

# **UTILIZAÇÃO DE FUNGOS NA BIORREMEDIACÃO DE ÁGUAS CONTAMINADAS POR COLIFORMES FECAIS.**

BÖCKLER, Thomas Paul.<sup>1</sup>  
BÖCKLER, Karin Kristina Pereira.<sup>2</sup>  
SIMM, Kelen Cristiane Baratela.<sup>3</sup>

## **RESUMO**

Um dos recursos naturais mais importantes para a vida é a água e, apesar dela ser abundante, a parcela disponível para o uso humano é bem pequena. A poluição ambiental e povoamento as margens dos corpos d'água prejudicam ainda mais essa situação, pois acabam liberando grande quantidade de matéria orgânica provocando seu acúmulo e, consequentemente, uma alteração físico química da água tornando-a imprópria para utilização ou consumo humano e para a vida aquática causando a morte da fauna residente. Com isso pesquisas de biorremediação se tornam muito importantes pois o uso adequado de organismos podem reestabelecer o equilíbrio ambiental sem gerar resíduos. Dessa forma esta pesquisa teve como objetivo verificar se o fungo *Stropharia rugoso-annulata* pode ser utilizado como biorremediador no controle da quantidade coliformes totais e fecais da água do córrego Bezerra, utilizando a técnica do número mais provável para coliformes. Para isso foram realizadas duas coletas de três pontos do córrego sem tratamento. Em todos eles foi observada a presença de coliformes, porém os resultados dos três pontos foram muito diferentes entre as duas coletas, dessa forma optou-se por realizar o experimento em laboratório para eliminar as variáveis ambientais. No laboratório foi simulado um curso da água contaminada com coliformes fecais através da mistura de água com fezes de cachorro diluídas. Essa água foi conduzida por dois sistemas de filtragem, sendo que um deles apresentava apenas cavacos estéreis (sem tratamento) e o outro cavacos com o fungo *Stropharia rugoso-annulata*. Os testes mostraram que houve uma redução de 54,2% de coliformes totais e 80,8% de coliformes fecais na água que passou pela filtragem que continha os fungos, sendo que a água da filtragem estéril não apresentou nenhuma mudança na quantidade de coliformes. A biorremediação com fungos é uma tecnologia promissora, barata e ecologicamente correta pois não deixa nenhum resíduo tóxico ou sintético no meio ambiente, pois seus restos orgânicos podem ser utilizados como adubo.

**PALAVRAS-CHAVE:** Poluição ambiental, Micorrestruturação, Filtragem ecológica, *Stropharia rugoso-annulata*.

## **BIOREMEDIATION OF CONTAMINATED WATER WITH FECAL COLIFORMS USING FUNGI.**

## **SUMMARY**

One of the most important natural resources for life is water, and although it is abundant, the share available for human use is very small. The environmental pollution and settlement margins of water bodies jeopardize even more the situation as just releasing large amounts of organic matter resulting in its accumulation, and hence a physicochemical change in the water making it unsuitable for use or human consumption and aquatic life, causing the death of the resident wildlife. Thereby bioremediation research becomes very important because the proper use of organisms can restore the environmental balance without generating waste. In this way this study was to verify whether the fungus *Stropharia rugoso-annulata* can be used as bioremediator in controlling the amount of total and fecal coliforms in stream of water call Bezerra, using the technique of most probable number for coliforms. For this were done two collections in three points of the stream without treatment. In all of them was the presence of coliforms observed, but the results of the three points were very different between the two collections, thus it was decided to perform the experiment in the laboratory to eliminate environmental variables. In the laboratory was simulated an course of water contaminated with fecal coliforms by a mixture of water with diluted dog feces. This water was conducted for two filter systems, one of which contained only sterile chips (no treatment) and other chips with the fungus *Stropharia rugoso-annulata*. Tests have shown a reduction of 54.2% in total coliforms and 80.8% in fecal coliforms in the water that

<sup>1</sup>Acadêmico do curso de agronomia do Centro Universitário Assis Gurgacz. E-mail: [thomaspaul0909@gmail.com](mailto:thomaspaul0909@gmail.com)

<sup>2</sup>Graduada em Ciências Biológicas, Bacharel e Licenciatura, pela Universidade Federal do Paraná. Mestre em Zoologia pela Universidade Federal do Paraná. Coordenadora e docente do Centro Universitário Assis Gurgacz. E-mail: [karin@fag.edu.br](mailto:karin@fag.edu.br)

<sup>3</sup>Graduada em Ciências Biológicas, Bacharel e Licenciatura, pela Universidade Estadual de Londrina. Mestre em Microbiologia pela Universidade Estadual de Londrina. Docente do Centro Universitário Assis Gurgacz. E-mail: [kelen@fag.edu.br](mailto:kelen@fag.edu.br)

passed through the filter containing the fungi, being that in the sterile water filter showed no change in the amount of coliforms. Bioremediation with fungi is a promising, inexpensive and environmentally friendly technology because it leaves no toxic or synthetic waste in the environment, because their organic waste can be used as fertilizer.

