



# FERTBIO 2012

A responsabilidade socioambiental da pesquisa agrícola  
17 a 21 de Setembro - Centro de Convenções - Maceió/Alagoas

## Estudo Sobre a Viabilidade de Remediação de Pesticidas por Ectomicorrizas e Avaliação da sua Tolerância em Exposição ao Glifosato

**Pedro Henrique Riboldi Monteiro<sup>(1)</sup>; Álvaro Boson de Castro Faria<sup>(2)</sup>; Celso Garcia Auer<sup>(3)</sup>; Alessandro Camargo Ângelo<sup>(4)</sup>.**

(1) Estudante de pós-graduação; Centro de Ciências Florestais e da Madeira; Universidade Federal do Paraná - UFPR; Rua Lothário Meissner, 632, Curitiba, CEP: 80210-170, Jardim Botânico. [monteiro.ef@gmail.com](mailto:monteiro.ef@gmail.com); (2) Professor Efetivo, Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Campus da UTFPR, Dois Vizinhos, PR, CEP: 85.600-000 [alvarob@utfpr.edu.br](mailto:alvarob@utfpr.edu.br); (3) Pesquisador da Embrapa Florestas, Estrada da Ribeira km 111, Colombo, PR, 83.411-000, [auer@cnpf.embrapa.br](mailto:auer@cnpf.embrapa.br); (4) Professor Adjunto, Universidade Federal do Paraná, Campus da UFPR, Curitiba, PR, CEP: 80.210-270, [alessandro.angelo@ufpr.br](mailto:alessandro.angelo@ufpr.br);

**RESUMO**– Os fungos ectomicorrízicos (ECM) têm sido utilizados na produção de mudas florestais de qualidade. Neste trabalho, levantou-se a hipótese de que estes microrganismos também auxiliariam na degradação de moléculas orgânicas de pesticidas (xenobiontes) registrados no setor florestal. Este trabalho teve como objetivo avaliar a tolerância de fungo ectomicorrízico em exposição ao herbicida glifosato. O xenobionte atrasou o desenvolvimento do fungo ECM-Un01, no entanto a dose testada não foi suficiente para impedir seu desenvolvimento posterior. Existem, portanto, indícios do isolado ECM-Un01 ser tolerante ao glifosato, na dose utilizada.

**Palavras-chave:** biorremediação; defesa fitossanitária; manejo integrado.

**INTRODUÇÃO** - O glifosato é um herbicida bastante utilizado no controle das plantas daninhas, que competem por água, luz e nutrientes na implantação de florestas de produção.

A persistência residual e a degradação de pesticidas no solo dependem da ação dos microrganismos presentes, e que se alimentam das estruturas orgânicas destas moléculas (Faria, 2009). Uma atenção considerável tem sido dada no uso de plantas para remediar solos contaminados com metais e Poluentes Orgânicos Persistentes (POPs) (Meharg e Cairney, 2000). A biorremediação é uma área da biotecnologia ambiental e que pode ser definida como a aplicação de processos biológicos para o tratamento da poluição (Gadd, 2001). Muitos trabalhos tem se concentrado sobre o uso de bactérias, mas há uma clara desvalorização do potencial do envolvimento dos fungos na biodegradação (Gadd, 2001).

Os fungos ectomicorrízicos (ECM), por vezes presentes nas raízes de *Pinus* spp. e *Eucalyptus* spp., contribuem com a produção em biomassa vegetal. Segundo Meharg (2001), as enzimas produzidas por ECM, como lacases, tirosinases, oxidases e peroxidases são pouco seletivas sobre os POPs, indicando que ECMs poderiam degradar

estes poluentes. A vantagem dos fungos é que seu crescimento micelial maximiza, tanto fisicamente quanto mecanicamente a ação enzimática, em contato com o ambiente (Maloney, 2001).

Entende-se por rizorremediação (ou fitoestimulação) a capacidade que as raízes de certas plantas apresentam em estimular a ação de microrganismos degradadores de poluentes no solo. Estas e outras técnicas como fitoextração, fitotransformação e fitoestabilização estão entre as classes de fitorremediação (Pilon-Smits, 2005). Quando a atividade remediadora ocorre na rizosfera e não na planta propriamente, é preferível usar o termo rizorremediação ao invés de fitorremediação (Meharg e Cairney, 2000).

