UNIVERSIDADE FEDERAL DE SERGIPE – UFS

CENTRO DE CIÊNCIAS EXATAS E TECNOLOGIA

DEPARTAMENTO DE ENGENHARIA AMBIENTAL

POTENCIAL BIORREMEDIADOR DE BASIDIOMICETOS EM MEIOS COM DETERGENTE DE MAÇÃ

David Patrick Almeida Correia

SÃO CRISTÓVÃO, 2024

UNIVERSIDADE FEDERAL DE SERGIPE – UFS

CENTRO DE CIÊNCIAS EXATAS E TECNOLOGIA

DEPARTAMENTO DE ENGENHARIA AMBIENTAL

POTENCIAL BIORREMEDIADOR DE BASIDIOMICETOS EM MEIOS COM DETERGENTE DE MAÇÃ

Trabalho final apresentado ao Departamento de Engenharia Ambiental da Universidade Federal de Sergipe, como parte integrante dos requisitos para obtenção de título de Bacharel em Engenharia Ambiental e Sanitária.

Orientadora: Regina Helena Marino

David Patrick Almeida Correia

SÃO CRISTÓVÃO, 2024

Dedico este trabalho aos meus pais que batalharam tanto para me proporcionar esta oportunidade.

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus, que sempre esteve conduzindo meus passos e me dando forças nos momentos difíceis.

Agradeço aos meus pais, Ana Paula e Márcio Antonio, por terem me proporcionado a oportunidade de fazer uma graduação na Universidade Federal de Sergipe e por terem sempre me incentivado a estudar para atingir meus objetivos. Agradeço a todos da família que em algum momento da minha vida foram fundamentais para me tornar essa pessoa que sou hoje, em especial minha segunda mãe Edinalva, minhas avós Noêmia e Iracema, minhas tias Hellen Márcia, Dayanne Patrícia e Divinha, minhas primas Bruna e Monique e minha irmã Ana Liz.

Agradeço à minha orientadora, Professora Regina Helena Marino, pela oportunidade de estagiar no Laboratório de Microbiologia, por todos os ensinamentos durante a graduação e por sempre estar disposta a me explicar e me auxiliar quando precisava, até mesmo durante os jogos do Brasil, sentirei saudade das conversas com a senhora e com sua mãe dona Renilde. Agradeço a todas as pessoas que passaram pelo Laboratório de Microbiologia em especial Michele, Leonel, Igor Victor e Geovania, vou carregar para sempre na memória os momentos de aprendizado e descontração com vocês.

Agradeço aos professores Airon e Midori, a Idamar e Lucas pela disponibilidade e auxílio nas análises químicas. Agradeço a todos os meus professores do Departamento de Engenharia Ambiental, por todo o conhecimento transmitido. Em especial, as professoras Inaura Carolina Carneiro da Rocha e Andrea Novelli que aceitaram participar da minha banca examinadora.

Agradeço a todos os amigos, os que me acompanharam na jornada anterior a graduação: Elian, Ícaro, Fernando e Ariadine; os que conheci nesses anos de graduação no DEA: Everthon, João Victor, Gleicy, Heitor; no DEAM: Sara, Camilo, Maycon, Gabi, Day, Milleny, Raisa, os que conheci na EASY JR: Farlene, Emilly, Angel, Lenilson, Angela e Mariane e a toda equipe da HC Construções e Projetos Ambientais, agradeço por cada momento compartilhado, vocês tornaram a graduação mais leve.

Por fim, agradeço à Jackelyne e Michele, minhas primeiras amigas sergipanas que hoje considero como irmãs, obrigado por todos os momentos vividos, pelas risadas, pelas conversas e por todo apoio.

“Se você sentir que está perdendo tudo, lembre-se de que as árvores perdem suas folhas todos os anos, e mesmo assim continuam de pé e esperam por dias melhores”.

(Autor desconhecido)

SUMÁRIO

Lista de figuras vii
Lista de tabelas viii
Introdução 10
Material e métodos 12
Análise estatística 15
Resultados e discussão 15
Conclusões 26
Agradecimentos 26
Conflito de interesses 26
Referências 26

Lista de figuras

Figura 1 – Fluxograma dos bioensaios realizados no presente trabalho 12

Figura 2 – Diâmetro micelial dos isolados fúngicos LED 96/18 (A), POS SP1 (B) e PS (C) em meio BDA contendo 0 (a), 50 (b), 100 (c), 200 (d), 400 (e) e 800 (f) $\mu L.L^{-1}$ de detergente de maçã, após seis dias de cultivo (barra = 1 cm) 16

Figura 3 – Descoloração (%) do meio de extrato de levedura suplementado com azul de metileno e detergente de maçã por meio da ação fúngica, após nove dia de cultivo* 20

Figura 4 – Absorção/Adsorção do meio contendo azul de metileno e detergente de maçã por Aspergillus spp. (A), LED 96/18 (B) e PS (C), após nove dias de cultivo (barra = 1 cm) 21

Figura 5 – Descoloração do meio BDA com detergente de maçã, em A: com 40 $mg.L^{-1}$ do azul de metileno pelo contaminante Penicillium sp. e em B: com 20 $mg.L^{-1}$ de corante por Bacillus, após dez dias de cultivo (barra = 1 cm)..... 25

Lista de tabelas

Tabela 1 – Diâmetro micelial e velocidade de crescimento micelial dos isolados fúngicos em meio de BDA suplementado com seis concentrações de detergente de maçã, após seis dias de cultivo..... 16

Tabela 2 – Porcentagem de inibição de crescimento do diâmetro micelial (PIC-DM) e da velocidade de crescimento micelial (PIC-VM) dos isolados fúngicos em meio suplementado com cinco concentrações de detergente maçã, após seis dias de cultivo 17

Tabela 3 – Contaminação (%) por bactérias e/ou fungos no meio de cultivo testemunha, LED 96/18 e PS com detergente e azul de metileno, por tratamento, após nove dias de cultivo 18

Tabela 4 – Identificação e ocorrência (%) de microrganismos contaminantes no meio de cultivo testemunha e dos isolados LED 96/18 e PS com corante azul de metileno e detergente, após nove dias 19

Tabela 5 – Germinação (%) das sementes de tomateiro Rasteiro Rio Grande, comprimento da radícula, após cinco dias da semeadura; e o pH e a condutividade elétrica da solução de 1% do meio à base de extrato de levedura contendo 40 $mg.L^{-1}$ do corante azul de metileno e 200 $\mu L.L^{-1}$ de detergente 21

Tabela 6 – Germinação (%) das sementes de tomateiro cultivar Rasteiro Rio Grande, comprimento da radícula, após cinco dias da semeadura; e o pH e a condutividade elétrica da solução de 10% do meio à base de extrato de levedura contendo 80 $mg.L^{-1}$ do corante azul de metileno e 200 $\mu L.L^{-1}$ de detergente 22

Tabela 7 – Diâmetro micelial e velocidade de crescimento micelial dos isolados fúngicos LED96/18 e PS em meio de BDA com detergente de maçã e cinco concentrações de azul de metileno, após 4 dias de cultivo 24

Tabela 8 – Contaminação (%) do meio de cultura à base de extrato de levedura com o corante azul de metileno e detergente inoculado com os isolados fúngicos, após quatro dias de cultivo ..... .24

Tabela 9 – Dados médios de notas subjetivas de descoloração e de absorção do meio de BDA suplementado com detergente de maçã e cinco concentrações de azul de metileno colonizado por fungos filamentos, após 10 dias de cultivo 25