**KEYWORDS:** Environment pollution, Mycorestoration, Ecological filtering, *Stropharia rugoso-annulata*.

## **1. INTRODUÇÃO**

A água é um dos recursos naturais mais importantes para a manutenção da vida e, embora a quantidade de água presente no planeta seja muito grande, a maioria é de água salgada, restando apenas 2,7% de água doce, além disso, uma grande parte dessa porcentagem, cerca de  $\frac{3}{4}$ , se apresenta na forma congelada nos trópicos ou armazenada em depósitos subterrâneos, dificultando seu uso. O restante está disponível em lagos, rios e córregos, sendo estas as principais fontes de água potável, representando, apenas 0,01% do suprimento total de água do planeta.

Outro grande problema relacionado à disponibilidade de água doce é a poluição ambiental, pois a maioria dos corpos d'água, que se localiza próximo às áreas urbanas, se encontra contaminado por excesso de poluentes de origem orgânica, levados aos rios por despejo direto de efluentes ou transportados, indiretamente, pelas águas das chuvas. Esses resíduos acabam, muitas vezes, levando à eutrofização destes, inviabilizando ou dificultando a manutenção da vida aquática e a qualidade da água. Dessa forma a avaliação dessa qualidade é imprescindível para a detecção de áreas contaminadas e a realização de medidas que visem recuperar a área afetada. Dessa forma essa pesquisa tem como objetivo verificar se o fungo *Stropharia rugoso-annulata* pode ser utilizado como biorremediador para a diminuição da quantidade de coliformes totais e fecais da água do córrego Bezerra na cidade de Cascavel, PR.

## **2. FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA**

A água é um bem natural, patrimônio da humanidade, portanto, de direito de todos; ela é o elemento fundamental da vida, pois é necessária para a maioria dos processos físicos, químicos e biológicos dos organismos. Seus múltiplos usos são indispensáveis, entre eles se destacam o abastecimento público e industrial, a irrigação, a produção de energia elétrica e as atividades de lazer e recreação, bem como a preservação da vida aquática (BARROS *et al*, 2012), mas, apesar de ser o recurso natural mais abundante da Terra, está disponível em diferentes quantidades e em diferentes locais, sendo que apenas 2,7% de toda a água é considerada doce, isto é com salinidade menor que 0,5% e pode ser utilizada nos processos biológicos. Infelizmente a sociedade humana

vem explorando este recurso de forma não sustentável, acarretando em uma baixa qualidade dos recursos hídricos, bem como a sua escassez (BUZELLI e CUNHA-SANTINO, 2013). Os impactos das atividades humanas no ciclo hidrológico e na qualidade das águas decorrem de um grande conjunto de atividades humanas, resultados dos múltiplos usos que a população faz desta água. Essas atividades variam dependendo da concentração da população, economia regional e atividades agrícolas e industriais presentes, dessa forma os impactos não são iguais e apresentam diferentes proporções sobre cada componente do ciclo hidrológico. Além de contaminar e degradar a qualidade das águas superficiais, essas atividades também deterioraram as águas subterrâneas (TUNDISI, 2006).

Segundo Tundisi (1999), alterações na quantidade, distribuição e qualidade dos recursos hídricos pode, ameaçar a sobrevivência humana e das demais espécies do planeta, dessa forma o desenvolvimento econômico e social dos países deveria estar fundamentado na disponibilidade de água de qualidade, bem como na sua capacidade de conservação e proteção da mesma. A contaminação e o aumento das substâncias tóxicas presentes na água e de vetores de doenças, que apresentam uma veiculação hídrica, estão diretamente relacionados com a deficiência do saneamento básico e das condições inadequadas do tratamento das águas contaminadas por vários processos. Sendo que, atualmente, um dos problemas mais sérios, é o aumento da toxicidade dos ambientes aquáticos e das inúmeras substâncias orgânicas (inclusive disruptores endócrinos) dissolvidas na água e que podem causar inúmeros impactos diretos ou indiretos na saúde humana.

Todas as atividades humanas consomem, atualmente, um volume aproximado de 6.000 km<sup>3</sup>/ano com tendência para aumento. Esse aumento do consumo global da água e sua possível redução dependem do gerenciamento e da inovação tecnológica disponível para aperfeiçoar os mecanismos de gestão (TUNDISI, 2006). Os custos dos impactos também podem ser analisados levando-se em conta os custos da produção de água potável pelos sistemas de tratamento. À medida que aumenta a deterioração dos recursos hídricos superficiais ou subterrâneos, aumentam os custos do seu tratamento devido à necessidade de investimento tecnológico para produzir água potável (TUNDISI, 2005).

A situação crítica dos recursos hídricos, em muitas regiões do planeta, levou a discussão para fóruns regionais, nacionais e internacionais. Nos últimos dez anos ocorreram inúmeros avanços nas propostas, ações e organização para a gestão das águas. Há um reconhecimento mundial de que a integração entre pesquisa e gerenciamento é um dos avanços importantes que deve ser estimulado para melhorar a gestão e ampliar a otimização desses usos múltiplos (FREDERICK, 1993 *apud* TUNDISI, 2006).