Os organismos remediadores devem, no mínimo, preencher três requisitos importantes (Meharg, 2001). O poluente deve estar biodisponível para o organismo remediador, este deve ser tolerante ao poluente presente nas concentrações encontradas no sítio a ser corrigido. Por fim, os organismos devem possuir a capacidade enzimática para degradar os poluentes de interesse (Meharg, 2001).

Apesar de estudos de laboratório terem mostrado a viabilidade, testes de campos sobre rizorremediação são praticamente inexistentes (Meharg, 2001). Ainda se conhece pouco sobre a diversidade funcional das enzimas das ECM (Cabello, 2001; Finlay, 2005), e os mecanismos de degradação de poluentes por ECM ainda são pouco conhecidos (Meharg e Cairney, 2000).

As interações de micorrizas com organismos do solo são inevitáveis, mas foram muito pouco estudadas (Meharg e Cairney, 2000; Perez-Moreno e Read, 2004; Finlay, 2005). Em condições naturais, ainda não é claro qual a prevalência da fonte nutricional das ECM, se são as plantas hospedeiras ou a matéria orgânica do solo (Treseder et al., 2006). Dentre as novas tendências ao se pesquisar micorrizas, destacam-se os estudos sobre a interação do micélio extra-radicular com substratos orgânicos e inorgânicos do solo (Finlay, 2005). Considerando que existem mais de seis mil espécies de

fungos ECM, é provável que exista uma considerável variação fisiológica entre os diferentes isolados de uma única espécie (Meharg e Cairney, 2000). No Brasil, os levantamentos de espécies vegetais e fúngicas, nativas e ectomicorrízicas são incipientes, sugerindo a urgência em se identificar os recursos genéticos disponíveis e o papel da simbiose ectomicorrízica nos ecossistemas do cerrado, nas florestas nativas e nos plantios com espécies exóticas (Costa et al., 2003).

Neste trabalho, levanta-se a hipótese na qual a inoculação de microrganismos no solo, poderia favorecer a remediação do herbicida glifosato, registrado para uso florestal. Para que um fungo ECM exerça atividade remediadora a um herbicida, é primordial que seja tolerante ao mesmo.

Este trabalho teve como objetivos analisar a viabilidade de remediação de pesticidas por ECM e avaliar a tolerância do fungo ectomicorrízico (ECM-Un01) em exposição ao herbicida glifosato.

**MATERIAL E MÉTODOS-** O estudo foi realizado nos Laboratórios de Proteção Florestal e de Solos, Departamento de Engenharia Florestal da Unicentro, em Irati/PR, localizado nas coordenadas 25°27'56" S e 50°37'51" W.

A coleta de fungos micorrízicos (solo micorrizado) foi efetuada com base no método descrito por Inoue (1972). O solo foi coletado sob uma árvore de *Pinus taeda* L., situada nas imediações do Campus e as micorrizas confirmadas pelo exame externo das raízes. O material foi armazenado em refrigerador até o momento de sua utilização.

O isolamento do fungo foi feito por meio da inserção de fragmentos de ectomicorrizas em placas de Petri com meio Agar-Batata-Dextrosado (BDA), na câmara de fluxo laminar. As placas continham entre 20 e 25 mL de meio de cultura.

Posteriormente, as placas foram acondicionadas na câmara BOD, com temperatura ajustada para 28 °C, com fotofase de 12 horas. Durante três meses, as placas com isolados do ECM-Un01 foram mantidas para desenvolvimento do micélio (produção de inoculante), e posterior inoculação no teste experimental.

Após a inoculação das placas com o isolado ECM-Un01, utilizou-se uma seringa para aplicar um mL de glifosato (Glifosato Nortox®<sup>1</sup>) concentrado sobre a placa, sendo então fechada hermeticamente. Como testemunha, a inoculação foi realizada em uma placa de Petri, sem a aplicação do herbicida. Novamente, as placas foram colocadas em câmara BOD com temperatura ajustada para 28 °C e fotofase de 12 horas de iluminação.