POTENCIAL BIORREMEDIADOR DE BASIDIOMICETOS EM MEIOS COM DETERGENTE DE MAÇÃ

BIOREMEDIAL POTENTIAL OF BASIDIOMYCETES IN MEDIA WITH APPLE DETERGENT

Resumo: O expressivo uso de saneantes no Brasil e no mundo representa um risco para toda a cadeia trófica dos ecossistemas aquáticos. Por esta razão, o objetivo deste trabalho foi avaliar o potencial biorremediador "in vitro" dos isolados fúngicos de *Lentinula edodes* (LED 96/18), *Pleurotus ostreatoroseus* (POS SP1) e *Pycnoporus sanguineus* (PS) em meios contendo detergente de maçã, a fim de propor uma alternativa biotecnológica para o tratamento de águas residuais contendo detergente. Foram realizados quatro bioensaios: a) bioensaio 1: avaliação do crescimento micelial dos isolados fúngicos em meio sólido de batata-dextrose-ágar (BDA) com 0, 50, 100, 200, 400 e 800 $\mu L.L^{-1}$ de detergente; b) bioensaio 2: análise da capacidade biorremediadora dos isolados fúngicos em meio líquido à base de extrato de levedura com 200 $\mu L.L^{-1}$ de detergente e com 0, 20, 40, 80 e 160 $mg.L^{-1}$ do corante azul de metileno; c) bioensaio 3: estudo da fitotoxicidade do meio de extrato de levedura com 200 $\mu L.L^{-1}$ de detergente e com 40 e 80 $mg.L^{-1}$ do azul de metileno após o cultivo fúngico e d) bioensaio 4: avaliação do crescimento micelial dos isolados fúngicos em meio sólido de BDA com 0, 20, 40, 80 e 160 $mg.L^{-1}$ de corante autoclavado e 200 $\mu L.L^{-1}$ de detergente. No bioensaio 1, não houve inibição total do crescimento micelial dos isolados fúngicos testados até 800 $\mu L.L^{-1}$ de detergente. Não houve inibição significativa do diâmetro micelial e da velocidade de crescimento dos isolados de LED 96/18 e PS até 200 $\mu L.L^{-1}$ de detergente. No bioensaio 2, os isolados LED 96/18 e PS promoveram a descoloração do meio líquido com 80 $mg.L^{-1}$ de azul de metileno e 200 $\mu L.L^{-1}$ de detergente em 36,7% e 28,6% após nove dias de cultivo, respectivamente. No bioensaio 3, a presença de detergente e azul de metileno inibiu o desenvolvimento da radícula de tomateiro. Neste bioensaio, o cultivo de LED 96/18 e PS não conseguiu alterar o efeito fitotóxico do detergente, porém alterou o pH e a condutividade elétrica do meio. No bioensaio 4, não houve inibição significativa do diâmetro micelial e da velocidade de crescimento do PS até 20 $mg.L^{-1}$ de azul de metileno. Desse modo, a metodologia aplicada é eficaz para avaliar o potencial biorremediador "in vitro" destes fungos. E os isolados LED 96/18 e PS apresentam potencial biorremediador "in vitro" de meios com detergente de maçã.
PALAVRAS-CHAVE: Biorremediação; Fitotoxicidade; Fungos; Saneantes.

ABSTRACT: The significant use of sanitizing in Brazil and in the world represents a risk for the entire trophic chain of the aquatic ecosystems. For this reason, the aim of this work was to evaluate the bioremedial potencial in vitro of the fungal isolates of *Lentinula edodes* (LED 96/18), *Pleurotus ostreatoroseus* (POS SP1) and *Pycnoporus sanguineus* (PS) in media containing apple detergent, in order to propose a biotechnological alternative for the treatment of detergent-containing wastewater. Four bioassays were carried out: a) bioassay 1: evaluation of mycelial growth of fungal isolates in potato-dextrose-agar (PDA) solid medium with 0, 50, 100, 200, 400 and 800 $\mu L.L^{-1}$ of detergent; b) bioassay 2: analysis of the bioremedial capacity of fungal isolates in liquid medium based on yeast extract with 200 $\mu L.L^{-1}$ of detergent and with 0, 20, 40, 80 and 160 $mg.L^{-1}$ of methylene blue dye; c) bioassay 3: study of the phytotoxicity of the yeast

extract medium with 200 μL.L^{-1} of detergent and with 40 and 80 mg.L^{-1} of methylene blue after fungal cultivation and d) bioassay 4: evaluation of mycelial growth of fungal isolates in PDA solid medium with 0, 20, 40, 80 and 160 mg.L^{-1} of autoclaved dye and 200 μL.L^{-1} of detergent. In bioassay 1, there wasn't total inhibition of mycelial growth of fungal isolates tested up to 800 μL.L^{-1} of detergent. There wasn't significant inhibition of mycelial diameter and growth velocity of isolates LED 96/18 and PS up to 200 μL.L^{-1} of detergent. In bioassay 2, the isolates LED 96/18 and PS promoted the discoloration of the liquid medium with 80 mg.L^{-1} of methylene blue and 200 μL.L^{-1} of detergent in 36.7% and 28.6% after nine days of cultivation, respectively. In bioassay 3, the presence of detergent and methylene blue inhibited the development of tomato radicle. In this bioassay, the cultivation of LED 96/18 and PS could not alter the phytotoxic effect of the detergent, but it altered the pH and electrical conductivity of the medium. In bioassay 4, there wasn't significant inhibition of mycelial diameter and growth velocity of PS up to 20 mg.L^{-1} of methylene blue. Thus, the applied methodology is effective to evaluate the bioremedial potential of these fungi in vitro. And the isolates LED 96/18 and PS have bioremediation potencial in vitro of media with apple detergent.
KEYWORDS: Bioremediation; Phytotoxicity; Fungi; Sanitizing.

Introdução

O setor de higiene, limpeza e saneantes tem apresentado crescimento expressivo na fabricação de detergentes para lavar louças ao longo dos anos no mundo. No Brasil, a produção de detergentes aumentou 60,7% em 2021 quando comparado ao ano anterior, cuja fabricação de 901.037 mil litros representou 3,2 milhões de reais. Outros produtos domissanitários como os detergentes para lavar roupas (em pó e líquido) e sabão em barra geraram 11,2 milhões e 1,7 milhões de reais, respectivamente (ABIPLA, 2022).

De forma geral, o expressivo consumo destes produtos no mercado brasileiro representa um risco ambiental, pois acarreta no lançamento de grande quantidade destes compostos químicos nos corpos hídricos. Uma vez que, apenas 42,6% dos esgotos são coletados e tratados, bem como a eficiência de remoção da demanda bioquímica de oxigênio (DBO) nas Estações de Tratamentos de Efluentes (ETEs) tem sido inferior a 60% (ANA, 2017).

Estudos mostram que nos esgotos domésticos, a taxa de detergentes varia de 3 a 6 mg/L, cujo lançamento inadequado nos recursos hídricos pode impactar os ecossistemas aquáticos, devido ao fósforo presente na formulação de detergentes lava-roupas, o qual contribui para a proliferação de cianobactérias, a eutrofização dos corpos hídricos e ocasionar problemas de abastecimento e de saúde pública (CETESB, 2021; Quevedo e Paganini, 2018).

O lançamento de detergentes lava-louças nos corpos hídricos também representa um risco ambiental devido à toxicidade dos tensoativos, conservantes, corantes, fragâncias e/ou espessantes. Sobrino-Figueroa (2018) observaram que o grau de toxicidade destes saneantes variou de nocivo à altamente tóxico a depender da espécie, segundo a classificação do Sistema Globalmente Harmonizado (GHS), o que demonstra um impacto em toda a cadeia trófica aquática.

Effendi et al. (2017) também observaram que a toxicidade dos detergentes sobre bactérias marinhas foi influenciada pelo tempo de exposição, pela concentração e pela marca do produto. Enquanto Sobrino-Figueroa (2018) relataram que o aumento da temperatura contribuiu para o acréscimo da sensibilidade de espécies aquáticas a estes produtos químicos. Nesse sentido, o aumento da temperatura dos corpos hídricos devido ao fenômeno do aquecimento global pode ampliar os impactos do lançamento destes produtos domissanitários no ecossistema aquático.