As fontes que levam à degradação da qualidade da água podem ser classificadas em pontuais, que são aquelas caracterizadas pelos efluentes domésticos e industriais, e em difusas, que são os resíduos provenientes da agricultura (fertilizantes, herbicidas, inseticidas, fungicidas, entre outros), o escoamento superficial (urbano e rural) (CETESB, 2012). O comprometimento da qualidade da água para fins de abastecimento doméstico é decorrente de poluição causada por diferentes fontes, tais como efluentes domésticos, efluentes industriais e deflúvio superficial urbano e agrícola. Os efluentes domésticos, por exemplo, são constituídos basicamente por contaminantes orgânicos, nutrientes e microorganismos, que podem ser patogênicos (MERTEN e MINELLA, 2002).

No Brasil, embora a água seja considerada recurso abundante, existem áreas muito carentes a ponto de transformá-la em um bem limitado às necessidades do homem. Normalmente, a sua escassez é muito mais grave em regiões onde o desenvolvimento ocorreu de forma desordenada, provocando a deterioração das águas disponíveis, devido ao lançamento indiscriminado de esgotos domésticos, despejos industriais, agrotóxicos e outros poluentes (MOITA e CUDO, 1991). Em áreas com elevada densidade populacional observa-se que a degradação ocorre principalmente devido ao lançamento de matéria orgânica, nutrientes, substâncias inorgânicas e tóxicas a partir de efluentes domésticos e industriais. Já em áreas de baixa densidade populacional a contribuição de nutrientes e sedimentos à bacia de drenagem são as principais fontes de impactos aos corpos aquáticos. A introdução de nutrientes, nitrogênio e fósforo, em corpos aquáticos por fontes pontuais ou difusas de poluição, pode ocasionar o processo de eutrofização. Quando ocorre de forma natural, a eutrofização é um processo gradual e lento, ao contrário da eutrofização cultural, que ocorre de forma acelerada, com aumento desordenado na produção de biomassa, impossibilitando a sua incorporação pelo sistema aquático na mesma velocidade de produção e provocando, assim, um desequilíbrio ecológico (FERREIRA *et al.*, 2005). Nos Estados Unidos a eutrofização cultural é um dos fatores primários do comprometimento de águas superficiais (USEPA, 1996 *apud* BEM *et al.*, 2013).

O elevado desenvolvimento da biomassa no sistema produz impactos significativos na qualidade das águas, turbidez e cor, alteração no sabor e odor, redução de oxigênio dissolvido, que pode ocasionar mortandades de peixes e outros seres vivos, e redução da balneabilidade. Uma das formas de estimar o grau de degradação de corpos aquáticos é partir da utilização de índices de qualidade. Os Índices de qualidade da água foram propostos visando resumir as variáveis analisadas em um número que possibilite analisar a evolução da qualidade da água no tempo e no espaço e que sirva para facilitar a interpretação de variáveis ou indicadores (GASTALDINI e SOUZA, 1994 *apud* BEM *et al.*, 2013)

Para uma interpretação ecológica da qualidade das águas superficiais e/ou para estabelecer um sistema de monitoramento, é necessário a utilização de métodos simples e que forneçam informações objetivas e interpretáveis, partindo para critérios próprios que considerem as características peculiares dos recursos hídricos (PINEDA e SCHÄFER, 1987). Neste aspecto, o uso de índices de qualidade de água é uma tentativa que todo programa de monitoramento de águas superficiais prevê como forma de acompanhar, através de informações resumidas, a possível deterioração dos recursos hídricos ao longo da bacia hidrográfica ou ao longo do tempo (TOLEDO e NICOLELLA, 2002).

A interação entre as diversas variáveis mensuradas em uma amostra de água constitui no ponto de partida para avaliação da qualidade da água, desde que estas interações sejam obtidas de uma distribuição amostral, no espaço e no tempo, das variáveis do sistema a ser estudado (HARMANCIOLU *et al.*, 1998).

Várias técnicas para elaboração de índice de qualidade de água têm sido usadas, sendo a mais empregada àquela desenvolvida pela National Sanitation Foundation Institution e usada em países como EUA, Brasil, Inglaterra (OLIVEIRA, 1994; OREA, 1998). Outros índices foram desenvolvidos baseados em características físico-químicas da água, como o de Liebmann, Harkins; além de índices baseados em características biológicas, comumente associados ao estado trófico dos rios (TOLEDO e NICOLELLA, 2002).

Segundo Alves (2006), restaurar ecossistemas é o que se tem atribuído ao desafio de, por meio de interferências planejadas, reconstruir a estrutura e criar condições para que se restabeleçam os processos ecológicos naturais de cada ecossistema. Dentre as inúmeras tecnologias para remediação, destaca-se a biorremediação, como uma opção para promover a restauração do local ou a remoção ou neutralização de elementos contaminantes. A estratégia de biorremediação consiste na utilização de processo ou atividade biológica, por meio de organismos vivos (micro-organismos e plantas), que possuem a capacidade de modificar ou decompõr determinados poluentes, transformando contaminantes em substâncias inertes. Esta biotecnologia vem sendo utilizada há vários anos e, em certos casos, apresenta menor custo e maior eficiência na remoção dos contaminantes do que as técnicas físico químicas, sendo atualmente utilizada em escala comercial no tratamento de diversos resíduos e na remediação de áreas degradadas (BAMFORTH e SINGLETON, 2005 *apud* SOARES *et al.*, 2011)

