

II-102 - AVALIAÇÃO DA TOXICIDADE DE ATRAZINA E METIL PARATION EM FUNGO FILAMENTOSO

Yasmin Pinheiro Vidal⁽¹⁾

Estudante de graduação do curso de Engenharia Ambiental e Sanitária pelo Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Ceará – IFCE

Rejane de Souza Paulino

Estudante de graduação do curso de Engenharia Ambiental e Sanitária pelo IFCE

Bárbara Chaves Aguiar Barbosa

Mestre em Gestão Ambiental pelo IFCE. Doutoranda em Saneamento Ambiental pela Universidade Federal do Ceará – UFC.

Kelly de Araújo Rodrigues Pessoa

Engenheira Civil pela Universidade Estadual do Maranhão (UEMA). Doutora em Hidráulica e Saneamento pela EESC-USP. Professora Efetiva do Departamento da Área de Química e Meio Ambiente e do Programa de Pós-Graduação em Tecnologia e Gestão Ambiental do IFCE.

Glória Maria Marinho Silva Sampaio

Farmacêutica pela UFC. Doutora em Hidráulica e Saneamento pela Escola de Engenharia de São Carlos da Universidade de São Paulo (EESC-USP). Professora Efetiva do Departamento da Área de Química e Meio Ambiente e do Programa de Pós-Graduação em Tecnologia e Gestão Ambiental do IFCE.

Endereço⁽¹⁾: Av. Parque Central, S/N – Distrito Industrial I – Maracanaú/Ce – CEP: 61.939-140, Tel: +55 (85) 88575083 – email: yasminnvidal@yahoo.com.br

RESUMO

Os defensivos agrícolas são utilizados no combate de diversas pragas. O aumento populacional, e consequentemente, o aumento da demanda por alimentos, intensificou o uso dos agrotóxicos no meio agrícola, trazendo danos ao meio ambiente e à saúde humana. A remoção desses compostos do meio ambiente pode ser através de processos físico-químicos ou biológicos. A biorremediação vem sendo muito estudada no meio científico, destacando-se os fungos, devido as suas propriedades peculiares. O presente estudo teve como objetivo avaliar a tolerância do fungo *Aspergillus niger* AN 400 em diferentes concentrações dos pesticidas metil paration e atrazina através do teste de toxicidade em placas. Foram preparadas placas de Petri com meio de cultura Agar Sabouraud Dextrose, e inoculados por placa 2×10^6 esporos mL⁻¹ do fungo. As placas foram divididas em seis lotes, variando as concentrações de metil paration e atrazina (10, 20, 30, 40 e 50 mg.L⁻¹), e o lote ausente de pesticidas, as placas foram mantidas na estufa por sete dias, e diariamente observadas. O *Aspergillus niger* cresceu em todas as placas, até mesmo nas que continham as concentrações mais elevadas de pesticidas (40 e 50 mg.L⁻¹). Evidenciando que o uso de fungos pode ser uma alternativa, em futuros estudos, para o tratamento de águas residuárias contaminadas com atrazina e metil paration.

PALAVRAS-CHAVE: Pesticidas, toxicidade, *Aspergillus niger* AN 400.

INTRODUÇÃO

Os pesticidas podem ser entendidos como substâncias que agem no controle de diversas pragas (EPA, 2015). O uso destes defensivos agrícolas não se restringe somente aos tempos modernos. De acordo com Londres (2011) as indústrias químicas já produziam venenos para serem utilizados como armas químicas nas guerras mundiais. Após o fim dos conflitos, as indústrias encontraram uma nova fonte de renda na agricultura. O uso dos agrotóxicos foi sendo intensificado com o aumento populacional, e consequentemente com o aumento do consumismo. Entre os anos de 2000 e 2012, as vendas de agrotóxicos e produtos afins no Brasil, cresceram na faixa de 194% (IBAMA, 2013). Entretanto, ao mesmo tempo em que favorecem o aumento da produção de alimentos, combatendo pragas, a dispersão destes compostos traz danos irreparáveis ao meio ambiente. Muitas dessas substâncias, não agem somente nos organismos alvos, podendo causar sérios problemas a outros organismos que sejam expostos aos produtos (REBELO *et. al.*, 2010). Londres (2011) complementa que o uso de agrotóxicos não é algo fácil, podendo até mesmo ser insuficiente, já que muitas pragas agrícolas ainda

persistem tolerar e sobreviver a altas dosagens dos venenos. Muitas vezes o pesticida acaba sendo transportado para as águas superficiais e subterrâneas, e até mesmo para a atmosfera, causando um grande dano ambiental (GOMES e BARIZON, 2014).