A fim de minimizar os efeitos adversos destes saneantes no meio ambiente, a resolução n. 359/2005 do Conselho Nacional do Meio Ambiente (CONAMA) determinou o teor máximo de fósforo na formulação de detergentes em pó. E a resolução n. 357/2005 do Conselho Nacional do Meio Ambiente (CONAMA) determinou que corpos hídricos de águas doces de classes 1, 2, 3 e 4 devem ter no máximo 0,5 mg/L de linear alquilbenzeno sulfonato (LAS). Enquanto a Agência Nacional de Vigilância Sanitária através da Resolução da Diretoria Colegiada (RDC) de n° 694/2022 determinou que os tensoativos aniônicos utilizados na composição de detergentes devem ser biodegradáveis.

No entanto, a biodegradabilidade dos detergentes não implica a ausência de impactos no ecossistema aquático, pois os produtos biodegradáveis apresentam diferentes tempos de biodegradação e compostos residuais resultantes após a biodegradação (Kogawa et al., 2017).

Dentre as tecnologias de tratamento de efluentes com produtos domissanitários, Takdastan et al. (2017) relataram que a aplicação da eletrocoagulação por meio do uso de elétrodos de Al-Fe foi capaz de remover em até 94% o detergente de efluentes de lava-jatos. E Wahyuni et al. (2016) observaram a degradação de até 90% do detergente aniônico presente em efluentes de lavanderia por meio dos processos oxidativos com $UV/Fe^{2+}/H_2O_2$. Enquanto, Delforno et al. (2017) descreveram a aplicação dos biorreatores anaeróbicos e aeróbicos com um consórcio bacteriano capaz de degradar em até 93% o LAS do efluente de lavanderia.

Nos processos biológicos, os fungos filamentosos também podem ser uma alternativa de biorremediação de produtos domissanitários, pois os ascomicetos *Penicillium cyclopium* e *Aspergillus niger* foram capazes de degradar o detergente aniônico Merix em 47% e 30% após 16 dias de cultivo, respectivamente (Jakovljevic e Vrvic, 2015, 2016).

Apesar de não terem sido encontradas pesquisas relacionadas a capacidade de basidiomicetos de degradarem detergentes, os fungos pertencentes aos gêneros *Lentinula*, *Pleurotus* e *Pycnoporus* promoveram a degradação de corantes, pesticidas e fármacos devido a síntese de enzimas oxidativas (Eichlerová e Baldrian, 2020; Henn et al., 2020; Kryczyk-Poprawa et al., 2019). E que o emprego de resíduos lignocelulósicos estimulou a síntese de enzimas, como a lacase, que promoveram a descoloração do meio suplementado com o corante azul brilhante de remazol (Menezes e Barreto, 2015; Teixeira et al., 2016)

Entretanto, a eficácia da biorremediação de detergentes por fungos pode ser influenciada pela temperatura, pela aeração, pelo pH do meio de cultivo, pela concentração e pela composição do detergente, pelo período de cultivo, pela espécie fúngica e pela genética do inóculo (Jakovljevic e Vrvic, 2015).

Outro fator importante a ser considerado é que o grau de toxicidade do contaminante pode ser alterado após o cultivo fúngico, tal como relatado por Freitas et al. (2017). Segundo estes autores, a degradação enzimática do bisfenol A pela lacase produzida pelo basidiomiceto *Pleurotus pulmonarius* produziu o subproduto *p*-ácido hidroxibenzoico de maior toxicidade.

Desta forma, o objetivo deste trabalho foi avaliar o potencial biorremediador “in vitro” dos isolados fúngicos de *Lentinula edodes*, *Pleurotus ostreatoroseus* e *Pycnoporus sanguineus* em meios contendo detergente, a fim de propor uma alternativa biotecnológica para o tratamento de águas residuais contendo detergente.

Material e métodos

Inoculante fúngico

Os isolados fúngicos testados foram *Lentinula edodes* (LED 96/18), *Pleurotus ostreatoroseus* (POS SP1) e *Pycnoporus sanguineus* (PS).

Os isolados fúngicos foram multiplicados em meio de cultura batata-dextrose-ágar (BDA comercial; 39 $g.L^{-1}$) em câmara incubadora a 28 ± 1ºC com fotoperíodo de oito horas de luz durante sete dias. O meio de cultura colonizado foi utilizado como inoculante.

Detergente

O detergente lava-louças utilizado foi o de maçã, marca comercial Ypê®, composto por tensoativos aniônicos, sequestrante, conservantes, espessante, coadjuvante, corante, fragância, água e tendo como componente ativo o Linear Alquil Benzeno Sulfonato de Sódio conforme descrição do fabricante.

Potencial biorremediador dos isolados fúngicos

Para avaliar o potencial biorremediador "in vitro" dos isolados fúngicos em meio de cultura suplementado com detergente de maçã e/ou corante azul de metileno foram realizados quatro bioensaios (Figura 1).

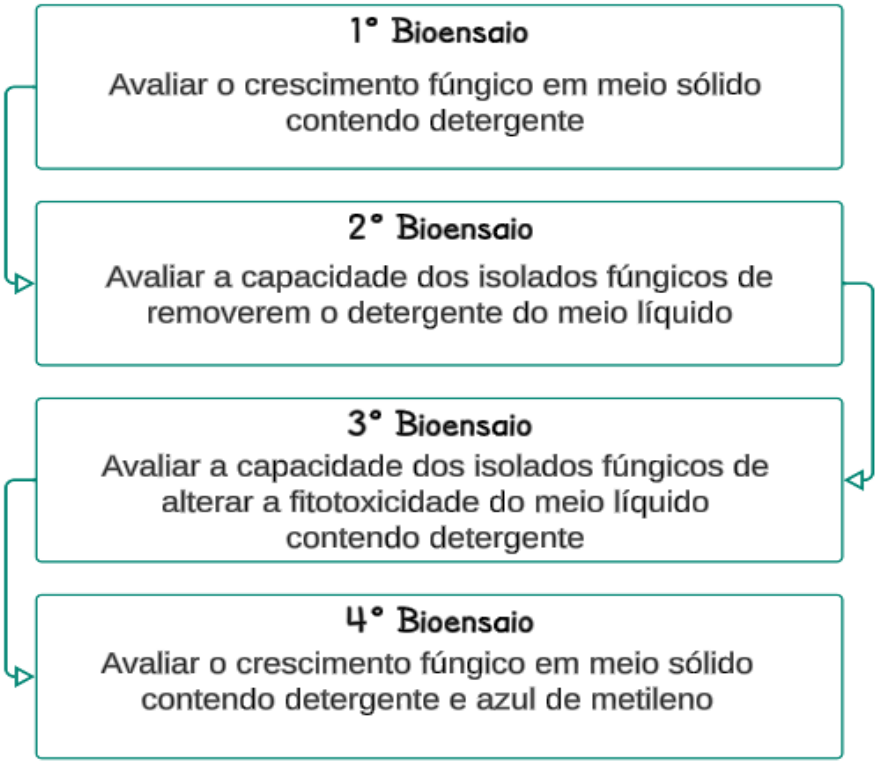

Figura 1 – Fluxograma dos bioensaios realizados no presente trabalho

Bioensaio 1 - Crescimento micelial dos basidiomicetos em meio sólido BDA + serragem e detergente de maçã

O delineamento experimental utilizado foi o inteiramente casualizado (DIC) no esquema fatorial de 3 x 6, correspondente ao cultivo de três isolados fúngicos (LED 96/18, POS SP1 e PS) em meio sólido de BDA comercial (39 $g.L^{-1}$) suplementado com serragem (1 $g.L^{-1}$) com seis concentrações de detergente de maçã (0, 50, 100, 200, 400 e 800 $\mu L.L^{-1}$) e quatro repetições por tratamento.

A adição de serragem proveniente de placa de fibra de média densidade (MDF) com tamanho de partículas menores que 20 mesh foi com o intuito de estimular a síntese de enzimas oxidativas que podem promover a degradação do detergente.

Após a autoclavagem e resfriamento do meio BDA+serragem, o detergente de maçã foi adicionado ao meio conforme o tratamento. Em seguida, 20 mL da mistura (meio de cultura + detergente) foram transferidos para placas de Petri e, após a solidificação foi transferido um disco micelial de 7 mm de diâmetro do inoculante fúngico. A incubação foi realizada a 28 ± 1 ºC com fotoperíodo de 8 h de luz, durante seis dias.