O emprego dos fungos, na remoção dos poluentes, começou a ser estudado nos últimos trinta anos, do século XX. Peralta-Zamora e colaboradores (1998), na busca por estudos de degradação de poluentes por fungos, citaram os primeiros trabalhos relatados com o uso de *Saccharomyces cerevisiae* para remoção de lindano e dieldrin por Nobles em 1975, seguido do trabalho de

Khindaria e colaboradores, no mesmo ano, que estudaram a degradação de heptacloro por fungos do gênero *Aspergillus*. Mesmo assim, foi apenas nas últimas décadas que houve um incremento nas pesquisas de biodegradação por fungos. Singh (2006) em seu livro intitulado: “*Mycoremediation: fungal bioremediation*” salientou que, por serem exímios biodegradadores de uma vasta variedade de compostos, os fungos são organismos promissores, que estão gerando cada vez mais resultados positivos para a recuperação de áreas degradadas por meio do processo de biorremediação. O autor, portanto, defende a utilização de termos mais específicos a fungos, ou seja: micorremediação, micodegradação e micodeteriorização (BAMFORTH e SINGLETON, 2005 *in SOARES et al.*, 2011).

Um dos fungos que podem ser utilizados na biorremediação de águas é o *Stropharia rugoso-annulata*, da família Strophariaceae, onde, seu micélio, denominado como filtro, degrada a matéria orgânica em excesso, eliminando-a do curso d’água, reequilibrando as condições físico-químicas da água possibilitando a continuidade e equilíbrio da vida aquática e recuperando a qualidade da mesma (STAMETS, 2005). Sendo assim a presente pesquisa tem como objetivo analisar e diagnosticar a qualidade da água em três pontos do Córrego Bezerra, identificando a incidência de coliformes totais e fecais (*Escherichia coli*) e aplicar a técnica de biorremediação por fungos *Stropharia rugoso-annulata*, verificando sua eficácia na recuperação da área contaminada.

### **3. METODOLOGIA**

#### **3.1 DESCRIÇÃO DA ÁREA DE ESTUDO**

O presente trabalho foi realizado no Córrego Bezerra, Município de Cascavel na região oeste do Paraná. A cidade situa-se no terceiro planalto, a uma altitude média de 785, sob as coordenadas geográficas 24° 36' S 51° 23' O, distante 515 km da capital Curitiba e 143 km de Foz do Iguaçu (TOSIN, 2005), possui uma área territorial de 2.100,831 km<sup>2</sup> e uma população estimada de 309.259 pessoas, conferindo uma densidade demográfica de 136,23 habitantes por Km<sup>2</sup> (IBGE, 2015).

Por sua posição geográfica Cascavel apresenta um clima temperado e saudável a maior parte do ano. No inverno está sujeito a geadas e no verão a temperaturas elevadas. De acordo com a classificação Climática de Köeppen é um clima subtropical úmido mesotérmico, com verões quentes e geadas pouco frequentes com tendência de concentração de chuvas nos meses de verão, sem estação seca definida. A média das temperaturas dos meses mais quentes é superior a 22°C e a

dos meses mais frios é inferior a 18 °C. A umidade relativa do ar fica em torno de 75% e os ventos sopram na direção nordeste/sudoeste e leste/oeste com velocidade média entre 33 km/h e 46 km/h. (Prefeitura Municipal de Cascavel, Paraná, 2010)

A vegetação do tipo subtropical se caracteriza pela ocorrência das florestas de matas de araucária e florestas da bacia do Rio Paraná e rio Uruguai, em que predominam árvores de grande porte, no entanto essa vegetação se encontra, atualmente, bastante modificada em virtude das atividades da agricultura e agropecuária que são intensas. Seu solo é classificado como latossolo roxo, com terra roxa estruturada e apresenta solos profundos com boa capacidade de retenção de água, permeabilidade e aeração (TOSIN, 2005).

O município de Cascavel é banhado por uma extensa rede de drenagem que converge, principalmente para noroeste, no sentido do Lago de Itaipu e predominam os Rios São Francisco Lopeí e Rio das Andas, possuindo também vários córregos, dentre eles o córrego Bezerra que deságua no Rio São Francisco. Com vergência para o norte, Bacia do Piquiri se encontram, principalmente, os rios Iguá, Ano Novo, Piquirizinho, Tesouro, Sapucáia, barreiros, melissa, Boi piguá e vários outros córregos. Para o sul, bacia do Rio Iguaçu, se encontram os rios cascavel, tormenta, Andrada, Rio das Flores, Rio do Salto, Arquimedes, São José e outros córregos (TOSIN, 2005).