Entre os agrotóxicos ainda comercializados no país, destacam-se atrazina e o metil paration. Em 2012, foram comercializadas no Brasil mais de 27 toneladas de atrazina (IBAMA, 2013). A atrazina é classificada como um herbicida no grupo das triazinas, os herbicidas tem o objetivo de combater o crescimento de plantas daninhas na plantação. Este tipo de defensivo causa clorose foliar e inibição do crescimento nas plantas (EMBRAPA, 2004; KHOURI, 2007). O metil paration, também denominado como Paration-metilico, pertence à classe dos inseticidas e acaricidas, e ao grupo químico dos organofosforados (ANVISA, 2001). A EPA (2012) considera o metil paration um dos agrotóxicos organofosforados mais tóxicos, estes compostos podem atingir o sistema nervoso, provocando náuseas, tonturas, paralisia respiratória e até mesmo a morte. A remoção destes compostos do meio ambiente pode ser feita por processos físico-químicos ou biológicos. Segundo Gaylarde, *et. al.* (2005) o uso de microorganismos na de biodegradação de moléculas xenobióticas tem se mostrado eficiente. EPA (2012) complementa que o processo de biorremediação impulsiona o crescimento dos microorganismos, a partir do momento em estes seres vivos começam a utilizar os contaminantes como fonte de alimento e energia. Os fungos destacam-se por suas propriedades peculiares, segundo Farinas e Barboza (2012) os fungos são eficazes na produção de enzimas, dentre as quais, suportam as variações de temperatura e pH, além de serem capazes de decompor os compostos recalcitrantes (SAMPAIO, 2005). Este trabalho teve como objetivo avaliar a tolerância do fungo *Aspergillus niger* AN 400 em diferentes concentrações dos pesticidas metil paration e atrazina através do teste de toxicidade em placas.

MATERIAIS E MÉTODOS

O teste de toxicidade foi desenvolvido no Laboratório de Tecnologia Ambiental (LATAM) no Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Ceará e baseado em Sampaio (2005). Foram preparadas 24 placas de Petri com aproximadamente 15 ml do meio de cultura Agar Sabouraud Dextrose. As placas foram divididas em seis lotes, cada lote em duplicata, variando as concentrações de pesticidas atrazina e metil paration: 10 mg.L⁻¹, 20 mg.L⁻¹, 30 mg.L⁻¹, 40 mg.L⁻¹ e 50 mg.L⁻¹; além de um lote ausente de pesticidas.

Foram 10 placas para as concentrações de atrazina e 10 para metil paration, e 4 para o controle (sem a presença dos pesticidas). Foram inoculados por placa 2×10^6 esporos mL⁻¹ do fungo filamentoso *Aspergillus niger* AN 400. As placas foram incubadas em estufa microbiológica a 28°C, durante sete dias, e verificadas diariamente, a fim de analisar o crescimento visual dos fungos.

RESULTADOS E DISCUSSÕES

O teste de toxicidade comprovou que a espécie *Aspergillus niger* AN 400 foi capaz de crescer em todas as concentrações dos pesticidas estudados, até mesmo nas concentrações mais elevadas de 50 mg.L⁻¹. Nas primeiras 24 horas não foi observado crescimento de esporos em nenhuma das placas. A partir de 72 horas, observou-se o crescimento dos esporos fúngicos nas placas ausentes de pesticidas e nas que continham atrazina e metil paration. Mesmo a atrazina sendo um composto recalcitrante, não impediu o crescimento do fungo. A placa com a concentração de 20 mg.L⁻¹ de atrazina foi a que teve maior crescimento de esporos no intervalo das 72 horas.

Completada às 168 horas de incubação, também houve crescimento de esporos em todas as placas. Entretanto, no lote com metil paration o crescimento dos esporos foi diminuindo a partir da concentração de 40 mg.L⁻¹. No lote presente com atrazina, o crescimento foi menor na concentração de 50 mg.L⁻¹. Possivelmente, as altas concentrações dos pesticidas, inibiram parcialmente no crescimento dos esporos.