As variáveis analisadas foram: diâmetro micelial (DM), velocidade de crescimento micelial (VM), porcentagem de inibição do diâmetro micelial e da velocidade de crescimento.

O diâmetro micelial, em cm, foi avaliado pela medição cruzada do crescimento micelial com régua milimetrada. A velocidade de crescimento, em $cm.dia^{-1}$, foi calculada pela equação: VM = (DMf – DMi)/ P, em que: DMf = diâmetro micelial final, DMi = diâmetro micelial inicial e P = período de cultivo, em dias. A porcentagem de inibição de crescimento do diâmetro (PIC-DM) e da velocidade de crescimento (PIC-VM) foi determinada pela equação: PIC(%) = [(A – B)/A] x 100, em que: A = valor da variável (diâmetro micelial ou velocidade de crescimento) no tratamento testemunha sem detergente e B = valor da variável no tratamento fúngico com detergente.

Bioensaio 2 - Crescimento micelial dos basidiomicetos em meio líquido suplementado com detergente de maçã e azul de metileno não autoclavado

O delineamento experimental utilizado foi o inteiramente casualizado (DIC), no esquema fatorial de 3 x 5, correspondente a testemunha sem inoculação fúngica e o cultivo de LED 96/18 e PS em meio líquido de extrato de levedura (25 $g.L^{-1}$) com detergente comercial de maçã (200 $\mu L.L^{-1}$) e cinco concentrações de azul de metileno (0, 20, 40, 80 e 160 $mg.L^{-1}$), com quatro repetições por tratamento. Os isolados fúngicos e a concentração do detergente de maçã foram selecionados com base nos resultados do bioensaio 1.

O corante utilizado foi o azul de metileno, adquirido da PROQUÍMIOS, com a fórmula química $C_{16}H_{18}CIN_3S.3H_2O$ e massa molar de 373.90 $g.mol^{-1}$. A adição desse corante foi com o intuito de avaliar a remoção de detergente de maçã do meio, pois Mastroti et al. (1998) relataram que os detergentes que possuem tensoativos aniônicos podem se ligar aos corantes sintéticos catiônicos formando um complexo, o que possibilita a determinação da taxa de remoção do detergente e corante do meio a partir da análise em espectrofotômetro.

O corante azul de metileno e o detergente foram adicionados ao meio de cultura à base de extrato de levedura autoclavado a 120 ºC e 1 atm durante 20 min, conforme o tratamento. Após o resfriamento foram transferidos dois discos miceliais de 7 mm de diâmetro do inoculante. No tratamento testemunha não foram adicionados discos inoculantes. A incubação foi realizada a 28 ± 1 ºC com fotoperíodo de 8 h de luz, durante nove dias após a inoculação fúngica.

As variáveis analisadas foram: a taxa de descoloração do meio de cultivo com detergente + corante de azul de metileno, a taxa de contaminação do meio de cultivo e a identificação dos microrganismos contaminantes, e a absorção do meio de cultivo contendo detergente + azul de metileno pelo micélio fúngico.

A taxa de descoloração (DC, %) da mistura do meio de cultivo com detergente e corante após o cultivo dos isolados fúngicos foi determinada pela equação: DC = [(A-B/A] x 100, em que: A = absorbância do tratamento com azul de metileno e detergente,

sem inoculação fúngica e B = absorbância do tratamento com azul de metileno e detergente, com inoculação fúngica. A absorbância do meio de cultivo foi obtida pela análise das soluções em espectrofotômetro UV-vis com o comprimento de onda de 612 nm.

A taxa de contaminação (TC, %) foi avaliada pela presença de bactérias e/ou fungos distintos dos isolados de LED 96/18 e PS, por repetição. Os dados foram transformados em porcentagem, por tratamento.

A identificação dos microrganismos contaminantes realizada com base nas estruturas reprodutivas coradas com azul de metileno (0,1%) e observadas ao microscópio óptico com aumento de até 400x, segundo a classificação de Barnett e Hunter (1998).

A absorção do meio de cultivo contendo detergente + azul de metileno pelo micélio fúngico foi avaliada visualmente por meio da mudança de coloração do micélio fúngico, após o cultivo dos isolados.

Bioensaio 3 – Fitotoxicidade do meio líquido suplementado com detergente de maçã e azul de metileno após nove dias de cultivo fúngico

A fitotoxicidade do meio de cultura, com e sem colonização fúngica por nove dias de cultivo, foi avaliada em dois experimentos.

No 1º experimento, a fitotoxidade do meio colonizado pelos isolados fúngicos foi avaliada em um experimento com delineamento inteiramente causalizado com quatro tratamentos (testemunha em água destilada autoclavada; testemunha em 1% do meio de cultura à base de extrato de levedura com 200 $\mu L.L^{-1}$ de detergente e 40 $mg.L^{-1}$ de azul de metileno sem inoculação fúngica; e 1% do meio de cultura após cultivo de LED 96/18 e de PS). Foram realizadas quatro repetições por tratamento, conforme a recomendação da Norma OCSPP 850.4230 da Agência de Proteção Ambiental dos Estados Unidos (EPA). Para tanto, 40 sementes de tomateiro cultivar Rasteiro Rio Grande foram submersas nos respectivos tratamentos durante três minutos. Posteriormente, por repetição 10 sementes foram transferidas para uma placa de Petri contendo dois papeis de filtro previamente autoclavados. Em seguida, os papéis de filtro com as sementes foram umedecidos com 10 mL de água destilada autoclavada. A incubação das sementes foi realizada a 28 ± 1 ºC com fotoperíodo de 8 h de luz, durante cinco dias.

No 2º experimento de fitotoxidade foi utilizado o delineamento inteiramente causalizado composto por quatro tratamentos (testemunha em água destilada autoclavada; testemunha em 10% do meio de cultura à base de extrato de levedura com 200 $\mu L.L^{-1}$ de detergente e 80 $mg.L^{-1}$ de azul de metileno sem inoculação fúngica; e 10% do meio de cultura após cultivo de LED 96/18 e de PS), com quatro repetições por tratamento. Em placas de Petri contendo dois papéis de filtro previamente autoclavados foram transferidas 10 sementes de tomateiro cultivar Rasteiro Rio Grande. Em seguida, 10 mL da solução a 10% do meio de cultura à base de extrato de levedura + detergente + corante foram transferidos conforme o tratamento. No tratamento testemunha de água destilada foram adicionados apenas 10 mL de água destilada autoclavada. A incubação das sementes foi realizada a 28 ± 1 ºC com fotoperíodo de 8 h de luz, durante cinco dias.

A fitotoxicidade do meio de cultivo com detergente + corante com e sem cultivo fúngico foi avaliada pela taxa de germinação das sementes, pelo comprimento da radícula, após cinco dias de incubação das sementes, e pelo pH e pela condutividade elétrica dos tratamentos.

A taxa de germinação das sementes do tomate foi determinada pela equação: TXG = (G/T) x 100, em que: G = sementes que germinaram e T = total de sementes utilizadas. O comprimento da radícula foi determinado com um auxílio do paquímetro

digital. O pH e a condutividade elétrica das soluções testadas e da água destilada autoclavada foram determinados em triplicata segundo metodologia de Silva (2009).

Bioensaio 4 - Crescimento micelial de isolados de basidiomicetos em meio sólido de BDA com detergente de maçã e corante de azul de metileno autoclavado

O delineamento experimental utilizado foi o inteiramente casualizado (DIC) no esquema fatorial de 2 x 5, correspondente ao cultivo de dois isolados fúngicos (LED 96/18 e PS) em meio BDA comercial com detergente comercial de maçã (200 $\mu L.L^{-1}$) e cinco concentrações de azul de metileno (0, 20, 40, 80 e 160 $mg.L^{-1}$) e cinco repetições por tratamento.