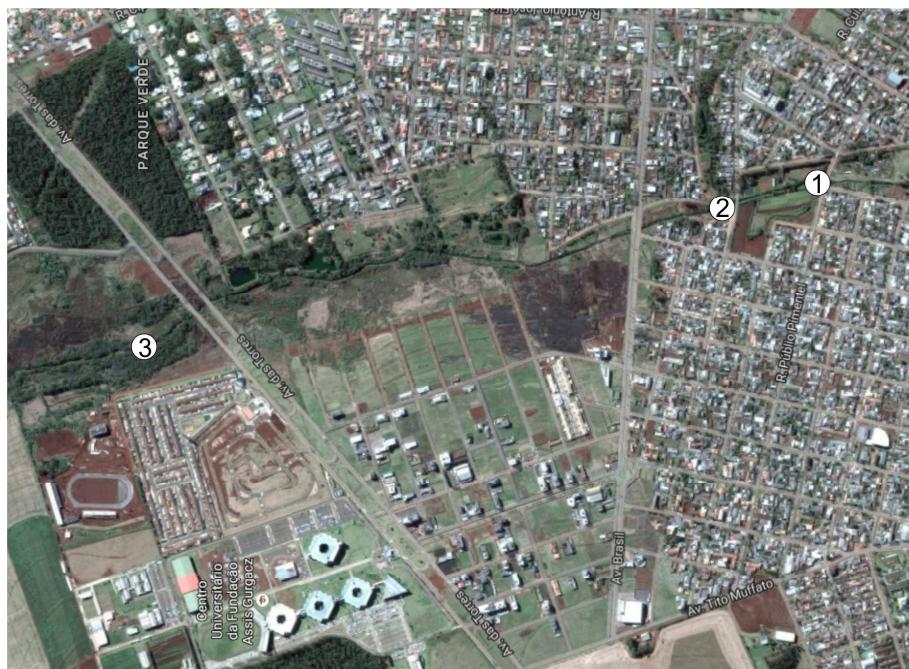
O Córrego Bezerra é um afluente do Rio das Antas que está localizado na bacia do Paraná III. É um rio perene, considerado pelo Instituto do Paraná como classe II conforme classificação da resolução CONAMA 357 e percorre o perímetro urbano e rural do município, servindo como receptor de uma das estações de tratamento de esgoto da cidade de Cascavel (ORSSATTO, 2008). Além da coleta em campo, realizada no Córrego Bezerra as análises da qualidade da água e os testes de biorremediação com o fungo *Stropharia rugoso-annulata* foram realizados no Laboratório de Microbiologia do Centro Universitário Assis Gurgacz em Cascavel, PR.

### 3.2 COLETA E ANÁLISE DA ÁGUA

Foram selecionados três pontos amostrais ao longo do Córrego Bezerra (fig.1) e realizadas duas coletas de cada ponto, dos dias 28 de março de 2016 e 02 de maio 2016, para as análises preliminares de quantificação de coliformes totais e fecais. O primeiro e o segundo ponto estão localizados em uma área bem urbanizada e o terceiro se encontra em uma área com vegetação nas margens do córrego. Foram realizadas duas coletas em dias diferentes com o propósito de verificar a ocorrência dos coliformes. As amostras foram coletadas em frascos estéreis, acondicionadas em

caixa isotérmica, e levadas para imediata análise no Laboratório de Microbiologia do Centro Universitário Assis Gurgacz, onde foi realizado a técnica do número mais provável para coliformes totais e fecais.

Figura 1 – Mapa da área de pesquisa ilustrando os 3 pontos de coletas da água do córrego Bezerra.



Fonte: Google mapas (2015), adaptado para a identificação dos pontos de coleta.

Para a análise foi necessário realizar três diluições de cada amostra em tubos de ensaio, com 3 repetições cada, sendo: a) Primeira diluição ( $10^{-1}$ ), 1ml da água coletada pipetada em um tubo com 9ml de bactopeptona (ADPT 0,1%); b) Segunda diluição ( $10^{-2}$ ), 1ml da solução anterior (a) pipetada em um tubo com 9ml bactopeptona (ADPT 0,1%); e c) Terceira diluição ( $10^{-3}$ ), 1ml da solução anterior (b) pipetada em tubos com 9ml bactopeptona (ADPT 0,1%).

### 3.2.1 Teste presuntivo

Utilizou-se três tubos de ensaio, para cada diluição contendo, em cada um dos tubos de ensaio, um tubo de Durlan e 10ml do meio de cultura Caldo Lauril Sulfato Triptose (LST-S). Neste caso foram necessários nove tubos pois, de cada diluição anterior pipetou-se 1 ml em cada um dos tubos contendo LST-S, da seguinte forma: pipetar 1 ml da diluição de  $10^{-1}$  e passar para um tubo contendo LST-S e numerar com o expoente da diluição ( $10^{-1}$ ); pipetar 1 ml da diluição  $10^{-2}$  e passar para outro tubo contendo LST-S e numerar com o expoente da diluição ( $10^{-2}$ ); pipetar 1 ml da

diluição  $10^{-3}$  e passar para outro tubo contendo LST-S e numerar com o expoente da diluição ( $10^{-3}$ ); totalizando nove tubos contendo o meio LST-S e o inóculo para cada diluição. Incubar a série dos tubos por 24 à 48 horas, em estufa incubadora regulada à 35°C. Transcorrido o tempo de incubação, foram separados e contados apenas as amostras que apresentaram o aparecimento de gás nos tubos de Durlan, evidenciando a presença de coliformes.

### 3.2.2 Teste confirmativo de Coliformes Totais e Fecais

#### 3.2.2.1 Coliformes Totais

Para cada tubo LST-S positivo foi necessário um tubo de ensaio contendo um tubo de Durlan e 10ml do meio Caldo Verde Brilhante (VB). Adicionou-se, com o auxílio de uma alça bacteriológica, 1 alçada de cada tubo positivo de LST-S, do teste presuntivo, em um dos tubos contendo VB. Os tubos de VB inoculados foram deixados na estufa incubadora, à 35°C (+/- 1°C), por 24 à 48 horas. Transcorrido o tempo de incubação foram selecionados apenas os tubos com aparecimento de gás indicando a presença confirmativa de coliformes totais.