Nos estudos de Colla *et.al.*, (2008) os autores isolaram fungos de solos contaminados por herbicidas triazínicos (atrazina e simazine) e observaram o crescimento dos fungos em meio de cultura adicionado com 50 mg.L⁻¹ de atrazina. Os fungos dos gêneros *Aspergillus*, *Penicillium* e *Trichoderma* apresentaram bom crescimento nos meios contendo atrazina, sendo possível o uso destes microrganismos para a biodegradação em solos contaminados por pesticidas triazínicos. Os autores ainda complementaram que quando os microrganismos suportam viver em locais contaminados, adaptam-se ao poluente, e podem utilizá-lo como fonte de nutriente

para o seu próprio crescimento. O que pode ter ocorrido no presente estudo, já que o crescimento dos esporos nas placas, que continham as concentrações de 10 e 20 mg.L⁻¹ tanto de atrazina como de metil paration, foi maior que nas placas ausentes de pesticidas, no tempo de incubação de 168 horas. Possivelmente, os fungos foram capazes de assimilar o pesticida como fonte de carbono, favorecendo seu crescimento. Nas figuras 1 a 6 são apresentados o crescimento do fungo *Aspergillus niger* AN 400 no meio em diferentes concentrações dos pesticidas atrazina e metil paration.

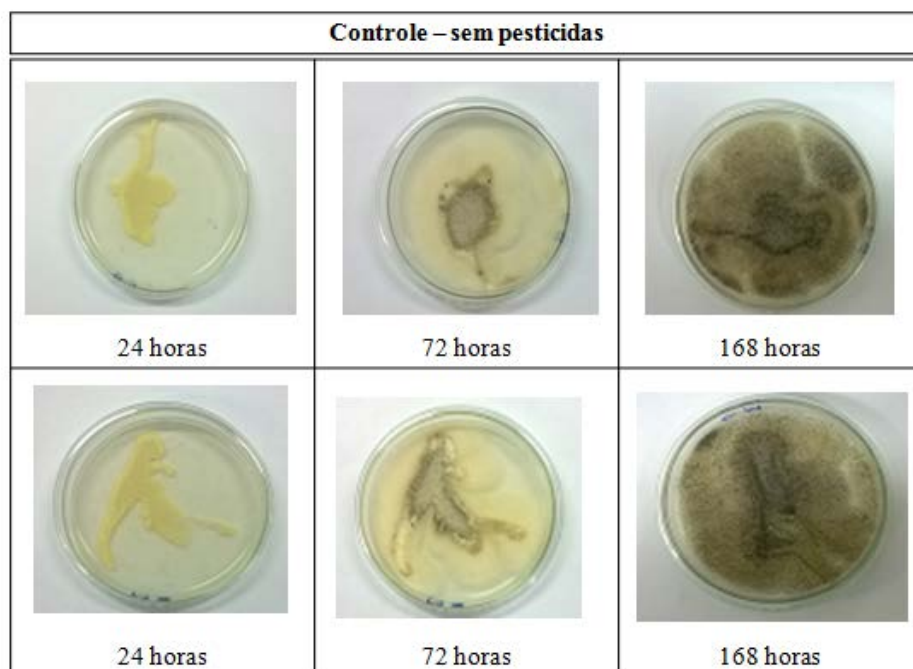


Figura 1 - Teste de Toxicidade com a presença de fungos e sem a presença dos pesticidas atrazina e metil paration.

