungos, porém seleciona isolados com maior taxa de crescimento em meio de cultura contaminado com gasolina.

Termos de indexação: biorremediação, contaminação do solo, hidrocarbonetos.

INTRODUÇÃO

A dependência de hidrocarbonetos como fonte energética, principalmente do petróleo e seus derivados, vem crescendo desde a segunda metade do século XIX (Andrade et al., 2010). Esta, associada ao descaso ambiental, tem gerado muitos prejuízos para o meio ambiente, dentre eles a contaminação do solo com derivados de petróleo. Um solo contaminado pode sofrer impactos nos seus atributos físicos, químicos e biológicos. Por isso, o derramamento de hidrocarbonetos em solo leva à diminuição de diversidade biológica (Tobor-Kapłon et al., 2005) e, conseqüentemente, de suas funções no ecossistema.

Juntamente com o desenvolvimento industrial, a consciência ambiental da população tem crescido e com ela a preocupação com a revitalização de áreas degradadas (Valcarcel et al., 1997). Além disso, em vista do aumento do número de áreas

contaminadas, técnicas para remediação têm sido desenvolvidas (Andrade et al., 2010; Mesquita et al., 2006), incluindo as que envolvem organismos vivos ou seus processos, chamadas de biorremediação (Bento et al., 2003).

A biorremediação, muitas vezes, é uma alternativa mais viável que processos físico-químicos, que podem gerar uma perda quantitativa e qualitativa do solo (Bhupathiraju et al., 2002). Por vezes, essa técnica utiliza micro-organismos, que são selecionados naturalmente em solos contaminados, resistentes ao contaminante e possuem um potencial degradativo (Fierer et al., 2006). Sendo assim, a biorremediação é importante por trazer uma alternativa mais barata e mais sustentável para a recuperação de solos contaminados (Jacques et al., 2007).

Este trabalho teve como objetivo selecionar fungos em meio de cultura a partir de solo contaminado e não contaminado, que fossem resistentes à gasolina e com potencial para degradação de hidrocarbonetos *in vitro*. Levantamos a seguinte hipótese: o solo contaminado com gasolina seleciona populações com maior capacidade de crescimento *in vitro* em meio de cultura contaminado. Para isso, uma mesma amostra de solo foi dividida, com uma parte sendo contaminada com gasolina e a outra permanecendo sem contaminação.

MATERIAL E MÉTODOS

Em seis pontos aleatórios, foram coletadas amostras de solo sob pastagem, sem indícios de contaminação, na área rural de Uberlândia. A amostra composta foi homogeneizada e dividida em 6 partes iguais de 300 g. Dessas seis novas amostras, três receberam tratamento de contaminação com gasolina (Solo Contaminado) e as outras três perfizeram o controle sem contaminação (Solo Controle). O tratamento Solo Contaminado consistiu de 50 mL de gasolina por kg de solo. As três repetições de cada tratamento foram incubadas por 35 dias, em laboratório, no escuro.

O isolamento seguiu o procedimento de diluição em série. Para tanto, 10 g de solo foram

suspensas em 90 mL de solução salina (NaCl 0,85 %) em erlenmeyer. Depois de agitação a 200 rpm por 10 min, uma alíquota de 1 mL foi transferida para tubo com 9 mL de solução salina, perfazendo a diluição de 10^{-2} . A partir daí, a amostra foi diluída até 10^{-6} . As diluições de 10^{-2} a 10^{-6} foram inoculadas em meio para crescimento de fungos.

Em placas de petri, foi inoculado 0,1 mL das diluições seletivo para fungos degradadores de hidrocarbonetos (Kirk et al., 2005), contendo 250 mg de KCl, 1 g de NaH_2PO_4 , 1g de NH_4NO_3 , 0,5 g de MgSO_4 e 20 g de ágar e 10 mL de hidrocarbonetos (gasolina) por litro. As placas de petri ficaram incubadas a 28°C por 7 dias.

Passados os setes dias de incubação as placas foram retiradas e foi feito a contagem das UFC. O crescimento foi avaliado a partir das médias dos raios em quatro direções, a partir do núcleo, devido ao crescimento irregular dos fungos. A taxa de crescimento foi calculada como sendo o coeficiente da reta obtida por regressão linear.

Análise estatística

Os dados foram submetidos à análise de variância e as médias de UFC (g solo)⁻¹ foram comparadas pelo teste de Tukey ($p < 0,05$).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

A contagem de UFC por grama de solo variou de $1,3 \cdot 10^5$ para uma amostra de solo sem contaminação a $4,6 \cdot 10^5$ para uma amostra de solo contaminado. Apesar da variação, não houve diferença estatística no número de UFC g solo⁻¹ entre os dois tratamentos (Figura 1).