#### 3.2.2.2 Coliformes Fecais

Para cada tubo LST-S positivo foi necessário um tubo de ensaio contendo um tubo de Durlan e 10 ml do meio caldo *E. coli* (EC), no qual adicionou-se, com o auxílio de uma alça bacteriológica, uma alçada de cada tubo positivo de LST-S, do teste presuntivo, em um dos tubos contendo EC. Incubar os tubos de EC inoculados por 24 horas em um banho-maria de 45,5°C (+/- 1°C). Transcorrido o tempo de incubação foram selecionados apenas os tubos com aparecimento de gás indicando a presença confirmativa de coliformes fecais. Os resultados foram planilhados em tabelas para facilitar as análises.

### 3.2.2.3 Teste confirmativo de *Escherichia coli*

Para cada tubo (EC), com indicação positiva de coliformes fecais, da etapa anterior, foi necessária uma placa de Petri contendo Agar Eosina Azul de Metíleno (EMB), na qual foi estriado uma alçada com auxílio da alça bacteriológica estéril. As placas inoculadas foram incubadas por 24 horas na estufa incubadora, à 35°C (+/- 1°C). Transcorrido o tempo de incubação foi verificado o número de placas em que ocorreu o desenvolvimento de colônias típicas de *E. coli* (nucleadas com centro preto, com ou sem brilho metálico).

## 3.3 BIORREMEDIAÇÃO

Como as análises dos pontos de coleta da água do rio apresentaram grandes diferenças foi realizada uma simulação de um curso d'água para a obtenção de amostras confiáveis. Foi utilizado um tambor de água de plástico, com 240 litros, e fezes de cachorro diluídas, a esse tambor foi acoplado um motor de aquário, com capacidade de 100 litros/hora, para criar a circulação desta água contaminada. Essa circulação foi dividida em dois cursos da água, o primeiro foi conduzido por três baldes de plástico, de quatro litros cada, empilhados e com a tampa e o fundo perfurados, sendo que cada um continha cavaco de madeira estéril como filtro; o segundo curso passou por três baldes empilhados, da mesma forma que o anterior, mas contendo cavaco de madeira inoculada com o fungo *Stropharia rugoso-annulata*. Após uma hora de circulação da água foram retiradas três amostras de água: A) Antes da passagem da água pelos baldes; B) Após o terceiro balde contendo cavaco estéril e; C) Após o terceiro balde contendo cavaco de madeira inoculada com o fungo *Stropharia rugoso-annulata*.

## 4. ANÁLISES E DISCUSSÕES

Os resultados dos testes, realizados com as amostras do Córrego Bezerra, mostraram a presença de coliformes nos três pontos de coleta, com uma incidência menor no terceiro, porém, na primeira coleta dois pontos apresentaram uma ocorrência maior de coliformes do que na segunda coleta, como pode ser visualizado na tabela 1, dessa forma considerou-se que, na região, ocorre uma variação da presença de coliformes, inviabilizando os testes de biorremediação em campo, pois poderiam não refletir uma diminuição de coliformes devido à ação do fungo, mas apenas por uma

variação ambiental, sendo assim optou-se por realizar o teste em laboratório, todos os fatores envolvidos poderiam ser controlados.

Tabela 1 - Resultados das análises da quantidade de coliformes totais e fecais nos três pontos de coleta do Córrego Bezerra, expressas em número mais provável por ml (nmp/ml)

Pontos de coleta	Coliformes Totais (nmp/ml)		Coliformes fecais (nmp/ml)	
	1 <sup>a</sup> Coleta 28/03/16	2 <sup>a</sup> coleta 02/05/16	1 <sup>a</sup> Coleta 28/03/16	2 <sup>a</sup> coleta 02/05/16
Ponto 1	43	43	43	04
Ponto 2	210	39	210	04
Ponto 3	04	00	04	00

Fonte: Dados da Pesquisa.

Nas análises realizadas com o experimento em laboratório obteve-se uma contaminação inicial (ponto A), por fezes de cachorro, maior que 2400 nmp/ml, tanto para coliformes totais quanto fecais. Após a passagem pelos baldes com cavacos estéreis a contagem permaneceu maior que 2400 nmp/ml em ambos os casos, mas a análise da amostra de água que foi conduzida pelos baldes com o fungo apresentou uma contagem bem mais baixa, sendo 1100 nmp/ml para coliformes totais e 460 nmp/ml para coliformes fecais (tab. 2). Utilizando-se a fórmula de Percentual de Remoção ( $C_i - C_f / C_i \times 100$ ) obtém-se uma redução de 54,2% de coliformes totais e de 80,8% de coliformes fecais, indicando que o fungo *S. rugoso-annulata* como um eficiente biorremediador para contaminações com coliformes fecais.