O detergente foi adicionado ao meio de cultura BDA com o corante azul de metileno previamente autoclavado e, em seguida, transferidos 20 mL da mistura para placas de Petri. Após o resfriamento, um disco micelial de 7 mm de diâmetro do inoculante foi transferido para o centro do meio de cultura. A incubação foi realizada a 28 ± 1 ºC com fotoperíodo de 8 h de luz durante quatro dias.

As variáveis analisadas foram: o diâmetro micelial, a velocidade de crescimento micelial, a porcentagem de inibição do diâmetro micelial e da velocidade de crescimento, a identificação de microrganismos contaminantes, a descoloração do meio e/ou a absorção do meio pelo micélio.

O diâmetro micelial, a velocidade de crescimento micelial, a porcentagem de inibição do diâmetro micelial (PIC-DM) e da velocidade de crescimento micelial (PIC-VM) foram avaliados conforme metodologia descrita no bioensaio 1.

A identificação dos fungos contaminantes realizada com base nas estruturas reprodutivas conforme descrito no bioensaio 2. A identificação taxonômica dos isolados bacterianos foi realizada a partir do sequenciamento da região 16S do rDNA, pelo programa EzBiocloud considerando apenas as espécies válidas.

A descoloração do meio e/ou a absorção do meio pelo micélio foi avaliada pelo critério subjetivo de escala de notas, em que: 1 = presença de descoloração do meio e/ou absorção do meio e 0 = ausência de descoloração e/ou absorção do meio pelo micélio após dez dias de cultivo fúngico.

Análise estatística

Os dados obtidos foram submetidos à Análise de Variância e nos casos em que houve significância foi aplicado o teste de *Tukey* a 5% de probabilidade e à análise de regressão e onde foi aplicado o test *t* a 1% e a 5% de probabilidade pelo programa Sisvar versão 5.6.

Resultados e discussão

Bioensaio 1 - Crescimento micelial dos basidiomicetos em meio BDA + serragem e detergente de maçã

Para LED 96/18, POS SP1 e PS, a concentração de até 200 $\mu L.L^{-1}$ do detergente no meio de cultivo não reduziu significativamente o diâmetro micelial e a velocidade de crescimento micelial em comparação ao tratamento testemunha sem detergente. Deve-se considerar que o isolado POS SP1 apresentou redução significativa do diâmetro micelial nas concentrações de 50 e 100 $\mu L.L^{-1}$ de detergente, em relação às demais concentrações de detergente. Este resultado provavelmente ocorreu devido à uma característica do inoculante fúngico, pois ocorreu em todas as repetições (Tabela 1, Figura 2).

Tabela 1 – Diâmetro micelial e velocidade de crescimento micelial dos isolados fúngicos em meio de BDA suplementado com seis concentrações de detergente de maçã, após seis dias de cultivo

Isolados[1]	Concentração de detergente (µL.L^{-1})						
Diâmetro micelial (cm)							
	0	50	100	200	400	800	Regressão; R^2
LED 96/18	7,6 abA[2]	7,3 aA	7,2 aA	6,5 aA	4,4 abB	2,8 bB	Linear 0,97**[3]
POS SP1	6,9 bA	0,8 bC	0,7 bC	7,0 aA	2,9 bB	4,4 aB	Linear 0,006 ns
PS	9,0 aA	8,7 aA	8,7 aA	7,3 aA	4,8 aB	2,9 abB	Linear 0,96**
CV (%) = 16,6							
Velocidade de crescimento (cm.d^{-1})							
LED 96/18	1,2 abA	1,1 aA	1,1 aA	1,0 aA	0,6 abB	0,3 bB	Linear 0,97**
POS SP1	1,0 bA	0,01 bC	0,003 bC	1,1 aA	0,4 bB	0,6 aB	Linear 0,007ns
PS	1,4 aA	1,3 aA	1,3 aA	1,1 aA	0,7 aB	0,4 abB	Linear 0,96**
CV (%) = 19,0							

[1] Isolados: LED 96/18: *Lentinula edodes*, POS SP1: *Pleurotus ostreatoroseus* e PS: *Pycnoporus sanguineus*; [2] Médias seguidas de mesma letra (minúscula na coluna; maiúscula na linha) não diferem entre si pelo Teste de *Tukey* a 5% de probabilidade; e [3] (ns) não significativo (p>0,05); e (**) = significativo a 1% (p < 0,01)

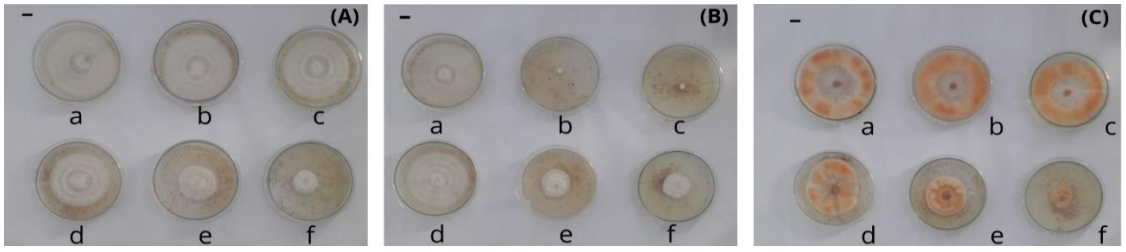

Figura 2 – Diâmetro micelial dos isolados fúngicos LED 96/18 (A), POS SP1 (B) e PS (C) em meio BDA contendo 0 (a), 50 (b), 100 (c), 200 (d), 400 (e) e 800 (f) µL.L^{-1} de detergente de maçã, após seis dias de cultivo (barra = 1 cm)

Na concentração de 400 µL.L^{-1} do detergente no meio de cultivo houve redução significativa do diâmetro micelial e da velocidade de crescimento micelial para todos os isolados testados em relação ao tratamento testemunha. Vale mencionar que, o aumento da concentração de detergente de 400 µL.L^{-1} para 800 µL.L^{-1} não influenciou significativamente nas variáveis analisadas para estes isolados testados (Tabela 1).

Entre os isolados de PS e de LED 96/18 não houve diferença significativa no diâmetro micelial e na velocidade de crescimento em todas as concentrações testadas. O isolado POS SP1 apresentou diâmetro micelial e velocidade de crescimento micelial significativamente menores que o PS com 0, 50, 100 e 400 µL.L^{-1} de detergente. Não houve diferença significativa no diâmetro micelial e na velocidade de crescimento dos isolados POS SP1 e PS quando cultivados em meio com 800 µL.L^{-1} de detergente, mas

o LED 96/18 apresentou menor valor destas variáveis analisadas em comparação ao POS SP1. Não houve diferença significativa entre os isolados fúngicos testados no diâmetro e na velocidade de crescimento micelial no meio de cultivo com 200 $\mu L.L^{-1}$ do detergente (Tabela 1).

A redução do diâmetro micelial e da velocidade de crescimento micelial nos tratamentos com LED 96/18 e PS com o aumento da concentração do detergente foram ajustados ao modelo de regressão linear. Não houve ajuste do diâmetro micelial e da velocidade de crescimento no tratamento POS SP1 (Tabela 1).

Jakovljević et al. (2015) observaram que a adição de detergente no meio de cultura afeta a produção de biomassa e o crescimento dos fungos do filo Ascomicota a depender da concentração do produto e da espécie fúngica, o que corrobora com os resultados obtidos para os basidiomicetos neste bioensaio a depender da espécie fúngica. Uma vez que, o emprego de 200 $\mu L.L^{-1}$ de detergente resultou no incremento de 1,3% no diâmetro micelial do isolado POS SP1, enquanto os isolados de LED 96/18 e PS apresentaram inibição de 14,5% e 19,2% no diâmetro micelial, respectivamente. No meio com 400 $\mu L.L^{-1}$ de detergente, a inibição do diâmetro do POS SP1 foi de 58,7%, enquanto a porcentagem de inibição para os isolados de LED 96/18 e PS foi de 42,3% e 46,6%, respectivamente. Não houve 100% de inibição do crescimento dos isolados fúngicos com o cultivo em meio com até 800 $\mu L.L^{-1}$ de detergente (Tabela 2).