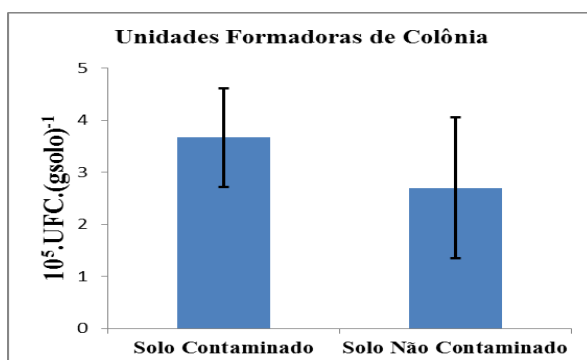


Figura 1 – Unidades Formadoras de Colônia de bactérias.(g solo)⁻¹ no Solo Contaminado com gasolina (5 %, v/m) e no Solo Não Contaminado. Barras pretas representam \pm desvio padrão.

Os fungos isolados do solo contaminado tiveram suas taxas de crescimento comparadas com os fungos do solo não contaminado (Figura 2).

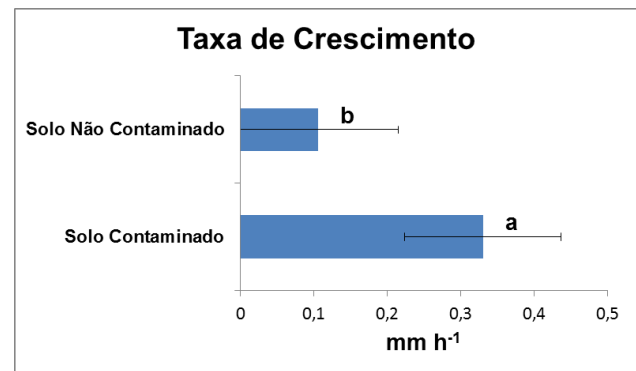


Figura 2 - Taxa de Crescimento de Fungos em Solo Contaminado e Solo Não Contaminado. Barras com a mesma letra não diferem pelo teste de Tukey ($p < 0,05$). Barras pretas representam \pm desvio padrão.

O solo contaminado seleciona fungos com um potencial degradador maior que o solo não contaminado (Figura 2). Isso ocorre porque o contaminante seleciona fungos resistentes e que potencialmente podem utilizar a degradação de hidrocarbonetos da gasolina como fonte de carbono e energia.

CONCLUSÕES

É possível isolar fungos resistentes e potencialmente degradadoras de gasolina *in vitro* a partir de solo contaminado ou não contaminado. Além disso, o solo contaminado não seleciona um número maior de fungos, porém seleciona isolados com maior taxa de crescimento em meio de cultura contaminado com gasolina.

AGRADECIMENTOS

À PROPP-UFU pelo financiamento da pesquisa, e à FAPEMIG pela concessão da bolsa de iniciação científica a M. A. Cassiano.

REFERÊNCIAS

ANDRADE, J.A.; AUGUSTO, F.; JARDIM, I.C.S.F. Biorremediação de solos contaminados por petróleo e seus derivados. *Eclética química*, v. 35, n. 3, p. 17-43, 2010.



BENTO, F.M.; CAMARGO, F.A.O.; OKEKE, B.; FRANKENBERGER-JUNIOR, W. T. Bioremediation of soil contaminated by diesel oil. **Braz. J. Microbiol**, vol.34, p. 65-68, 2003.

BHUPATHIRAJU, V. K.; KRAUTER, P.; HOLMAN, H. N.; CONRAD, M. E.; DALEY, P. F.; TEMPLETON, A. S.; HUNT, J. R.; HERNANDEZ, M.; ALVAREZ-COHEN, L. Assessment of in-situ bioremediation at a refinery waste-contaminated site and an aviation gasoline contaminated site. **Biodegradation**, v. 13, p. 79–90, 2002.

FIERER, N; JACKSON, R.B. The diversity and biogeography of soil bacterial communities. **PNAS** v. 103, n. 3, p. 626-631, 2006.

JACQUES, R.J.S.; BENTO, F.M.; ANTONIOLLI, Z.I.; CAMARGO, F.A.O. Biorremediação de solos contaminados com hidrocarbonetos aromáticos policíclicos. **Ciência Rural**, v. 37, n. 4, p. 1192-1201, 2007.

MESQUITA, A.A.; SOBRINHO, N.M.B.A.; OLIVEIRA, C.; MAZUR, N.; SANTOS, F.S. Remediação de solos tratados com lodo rico em zinco. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, v. 10, n. 3, p. 738–744, 2006.

TOBOR-KAPŁON, M. A.; BLOEM, J.; RÖMKENS, P. F. A. M. AND RUITER, P. C. D. Functional stability of microbial communities in contaminated soils. **Oikos**, n. 111, p. 119–129. 2005.

VARCACEL, A.; SILVA, Z.S. A eficiência conservacionista de medidas de recuperação de áreas degradadas: proposta metodológica. **FLORESTA**, v. 27, n. 12, 1997.



XXXIV CONGRESSO BRASILEIRO DE CIÊNCIA DO SOLO

28 de julho a 2 de agosto de 2013 | Costão do Santinho Resort | Florianópolis | SC