Esses resultados foram semelhantes aos conseguidos por Flatt (2013), na Washington State University, que conseguiu 100% de remoção de coliformes fecais (*Escherichia coli*) utilizando também o mesmo fungo, *S. rugoso-annulata* e com a mesma metodologia de três baldes empilhados. Um outro estudo de micorremediação, conduzido na bacia hidrográfica de Dungeness em Washington, onde utilizou-se a água de uma lagoa extremamente contaminada e verificou-se a retirada de *E. coli* em dois filtros, um sem tratamento e um contendo os fungos *Pleurotus ostreatus*, *Pleurotus ulmarius* e *Stropharia rugoso-annulata*. A vazão da mesma pelos filtros foi de, aproximadamente, 1,4 L/min. Esse estudo concluiu que o filtro com a presença dos fungos retirou 90% dos coliformes fecais, em contrapartida sem fungos retirou apenas 66% (THOMAS *et al.*, 2009).

Tabela 2 - Resultados das análises da quantidade de coliformes totais e fecais nos três pontos de coleta do experimento laboratorial, sendo: Ponto A antes da passagem pelos baldes; Ponto B, após a passagem pelos cavacos estéreis e Ponto C, após a passagem pelos cavacos com o fungo *S. rugoso-annulata*. Expressas em número mais provável por ml (nmp/ml)

Pontos de coleta	Coliformes Totais (nmp/ml)	Coliformes fecais (nmp/ml)
Ponto A	2400	2400
Ponto B	2400	2400
Ponto C	1100	460

Fonte: Dados da Pesquisa

Hong e colaboradores (2006), em um experimento com o fungo *Stropharia rugoso-annulata* demonstrou que suas células, no formato de estrela, chamadas de *Acanthocytes*, crescem da sua hifa e se mostram capazes de imobilizar 90% dos nematóides parasitas, *Panagrellus redivivus*, em 15 minutos, com completa digestão do mesmo, pelos fungos, em 48 horas.

Já no teste realizado no Evergreen State College (ROGERS, 2012), os resultados foram diferentes, pesquisou-se a micorremediação em laboratório utilizando colunas de serragem de amieiro inoculada com micélio de *Pleurotus* e obteve redução de apenas 20% dos coliformes com um fluxo de 2 mL/min até 20 mL/min, demonstrando que este fungo não deve ser tão eficiente quanto *Stropharia rugoso-annulata*, nos processos de biorremediação.

## 5. CONSIDERAÇÕES FINAIS

A presente pesquisa concluiu que a utilização de fungos *Stropharia rugoso-annulata*, na filtragem da água contaminada, reduziu 54,2% de coliformes totais e 80,8% de coliformes fecais, se comparado com a filtragem sem tratamento, confirmando sua eficiência na remoção de coliformes fecais. A biorremediação com fungos é uma tecnologia promissora, por se tratar de um método de retirada de poluentes de baixo custo e manutenção e por não produzir resíduos contaminantes no meio ambiente, pois seus restos orgânicos podem ser utilizados como adubo (húmus), dessa forma pode-se perceber a necessidade da realização de mais estudos a campo e em laboratórios sobre sua eficácia.

## REFERÊNCIAS

- ALVES, M. C. **Recuperação dos solos degradados pela agricultura.** In: ENCONTRO NACIONAL SOBRE EDUCAÇÃO AMBIENTAL NA AGRICULTURA, 5., 2006, Campinas. Anais. Campinas: Instituto Agronômico, 2006. 1-CD-ROM.
- BARROS, J. C.; BARRETO, F. M. de S.; LIMA, M. V. de. **Aplicação do Índice de Qualidade das Águas (IQA-CETESB) no açude Gavião para determinação futura do Índice de Qualidade das Águas Brutas para fins de Abastecimento Público (IAP).** Congresso Norte e Nordeste de Pesquisa e Inovação (CONNEPI), Palmas, 2012. Anais. Palmas, 2012.
- BEM, C. C., BRAGA, M. C. B.; AZEVEDO, J. C. R. de. Avaliação de um lago urbano raso. **REGA** – Vol. 10, no. 1, p. 41-50, jan./jun. 2013
- BRASIL. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. 2016. Disponível em <<http://cidades.ibge.gov.br/xtras/perfil.php?codmun=410480>> Acesso em : 30 de setembro de 2016
- BUZELLI, G. M.; CUNHA-SANTINO, M. B. Análise e diagnóstico da qualidade da água e estudo trófico do reservatório de Barra Bonita (SP). **Ambi-Agua, Taubaté**, v. 8, n. 1, p. 186-205, 2013.
- CASCABEL. Prefeitura Municipal de Cascavel. Portal do Município de Cascavel. 2016. Disponível em <<http://www.cascavel.pr.gov.br/secretarias/seplan/pagina.php?id=202>> Acesso em: 30 de setembro de 2016.
- CETESB - COMPANHIA AMBIENTAL DO ESTADO E SÃO PAULO (CETESB). **Índices de qualidade das águas.** São Paulo: CETESB, 2012. Disponível em: <http://www.cetesb.sp.gov.br/agua/%C3%A1guas-superficiais/108-%C3%ADndices-de-qualidade-das-%C3%A1guas> Acesso em: 18 Jun. 2012. Acesso em 10 de agosto de 2015
- CONAMA - Conselho Nacional do Meio Ambiente (2005). Resolução CONAMA 357/05. Disponível em: <[http://www.mma.gov.br. \[6\] APHA, Standard Methods](http://www.mma.gov.br. [6] APHA, Standard Methods)> Acesso 10 de agosto de 2015.
- FERREIRA, R. M., BARROS, N. O., DUQUE-ESTRADA, C. H., ROLAND, F. Caminhos do fósforo em ecossistemas aquáticos continentais. **Lições de limnologia.** Cap. 13. Rima Editora, 2005.
- HARMANCIOGLU, N.B.; OZKUL, S.A.; ALPASLAN, M.N. Water monitoring and network design. In: HARMANCIOGLU, N.B.; SINGH, V.P.; ALPASLAN, M.N. (Ed.) Environmental data management. **The Hague: Kluwer Academic Publishers**, 1998. p.61-100. (Water Science Technology Library, 27).
- HONG, L., L. XUAN, L. GUOHONG, P. YANBO, Z. KEQIN. Acanthoaytes of Stropharia spp. function as a nematode-attacking device. **Journal of Appl. Environ. Microbiol.** 72 (4), 2982. 2006.