Tabela 2 – Porcentagem de inibição de crescimento do diâmetro micelial (PIC-DM) e da velocidade de crescimento micelial (PIC-VM) dos isolados fúngicos em meio suplementado com cinco concentrações de detergente maçã, após seis dias de cultivo

Variável analisada	Isolados[1]	Concentração de detergente ($\mu L.L^{-1}$)				
		50	100	200	400	800
PIC-DM	LED 96/18	4,0[2]	4,9	14,5	42,3	63,4
	POS SP1	89,2	89,7	-1,3	58,7	35,9
	PS	3,8	3,6	19,2	46,6	67,5
PIC-VM	LED 96/18	4,4	5,4	16,0	46,6	69,9
	POS SP1	99,2	99,8	-1,4	65,3	40,0
	PS	4,1	3,9	20,8	50,5	73,2

[1] LED 96/18: *Lentinula edodes*, POS SP1: *Pleurotus ostreatoroseus* e PS: *Pycnoporus sanguineus*; [2] Valores positivos = inibem o crescimento e negativos = estimulam o crescimento micelial

Jakovjlevic e Vrvic (2015, 2016) verificaram que os fungos *Penicillium cyclopium* e *Aspergillus niger*, mesmo com redução na biomassa foram capazes de sintetizar as enzimas protease alcalina, a α-amilase e/ou a invertase, e consequentemente promover a biodegradação de detergente.

Vale destacar que os isolados PS, LED 96/18 e POS SP1 apresentaram porcentagens de redução da velocidade de crescimento de -1,4% a 20,8% na concentração de 200 $\mu L.L^{-1}$ de detergente, enquanto nas concentrações de 400 e 800 $\mu L.L^{-1}$ de detergente, as taxas foram de 46,6% a 65,3% e de 40,0% a 73,2%, respectivamente (Tabela 2). Su e Rodrigues (2022) relataram que fungos com altas velocidades de crescimento indicam alto potencial de biodegradar os compostos presentes no meio cultivo, desse modo, os resultados obtidos sugerem que nas concentrações de 400 e 800 $\mu L.L^{-1}$ de detergente o potencial biorremediador destes fungos pode ter sido menor em comparação com a concentração de 200 $\mu L.L^{-1}$.

Com base nos resultados obtidos, a maior concentração de detergente que não ocasionou redução significativa do diâmetro micelial e da velocidade de crescimento

para todos os isolados foi a de 200 µL.L^{-1} e desse modo, foi utilizada nos bioensaios seguintes. Dentre os isolados testados, todos apresentaram potencial biorremediador do meio contendo o detergente de maçã, a depender da concentração. Todavia, os isolados LED 96/18 e PS apresentaram as menores taxa de inibição do crescimento micelial no diâmetro e na velocidade de crescimento com 50, 100 e 400 µL.L^{-1} do detergente e foram selecionados para serem avaliados nos bioensaios posteriores.

Bioensaio 2 - Crescimento micelial dos basidiomicetos em meio líquido suplementado com detergente de maçã e azul de metileno não autoclavado

No tratamento sem a adição do corante azul de metileno (0 mg.L^{-1}), a taxa de contaminação foi de 66,7% na testemunha (sem inoculação fúngica) e de 0% nos meios colonizados por LED 96/18 e PS. Porém, no LED 96/18 a taxa de contaminação variou de 50% a 100% com 20 a 160 mg.L^{-1} de corante. E no PS, a contaminação variou de 25 a 75% nos meios com 40 a 160 mg.L^{-1} do corante. No tratamento testemunha, sem inoculação fúngica, a taxa de contaminação variou de 25% a 100% com 0 a 160 mg.L^{-1} do corante azul de metileno (Tabela 3).

Tabela 3 – Contaminação (%) por bactérias e/ou fungos no meio de cultivo testemunha, LED 96/18 e PS com detergente e azul de metileno, por tratamento, após nove dias de cultivo

Tratamentos*	Contaminação (%) por concentração de corante azul de metileno				
	0 mg.L^{-1}	20 mg.L^{-1}	40 mg.L^{-1}	80 mg.L^{-1}	160 mg.L^{-1}
Testemunha	66,7	100,0	25,0	75,0	100,0
LED 96/18	0,0	75,0	50,0	50,0	100,0
PS	0,0	0,0	25,0	25,0	75,0

* LED 96/18: *Lentinula edodes* e PS: *Pycnoporus sanguineus*

O fungo *Aspergillus* spp. ocorreu nos tratamentos testemunha (sem inoculação fúngica), LED 96/18 e PS com uma taxa entre 25% a 75% e a maior frequência no meio com 160 mg.L^{-1} de azul de metileno e 200 µL.L^{-1} detergente. No entanto, ocorreram bactérias nos tratamentos com 0 e 20 mg.L^{-1} na testemunha (Tabela 4).

Tabela 4 – Identificação e ocorrência (%) de microrganismos contaminantes no meio de cultivo testemunha e dos isolados LED 96/18 e PS com corante azul de metileno e detergente, após nove dias

Tratamentos*	Contaminante	Contaminação (%) por concentração de corante azul de metileno				
		0 $mg.L^{-1}$	20 $mg.L^{-1}$	40 $mg.L^{-1}$	80 $mg.L^{-1}$	160 $mg.L^{-1}$
Testemunha	Bactéria	33,3	25,0	-	-	-
	Fungo não identificado	33,3	50,0	-	-	-
	Aspergillus spp. (cinza)	-	50,0	25,0	75,0	75,0
	Aspergillus spp. (marrom)	-	-	-	-	50,0
	Aspergillus niger	-	-	-	-	25,0
	Penicillium sp.	-	-	-	-	25,0
LED 96/18	Fungo não identificado	-	25,0	-	-	-
	Aspergillus spp. (cinza)	-	50,0	50,0	50,0	75,0
	Aspergillus spp. (marrom)	-	-	-	-	25,0
	Aspergillus niger	-	-	-	-	25,0
PS	*Aspergillus* spp. (cinza)	-	-	25,0	25,0	-
	Aspergillus spp. (marrom)	-	-	-	-	50,0
	Aspergillus niger	-	-	-	-	25,0

* Isolados fúngicos: LED 96/18: *Lentinula edodes* e PS: *Pycnoporus sanguineus*

Dentre os fatores que pode ter contribuído para contaminação, a não autoclavagem do corante adicionado ao meio de cultura contendo o detergente de maçã pode ter favorecido o desenvolvimento dos fungos e das bactérias, nos tratamentos com 20 a 160 $mg.L^{-1}$ do azul de metileno. Por sua vez, a presença dos isolados fúngicos LED 96/18 e PS pode ter reduzido a incidência de microrganismos contaminantes em algumas concentrações. Pois, Bach et al. (2018) e Figueiredo e Silva (2014) relataram que os fungos *Lentinula edodes* e *Pycnoporus sanguineus* podem sintetizar compostos antimicrobianos capazes de inibir o crescimento de diversas bactérias e/ou fungos.

Todas as repetições da testemunha (sem inoculação fúngica) com 20 e 160 $mg.L^{-1}$ de corante apresentaram contaminações por bactérias e/ou fungos. Desta forma, a taxa de descoloração foi avaliada apenas nos tratamentos com 40 e 80 $mg.L^{-1}$ do corante do meio colonizado pelos isolados LED 96/18 e PS, que não apresentaram todas as repetições contaminadas (Tabela 3 e 4). E considerando que o fungo filamentoso do gênero *Aspergillus* é comumente encontrado em esgotos domésticos e apresenta a capacidade de se adaptar ao meio contendo linear alquil benzeno sulfonato de sódio

(LAS) e detergentes aniônicos, bem como, degradar estes compostos por meio da liberação de enzimas (Costa et al., 2014; Jakovljevic e Vrvic, 2016; Sessegolo et al., 2011), optou-se por avaliar o potencial do fungo contaminante *Aspergillus* spp., de crescimento micelial de coloração cinza, na taxa de descoloração do meio de cultura contendo o detergente de maçã.