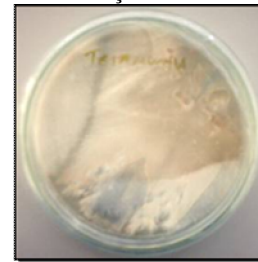
As avaliações foram realizadas aos 14, 28 e 42 dias após a aplicação do glifosato. Fotografias foram tomadas com o uso da máquina modelo Nikon L100. Trabalhos de edição de imagens foram executados no *software Picture Manager* e no *PhotoPhiltre 6.4.0*, a partir da função de correção automática de cor e brilho da imagem. As fotos

permitiram evidenciar o processo de colonização dos microrganismos nas placas.

O ensaio foi montado em delineamento inteiramente casualizado com quatro repetições (placa de Petri com meio de cultura).

**RESULTADOS E DISCUSSÃO-** Analisando-se a testemunha verificou-se que houve a colonização da placa pelo micélio do fungo, ocupando a maior parte de sua superfície. O ritmo de crescimento foi semelhante ao observado antes do experimento, no processo de produção do inoculante. As cores escuras evidenciam o micélio da ECM (Figura 1).

3ª Avaliação - 42 DAT\*



\*DAT: Dias após o tratamento.

Figura 1 – Crescimento micelial do isolado ECM-Un01 em meio BDA sem glifosato (testemunha).

Nas placas onde foi aplicado o herbicida, notou-se que as hifas tiveram um pouco mais de dificuldade de iniciar seu desenvolvimento em meio de cultura, mas o xenobionte não impediu a colonização (Figura 2). Na terceira avaliação, foi possível notar que o xenobionte atrasou o desenvolvimento da ECM-Un01, e a colonização não ocupou toda a superfície das placas, como verificado na testemunha. No entanto, a dose (1 mL) não foi suficiente para impedir o desenvolvimento posterior, aos 42 dias de cultivo (Figura 2). Pode ser afirmado, portanto, que a ECM-Un01 foi tolerante ao glifosato, na dose testada.

1ª Avaliação (14 DAT)



<sup>1</sup> Formulação comercial do herbicida autorizada para uso florestal no estado do Paraná (Andrei, 1999; Paraná, 2009).

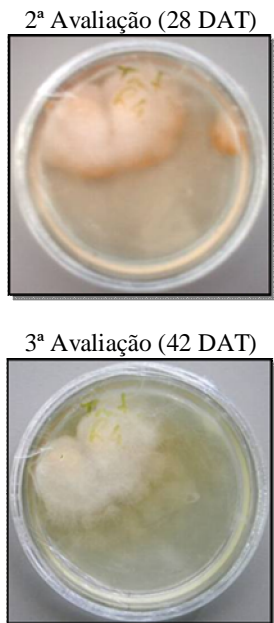


Figura 2 – Crescimento micelial do isolado ECM-Un01 em meio BDA contendo glifosato.

A eficiência de degradação vai depender de uma série de fatores, incluindo as taxas de crescimento de fungos, as condições de cultura, tempo de incubação e de nutrientes (Meharg e Cairney, 2000). A concentração de propágulos no solo também será um fator determinante na eficiência da remediação (Cabello, 2001). Meharg (2001) sugere que a rizosfera ideal deve ser resistente a vários poluentes. As enzimas de ECM são excretadas extracelularmente (Meharg, 2001). Para Cabello (2001), os estudos sobre rizorremediação devem focar quais exsudatos são produzidos pelas raízes das plantas. Meharg e Cairney (2000) mencionam que a degradação do herbicida 2,4D por micorrizas foi maior quando estavam em simbiose com plantas, em relação aos fungos ECM no solo.

O estudo de Treseder et al. (2006) sugere que a maior parte do carbono das ECM são adquiridos das árvores hospedeiras, não da matéria orgânica do solo. Para se comprovar a viabilidade na remediação do glifosato por ECM em campo, há que se levar em conta o argumento de Cabello (2001), no qual os fungos resistentes devem ser isolados de sítios contaminados.