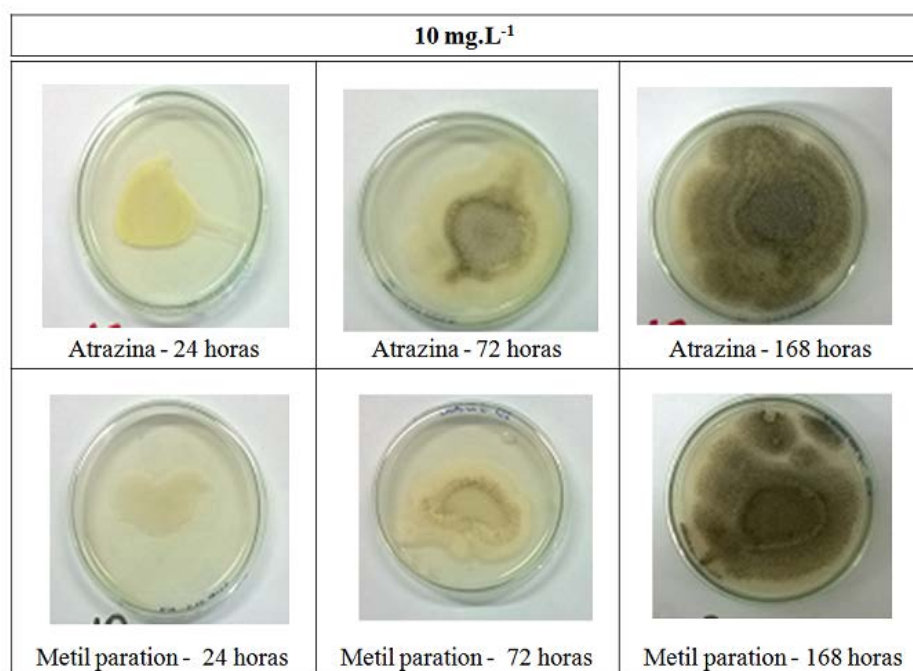


Figura 2 - Teste de Toxicidade com concentração de 10 mg.L⁻¹ de atrazina e metil paration.

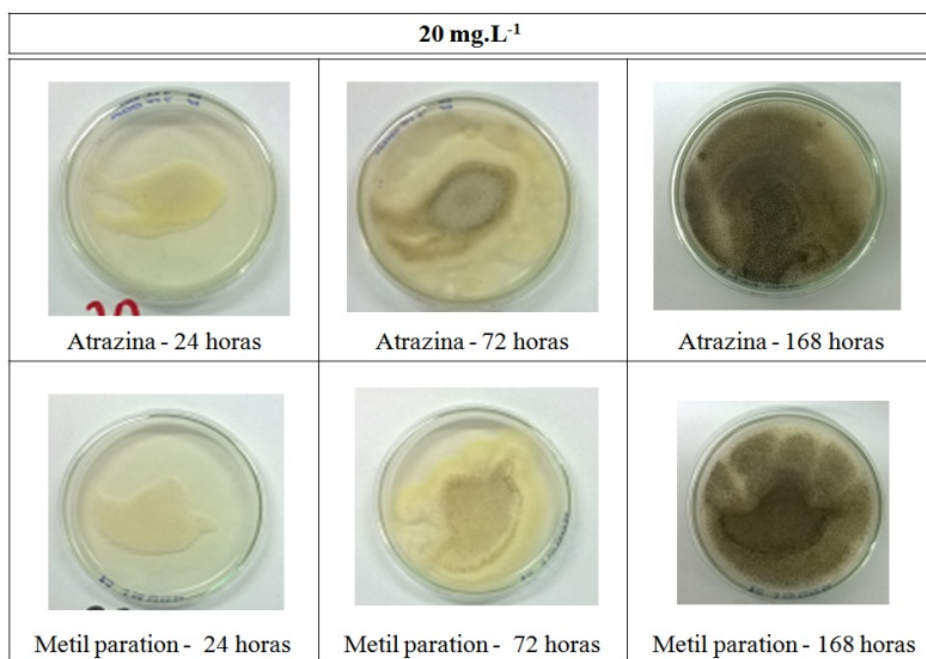


Figura 3 – Teste de Toxicidade com concentração de 20 mg.L⁻¹ de atrazina e metil paration.