No tratamento testemunha, o fungo contaminante *Aspergillus* spp. (cinza; AC) promoveu a descoloração do meio com detergente e 40 e 80 mg.L^{-1} do azul de metileno em 27,1% e 15,5%, respectivamente. No PS, a taxa de descoloração do meio foi de 37,5% e de 28,6% no meio com detergente e 40 e 80 mg.L^{-1} do azul de metileno, respectivamente. Enquanto que, no consórcio do PS com o *Aspergillus* spp. (cinza, AC) a descoloração foi de 40,7% e de 25,1% nos meios com detergente e 40 e 80 mg.L^{-1} do azul de metileno, respectivamente. Portanto, o aumento da concentração do corante reduziu a taxa de descoloração do meio pelo isolado AC, PS e da associação do PS + *Aspergillus* spp. (AC) (Figura 3).

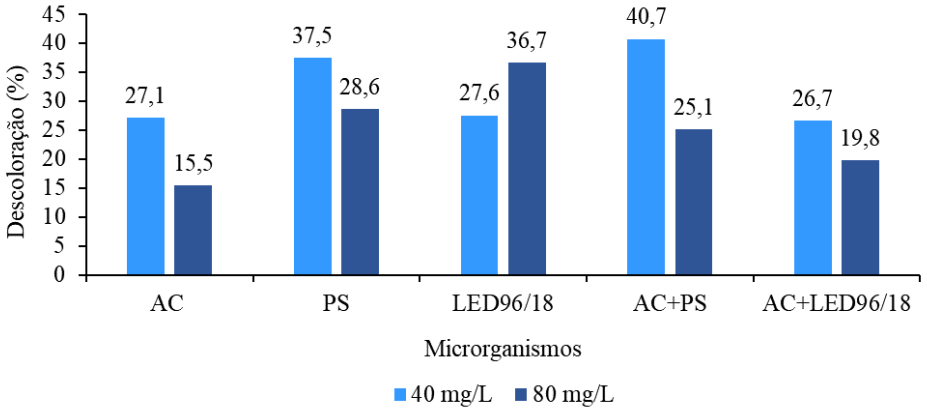

Figura 3 – Descoloração (%) do meio de extrato de levedura suplementado com azul de metileno e detergente de maçã por meio da ação fúngica, após nove dia de cultivo*

*AC: Testemunha com *Aspergillus* spp. de coloração cinza; PS: *Pycnoporus sanguineus*; LED 96/18: *Lentinula edodes*; AC+PS: Consórcio de *Aspergillus* spp. cinza e *P. sanguineus* e AC+LED96/18: Consórcio de *Aspergillus* spp. cinza e *L. edodes*

Menezes et al. (2017) também observaram que o aumento da concentração de azul de metileno de 50 mg.L^{-1} para 100 mg.L^{-1} em meio de extrato de malte, sem suplementação de detergente de maçã, reduziu a taxa de descoloração do meio de 56,2% para 42,4% promovida pelo cultivo de 19 dias do isolado PS de *P. sanguineus*.

No LED 96/18, o aumento da concentração do azul de metileno promoveu aumento da taxa de descoloração de 27,6% no meio com 40 mg.L^{-1} para 36,7% com 80 mg.L^{-1}. Por outro lado, no consórcio do LED 96/18 com o fungo *Aspergillus* spp. (cinza, AC) ocorreu redução da taxa de descoloração de 26,7% do meio com 40 mg.L^{-1} para 19,8% no meio com 80 mg.L^{-1} do corante (Figura 3).

O consórcio de *Aspergillus* spp. e LED 96/18 reduziu a taxa de descoloração em comparação ao tratamento contendo apenas o cultivo de LED 96/18, provavelmente devido ao efeito antagônico destas espécies. Uma vez que, Silva et al. (2013) relataram que os microrganismos podem produzir metabólitos com atividade antimicrobiana capazes de inibir o crescimento de outros indivíduos. Desta forma, o consórcio com espécies de microrganismos antagônicas pode interferir na eficiência biorremediadora em condições não controladas.

É importante considerar que os isolados fúngicos de LED 96/18, PS e AC promoveram a absorção pelo micélio dos compostos presentes no meio de cultura, o que pode auxiliar nos processos de biorremediação (Figura 4).

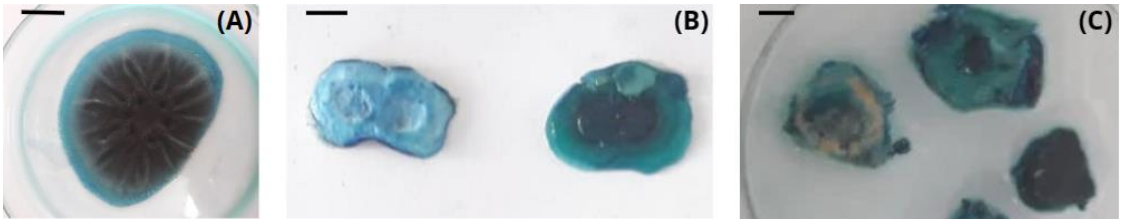

Figura 4 – Absorção/Adsorção do meio contendo azul de metileno e detergente de maçã por *Aspergillus* spp. (A), LED 96/18 (B) e PS (C), após nove dias de cultivo (barra = 1 cm)

De forma geral, os fungos *Aspergillus* spp. (cinza), LED 96/18 e PS conseguiram promover a descoloração do meio contendo azul de metileno e detergente a depender da concentração e da interação microbiana. As taxas de descoloração obtidas pelos basidiomicetos testados, em ambas as concentrações, foram superiores ao do fungo *Aspergillus* spp. (cinza).

Bioensaio 3 – Fitotoxicidade do meio líquido suplementado com detergente de maçã e azul de metileno após nove dias de cultivo fúngico

No 1º experimento de fitotoxidade, o emprego da solução com 1% do meio de cultivo de extrato de levedura, 40 $mg.L^{-1}$ de azul de metileno e 200 $\mu L.L^{-1}$ de detergente colonizado pelos isolados LED 96/18 e PS não apresentou diferença significativa na taxa de germinação das sementes do tomateiro em comparação as testemunhas em água destilada autoclavada e em 1% de meio, sem inoculação fúngica (Tabela 5).

Tabela 5 – Germinação (%) das sementes de tomateiro Rasteiro Rio Grande, comprimento da radícula, após cinco dias da semeadura; e o pH e a condutividade elétrica da solução de 1% do meio à base de extrato de levedura contendo 40 $mg.L^{-1}$ do corante azul de metileno e 200 $\mu L.L^{-1}$ de detergente

Tratamentos[1,2]	Germinação (%)	Comprimento da radícula[3] (mm)	pH	Condutividade elétrica ($\mu s.cm^{-1}$)
Água destilada	95,0 a[4]	16,3 b	7,6 a	38,4 c
1% do meio de cultivo	95,0 a	21,0 ab	6,5 b	78,2 b
LED 96/18	100,0 a	21,5 ab	6,2 bc	89,2 a
PS	85,0 a	25,0 a	5,8 c	90,5 a
CV (%)	9,2	25,8	2,8	1,8

[1] LED 96/18: *Lentinula edodes* e PS: *Pycnoporus* sanguineus; [2] Testemunha em água destilada autoclavada; Testemunha em meio a 1% sem inoculação fúngica; Em meio a 1% após cultivo de LED 96/18 e Em meio a 1% após cultivo de PS; [3] Dados transformados por $\sqrt{x+1}$; e [4] Médias seguidas de mesma letra minúscula na coluna não diferem entre si pelo Teste de *Tukey* a 5% de probabilidade

Em relação ao crescimento das plântulas, apenas o PS estimulou significativamente o crescimento da radícula do tomateiro quando comparado à

testemunha em água destilada autoclavada, mas não diferiu dos tratamentos testemunha em meio a 1% sem cultivo fúngico e com cultivo de LED 96/18 (Tabela 5).