KHINDARIA, A.; GROVER, T.A.; AUST, S.D. Reductive dehalogenation of aliphatic halocarbons by lignin peroxidase of *Phanerochaete chrysosporium*. **Environmental Science Technology**, v. 29, p.719-725, 1975.

MERTEN G. H.; MINELLA, J. P. Qualidade da água em bacias hidrográficas rurais: um desafio atual para a sobrevivência futura. **Agroecol. e Desenvol. Rur. Sustent.** Porto Alegre, v.3, n.4, out/dez 2002.

MOITA, R.; CUDO, K. **Aspectos gerais da qualidade da água no Brasil.** In: REUNIÃO TÉCNICA SOBRE QUALIDADE DA ÁGUA PARA CONSUMO HUMANO E SAÚDE NO BRASIL, 1991, Brasília. Anais... Brasília: Ministério da Saúde, Secretaria do Meio Ambiente, 1991. p.1-6.

NOBLES, M. K. Identification of cultures of wood-inhabiting Hymenomycetes. **Canadian Journal of Botany**, v. 43, p. 1097-1139, 1975.

OLIVEIRA, S. (Coord.) **Relatório de qualidade ambiental no Estado de São Paulo – 1993.** São Paulo: CETESB, 1994.50p. (Série Relatórios).

OREA, D. G. Evaluación de impacto ambiental. Madrid: **Editorial Agrícola Española**, 1998. 260p.

ORSSATTO, F. Avaliação do Oxigênio Dissolvido do Córrego Bezerra a Montante e a Jusante de uma Estação de Tratamento de Esgoto Sanitário, Cascavel, Paraná. **Revista Brasileira de Biociências**, Porto Alegre, v. 6, supl. 1, p. 27-28, set. 2008

PERALTA-ZAMORA, P.; MORAES, S.G. de; ESPOSI-TO, E.; ANTUNES, R.; REYES, J.; DURÁN, N. Decolorization of Pulp Mill Effluents with Immobilized Lignin and Manganese Peroxidase from *Phanerochaete Chrysosporium*. **Environmental Technology**, v.19, n.5, p.521-528, 1998.

PINEDA, M. D.; SCHAFER, A. Adequação de critérios e métodos de avaliação da qualidade de águas superficiais baseada no estudo ecológico do rio Gravataí, Rio Grande do Sul, Brasil. **Ciência e Cultura**, São Paulo, v.39, n.2, p.198-206, 1987.

ROGERS, T. **Experimental evaluation of mycoremediation of Escherichia coli bacteria in solution using Pleurotus ostreatus.** (Unpublished thesis dissertation). Evergreen State College, WA. 2012.

SINGH, H. **Mycorremediation: fungal bioremediation.** A JOHN WILEY & SONS, INC., PUBLICATION, 2006.

STAMETS, P. **Mycelium running: how mushrooms can help save the world.** Ten Speed Press. California, p. 59-61, 2005.

SOARES I. A.; Flores, A. C.; MENDONÇA, M.M.; BARCELOS, R. P.; Baroni, S. Fungos na biorremediação de áreas degradadas. **Arq. Inst. Biol.**, São Paulo, v.78, n.2, p.341-350, abr./jun., 2011.

THOMAS, S.A., L.M. ASTON, D.L. WOODRUFF, V.I. CULLINAN. (2009). **Field demonstration of mycoremediation for removal of fecal coliform bacteria and nutrients in the dungeness watershed, Washington.** Final Report. Pacific Northwest National Laboratory. PNWD-4054-1

TOLEDO, L. G. de; NICOLELLA, G., Índice de qualidade de água em microbacia sob uso agrícola e urbano. **Scientia Agricola**, v.59, n.1, p.181-186, jan./mar. 2002

TOSIN, G. A. S. **Caracterização física do uso e ocupação da Bacia Hidrográfica do Rio Cascavel. Dissertação de pós graduação, mestrado, em engenharia agrícola.** Universidade Estadual do Oeste do Paraná. 2005

TUNDISI, J.G. **Limnologia do século XXI: perspectivas e desafios.** São Carlos: Suprema Gráfica e Editora, IIE, 1999. 24 p.

TUNDISI, J. G. **Recursos Hídricos.** Parcerias Estratégicas (Brasília), Brasília - DF, v. 20, p. 727-746, 2005.

TUNDISI, J. G. Novas perspectivas para a gestão de recursos hídricos. **Revista USP**, v. 70, p. 24-35, 2006.