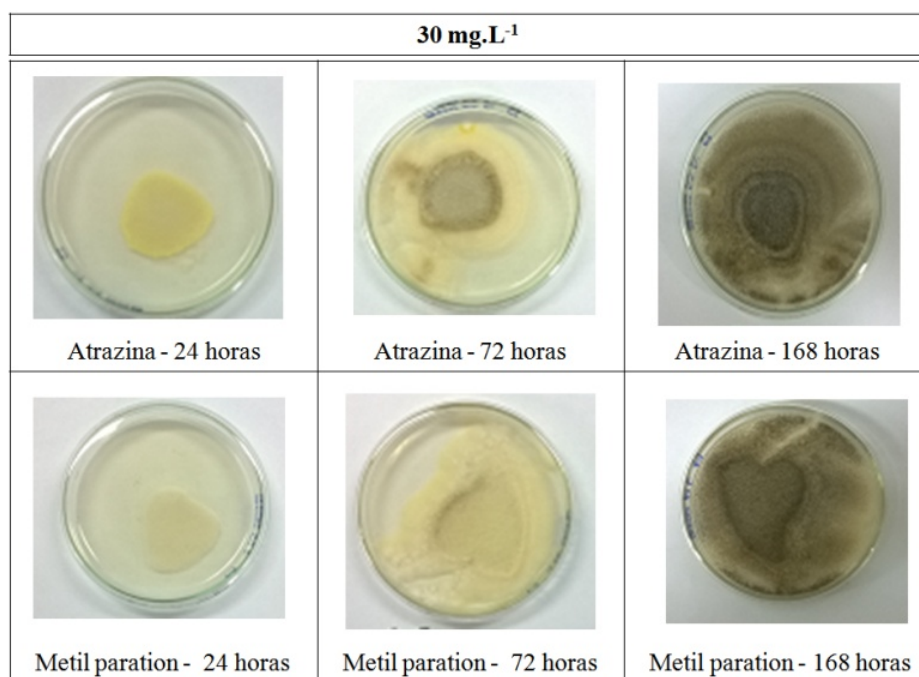


Figura 4- Teste de Toxicidade com concentração de 30 mg.L⁻¹ de atrazina e metil paration

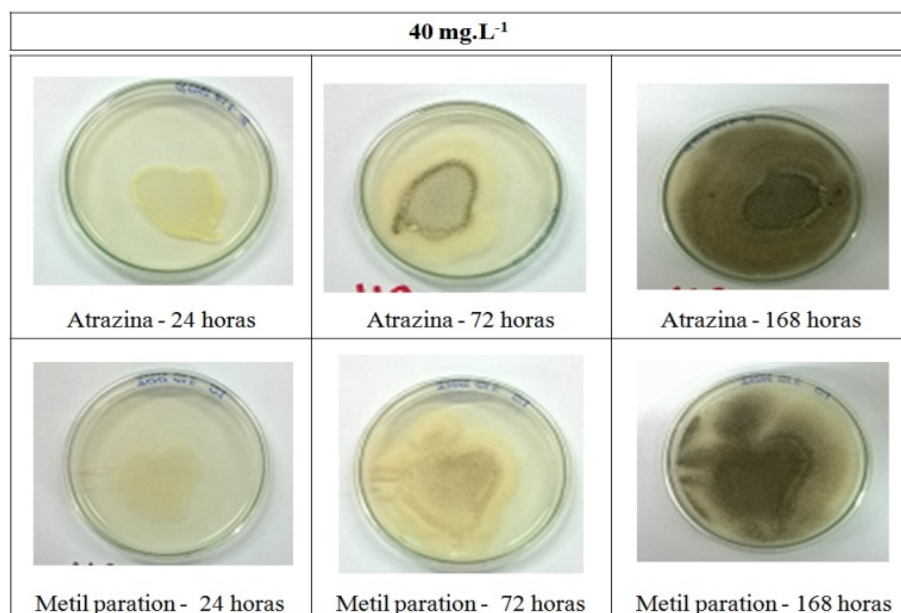


Figura 5 - Teste de Toxicidade com concentração de 40 mg.L⁻¹ de atrazina e metil paration.