Os estudos propostos são importantes para a elaboração de teorias na sustentabilidade agrícola e florestal (Finlay, 2005). Para Meharg (2001), as áreas remediadas não deixarão de fornecer posteriormente recursos madeireiros ao produtor florestal. Nesta linha de raciocínio, Meharg e Cairney (2000) lembram que as técnicas silviculturais devem ser consideradas para otimizar a remediação, mas ainda existem poucos exemplos de aplicação prática. Os usos de tecnologias de biorremediação estão em fase inicial, mas a idéia é válida para situações em que o sítio permita a recuperação do solo no longo prazo (Meharg, 2001). Para Meharg e Cairney (2000), a rizorremediação possui como vantagem potencial o baixo custo e o baixo distúrbio no solo que se quer descontaminar.

Este merece ser repetido com diferentes dosagens de glifosato, buscando quantificar a taxa de crescimento micelial da ECM-Un01 nas placas, para esclarecer qual o

nível de exposição ao glifosato que promove uma toxicidade aguda.

**CONCLUSÕES-** Houve desenvolvimento do isolado ECM-Un01 em meio de cultura com glifosato. Existe viabilidade de remediação de pesticidas por ECM e o isolado ECM-Un01 é tolerante ao glifosato, na dose utilizada.

#### REFERÊNCIAS

ANDREI, E. **Compêndio de defensivos agrícolas**. 6. ed. São Paulo, Andrei. 1999, 672 p.

CABELLO, M. N. Mycorrhizas and hydrocarbons. In: GADD, G.M. (org.). **Fungi in Bioremediation**. Oxford, Cambridge University Press. p. 456-471, 2001.

COSTA, M. D.; PEREIRA, O. L.; KASUYA, M. C. M.; BORGES, A. C. Ectomicorrizas: a face oculta das florestas. **Biociência**. 29: 39-46, 2003.

FINLAY, R. D. Mycorrhizal symbiosis: myths, misconceptions, new perspectives and future research priorities. **Mycologist**. 19: 90-95, 2005.

FARIA, A. B. C. Revisão sobre alguns grupos de inseticidas utilizados no manejo integrado de pragas florestais. **Ambiência**. 5: 345 – 358, 2009.

GADD, G.M. Preface. In: GADD, G.M. (org.). **Fungi in Bioremediation**. Oxford, Cambridge University Press. p. xi-xiii, 2001.

INOUE, M. T. Ensaio comparativo para dimensionar as influências causadas pela inoculação de fungos micorrízicos em mudas de *Pinus taeda* L. em relação à quantidade de inóculo presente no solo. **Floresta**, 4: 63-68, 1972.

MALONEY, S.E. Pesticide degradation. In: GADD, G.M. (org.). **Fungi in Bioremediation**. Cambridge University Press (ed.). p. 188-223, 2001.

MEHARG, A.A. The potential for utilizing mycorrhizal associations in soil bioremediation. In: GADD, G.M. (org.). **Fungi in Bioremediation**. Cambridge University Press (ed.). p. 445-455, 2001.

MEHARG, A.A.; CAIRNEY, J.W.G. Ectomycorrhizas – extending the capabilities of rhizosphere remediation? **Soil Biology & Biochemistry**, 32: 1475-1484, 2000.

PARANÁ. Agrotóxicos no Paraná. Secretaria da Agricultura e do Abastecimento do Paraná (SEAB) (Org.). Disponível em <<http://celepar07web.pr.gov.br/agrotóxicos/pesquisar.asp>>. Acesso em março de 2009.

PEREZ-MORENO, J.; READ, D.J. Los hongos ectomicorrízicos, lazos vivientes que conectan y nutren a los árboles en la naturaleza. **INCI**, 29: 239-247. 2004.

PILON-SMITS, E. Phytoremediation. **Annual Review of Plant Biology**. 56: 15-39, 2005.

TRESEDER, K.K.; TORN, M.S.; MASIELLO, C.A. An ecosystem-scale radiocarbon tracer to test use of litter carbon by ectomycorrhizal fungi. **Soil Biology & Biochemistry**. 38: 1077-1082, 2006.