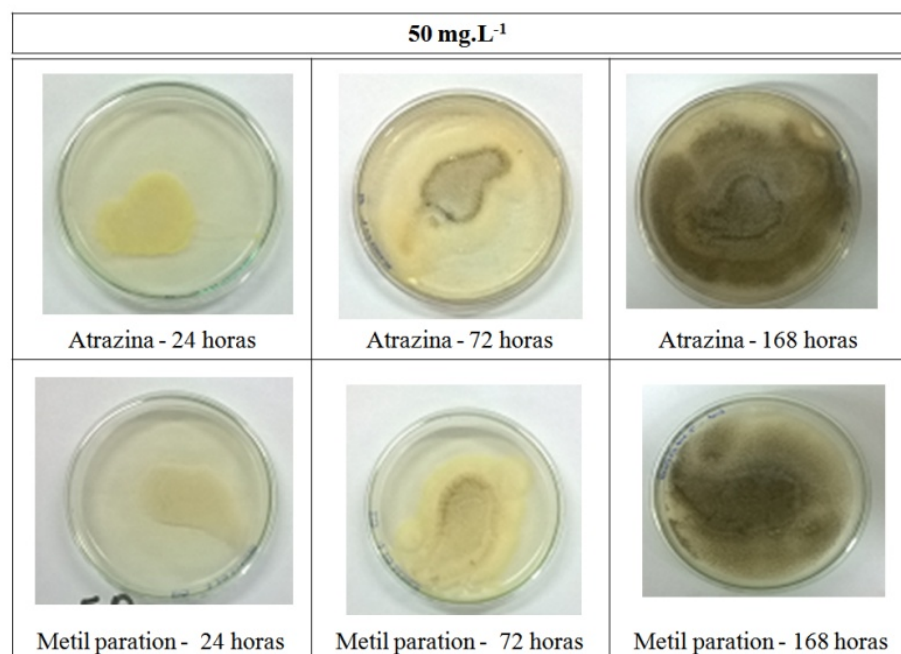


Figura 6- Teste de Toxicidade com concentração de 50 mg.L⁻¹ de atrazina e metil paration.

O mesmo fungo foi avaliado por Sampaio (2005) no teste de toxicidade com metil paration e atrazina. O *Aspergillus niger* conseguiu crescer em até 60 mg.L⁻¹ de metil paration e 25 mg.L⁻¹ de atrazina. Entretanto, a autora observou que nas concentrações mais altas, foi necessário um maior tempo de incubação para o fungo. A autora complementa que, nos testes de toxicidade, o meio onde é cultivado os micro-organismos oferece condições ideais, como fonte de carbono, proteínas, elementos-traço e temperatura ideal ao seu crescimento, e que a presença do composto metil paration, mesmo em concentrações elevadas, não impossibilitou o desenvolvimento da espécie.

Nos estudos de Silveira (2013) sobre a degradação do 2,4-dinitrofenol (2,4-dnf) por *Aspergillus niger* AN 400, a autora realizou o teste de toxicidade, utilizando a mesma tecnologia do presente estudo, com concentrações do 2,4-DNF variando entre 5 a 300 mg.L⁻¹. A autora relatou que houve crescimento do fungo em todas as

concentrações, a presença do composto não impediu o desenvolvimento da espécie fúngica, entretanto, em concentrações mais elevadas, o crescimento foi menor, assim como no presente estudo.

Neto (2012) também realizou o teste de toxicidade com os pesticidas atrazina, metil paration, paraquat e deltametrina com o *Aspergillus niger*. Os quatro pesticidas foram acrescentados juntos nas placas, com as concentrações variando entre 7,5 a 30 mg.L⁻¹. O autor verificou que o fungo também se desenvolveu em todas as placas, mas teve o crescimento reduzido nas placas que continham as maiores concentrações dos pesticidas.

Já Pereira (2011), avaliou o potencial de fungos na degradação do herbicida atrazina. Os fungos *Candida rugosa* INCQS 71011, *Lentinula edodes* INCQS 40220, *Penicillium simplicissimum* INCQS 40211 e *Pleurotus ostreatus* UFLA mostram-se tolerantes as concentrações de 10 mg.L⁻¹ do herbicida atrazina. A autora avaliou a tolerância dos fungos após a incubação de sete dias, através do diâmetro das colônias, as colônias que apresentavam diâmetro maior do que 4, toleravam a presença da atrazina. Não foi observado nenhuma alteração na morfologia dos fungos e o crescimento das colônias apresentaram diâmetro superior a 4 cm. Desta forma, a autora concluiu que os fungos estudados poderiam, posteriormente, ser utilizados na degradação da atrazina.

CONCLUSÃO

Os resultados obtidos no teste de toxidade em placas com os pesticidas atrazina e metil paration permitiram concluir que o fungo *Aspergillus niger* AN 400 foi capaz de tolerar e crescer em diferentes concentrações dos pesticidas, até mesmo nas mais elevadas (40 e 50 mg.L⁻¹). Evidenciando que o uso de fungos pode ser uma alternativa, em futuros estudos, para o tratamento de águas residuárias contaminadas com atrazina e metil paration.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. ANVISA (Agência Nacional de Vigilância Sanitária). Consulta Pública nº 62 de 19 de julho de 2001. Regulamento técnico do Paration metílico. Disponível em: <[http://www4.anvisa.gov.br/base/visadoc/CP/CP\[2853-1-0\].PDF](http://www4.anvisa.gov.br/base/visadoc/CP/CP[2853-1-0].PDF) > Acesso: em 25 de março de 2015.
2. EMPRAPA, Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária. Glossário – Herbicida, 2004. Disponível em: <<http://sistemasdeproducao.cnptia.embrapa.br/FontesHTML/Feijao/FeijaoVarzeaTropical/glossario.htm#h> > Acesso em 23 de março de 2015.
3. EPA, United States Environmental Protection Agency. **A Citizen's Guide to Bioremediation**, 2012. Disponível em < http://www.epa.gov/tio/download/citizens/a_citizens_guide_to_bioremediation.pdf > Acesso em 25 de março de 2015.
4. EPA, United States Environmental Protection Agency. **Methyl Parathion Risk Management Decision**, 2012. Disponível em < <http://www.epa.gov/pesticides/factsheets/chemicals/mpfactsheet.htm> > Acesso em 25 de março de 2015.
5. EPA, United States Environmental Protection Agency. **Why we use pesticides**. Estados Unidos , 2015. Disponível em < <http://www2.epa.gov/safepestcontrol/why-we-use-pesticides> > Acesso em 23 de março de 2015.
6. FARINAS, C.S.; BARBOZA, D.C. **Fungos filamentosos de interesse em agroenergia: avaliação de diferentes metodologias de preservação do fungo Aspergillus niger**, São Carlos: Embrapa Instrumentação, 2012.
7. GAYLARDE, C.C.; BELLINASSO, M.L.; MANFIO, G.P. **Biorremediação. Aspectos biológicos e técnicos da biorremediação de xenobióticos**. Biotecnologia Ciência e Desenvolvimento nº 34 – janeiro/junho 2005
8. GOMES, M.A.; BARIZON, R.R.M. **Panorama da contaminação ambiental por agrotóxicos e nitrato de origem agrícola no Brasil: cenário 1992/2011-** Jaguariúna, SP : Embrapa, Meio Ambiente, Documentos 98, 2014.
9. IBAMA, Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e dos Recursos Naturais Renováveis. **Boletim de Comercialização de Agrotóxicos e Afins. Histórico de vendas – 2010 a 2012**, Brasília, DF, 2013. Disponível em < http://www.ibama.gov.br/phocadownload/Qualidade_Ambiental/boletim%20de%20comercializacao_2000_2012.pdf > Acesso em 23 de março de 2015.

10. KHOURI, A.G. **Análise de resíduos de atrazina e simazina em abacaxi no estado de Goiás.** Universidade Católica de Goiás. Goiânia-GO, 2007
11. LONDRES, Flavia. **Agrotóxicos no Brasil: um guia par a ação em defesa da vida.** – Rio de Janeiro: AS-PTA – Assessoria e Serviços a Projetos em Agricultura Alternativa, 2011.
12. NETO, A.S. **Estudo da degradação de água residuária sintética dopada com os pesticidas atrazina, metil paration, paraquat e deltametrina em reatores em batelada inoculados com a espécie fúngica *Aspergillus niger* AN 400,** Dissertação (Mestrado), 2012.
13. PEREIRA, P.M. **Avaliação do potencial de fungos na degradação do herbicida atrazina.** Dissertação (Mestrado). Rio de Janeiro, 2011.
14. REBELO, R. M, et al. IBAMA- Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e dos Recursos Naturais Renováveis. **Produtos agrotóxicos e afins comercializados em 200 9 no Brasil: uma abordagem ambiental.** Brasília, 2010.
15. SAMPAIO, G. M. M. S. **Remoção de Metil paration e Atrazina em reatores de bancada com fungos.** Tese (Doutorado) - Escola de Engenharia de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos, 2005.
16. SILVEIRA, R.B. **Degradação do 2,4 – dinitrofenol (2,4 – DNF) por *Aspergillus niger* AN 400 em reatores em batelas.** Dissertação (Mestrado), 2013.
17. 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 herbicida triazínicos.** Ciênc. agrotec., Lavras, v. 32, n. 3, p. 809-813, maio/jun., 2008.