Não houve diferença significativa entre os tratamentos testemunha em água destilada e testemunha em meio a 1% sem cultivo fúngico e com cultivo de LED 96/18, ou seja, a presença de detergente e corante na solução de 1% e os produtos do metabolismo do LED 96/18 não influenciaram no comprimento da radícula em comparação ao tratamento testemunha de água destilada (Tabela 5).

Dentre os fatores que podem interferir na taxa de germinação e no desenvolvimento da plântula pode-se citar o pH e a condutividade elétrica do meio. Neste sentido, Souza e Coelho (2000) observaram que o tomateiro se desenvolve preferencialmente em solo com pH entre 5,5 e 6,8. Em relação à testemunha em meio a 1% sem cultivo fúngico, não houve diferença significativa do pH com meio a 1% com cultivo de LED 96/18. Entretanto, no meio a 1% com cultivo de PS houve redução significativa do pH em comparação aos tratamentos testemunhas, mas com valor dentro da faixa recomendada para o tomateiro segundo Souza e Coelho (2000) (Tabela 5).

A redução do pH do meio após o cultivo fúngico também foi relatada por Perovano Filho et al. (2010). Segundo estes autores, o fungo *Cladosporium* sp. liberou enzimas do grupo das lacases no meio, o que ocasionou a redução do pH e o aumento da condutividade elétrica, tal como observado no meio a 1% com o cultivo do isolado PS. Assim como, no meio a 1% com o cultivo do isolado LED 96/18 também promoveu aumento da condutividade do meio, mas não reduziu significativamente o pH em relação ao tratamento testemunha em meio a 1% sem cultivo fúngico (Tabela 5).

Desta forma, a solução a 1% do meio de cultura com detergente e azul de metileno com e sem a colonização dos isolados LED 96/18 e PS pode não ter apresentado compostos fitotóxicos às sementes do tomateiro cultivar Rasteiro Rio Grande, apesar da alteração do pH e da condutividade elétrica.

No 2º experimento de fitotoxidade, o emprego da solução a 10% do meio com e sem o cultivo de LED 96/18 e PS não influenciou na germinação das sementes do tomateiro em relação a testemunha em água destilada autoclavada (Tabela 6).

Tabela 6 – Germinação (%) das sementes de tomateiro cultivar Rasteiro Rio Grande, comprimento da radícula, após cinco dias da semeadura; e o pH e a condutividade elétrica da solução de 10% do meio à base de extrato de levedura contendo 80 $mg.L^{-1}$ do corante azul de metileno e 200 $\mu L.L^{-1}$ de detergente

Tratamentos[1,2]	Germinação (%)	Comprimento da radícula[3] (mm)	pH	Condutividade elétrica ($\mu s.cm^{-1}$)
Água destilada	98,0 a[4]	36,6 a	8,6 a	9,3 d
10% do meio	93,0 a	16,0 b	6,1 b	504,5 b
LED 96/18	93,0 a	19,9 b	6,0 b	455,7 c
PS	95,0 a	17,5 b	4,2 c	579,0 a
CV (%)	9,3	25,0	3,7	0,8

[1] LED 96/18: *Lentinula edodes* e PS: *Pycnoporus sanguineus*; [2] Testemunha em água destilada autoclavada; Testemunha em meio a 10% sem inoculação fúngica; Em meio a 10% após cultivo de LED 96/18 e Em meio a 10% após cultivo de PS; [3] Dados transformados por $\sqrt{x+1}$; e [4] Médias seguidas de mesma letra minúscula na coluna não diferem entre si pelo Teste de *Tukey* a 5% de probabilidade

Por outro lado, o emprego da solução a 10% do meio com e sem o cultivo de LED 96/18 e PS reduziram significativamente o comprimento das radículas das plântulas

do tomateiro em relação a testemunha em água destilada, provavelmente devido a presença do detergente, do corante, dos metabólitos secundários e/ou das enzimas liberadas durante o cultivo dos isolados fúngicos LED 96/18 e PS (Tabela 6).

No tratamento testemunha em água destilada autoclavada foram observados os fungos *Curvularia* spp., *Mucor* spp. e *Rhizopus* spp., mas não foi observada a presença destes microrganismos nos tratamentos contendo detergente e azul de metileno. Isso sugere um efeito tóxico destes compostos para estes microrganismos das sementes a depender da concentração, tal como Wemedo e Nrior (2017) relataram que detergentes possuem efeito tóxico para o fungo do gênero *Mucor*.

Desse modo, a redução do comprimento da radícula do tomateiro observada nos tratamentos que contêm detergente e azul de metileno pode ter ocorrido também pela eliminação desses microrganismos endofíticos (Tabela 6). Uma vez que, Dutta et al. (2014) relataram que diversas espécies vegetais possuem interações com microrganismos endofíticos, o que pode promover o crescimento da planta hospedeira.

Carballo-Méndezo et al. (2023) também notaram que a utilização de solução com elevada condutividade elétrica promoveu a redução do comprimento da raiz de tomateiro, tal como observado nos resultados deste bioensaio.

Da mesma forma, Araújo et al. (2013) observaram que o subproduto da descoloração do meio de extrato de levedura com o corante têxtil índico carmine após o crescimento do fungo *Aspergillus* não foi tóxico às sementes de feijão, mas influenciou negativamente no crescimento das radículas das plântulas. No entanto, Wu et al. (2022) notaram que o emprego de 100 $mg.L^{-1}$ do corante azul de metileno reduziu a taxa de germinação e o crescimento das plântulas de *Triticum aestivum* e *Vigna radiata*.

Por sua vez, Silva (2023) relatou que o detergente líquido contendo LAS apresentou efeito adverso no comprimento das raízes e com o surgimento de necrose nas radículas, o que afetou a taxa de germinação de sementes de alface (*Lactuca sativa*) e milho (*Zea mays*), a depender da concentração destes produtos e da espécie vegetal, o que pode justificar os efeitos fitotóxicos dos meios testados para o tomate cultivar Rasteiro Rio Grande neste trabalho.

Vale ressaltar que no meio a 10% após cultivo de PS houve uma redução significativa do pH e aumento significativo da condutividade elétrica quando comparado aos demais tratamentos, provavelmente devido a liberação de enzimas oxidativas por este isolado fúngico (Tabela 6).

Perovano Filho et al. (2010) também observaram a redução do pH com o aumento da condutividade elétrica do meio com azul de metileno após o cultivo do fungo *Cladosporium* sp. isolado de água de lavagem de cana-de-açúcar. Segundo estes autores, o aumento da condutividade ocorre devido ao aumento de íons devido a ação de enzimas lignolíticas.

Por sua vez, Porwal et al. (2015) relataram que os microrganismos podem absorver íons para realizar suas atividades metabólicas e, consequentemente, reduzir a condutividade elétrica do meio. Dessa forma, a redução da condutividade elétrica no meio a 10% após cultivo de LED 96/18 quando comparado à testemunha em meio a 10% sem cultivo fúngico pode ter ocorrido devido ao mecanismo de bioabsorção realizado por este isolado fúngico (Tabela 6 e Figura 4).

Desta forma, a solução a 10% do meio de cultura com detergente e azul de metileno pode ter apresentado compostos fitotóxicos às sementes do tomateiro cultivar Rasteiro Rio Grande e que o cultivo dos isolados LED 96/18 e PS promoveram alteração no pH e/ou na condutividade elétrica do meio, mas sem alteração na fitotoxicidade deste, o que sugere um potencial biorremediador destes isolados fúngicos. Entretanto, é necessário avaliar a composição do meio após o cultivo microbiano para que não ocorra

poluição ambiental, uma vez que os basidiomicetos podem liberar enzimas oxidativas, como as lacases e peroxidases, capazes de degradar diversos xenobióticos, e consequentemente, gerar subprodutos que podem alteram a toxicidade do meio (Eichlerová e Baldrian, 2020; Freita et al., 2017; Liu et al., 2021).

Bioensaio 4 - Crescimento micelial de isolados de basidiomicetos em meio sólido de BDA com detergente de maçã e corante de azul de metileno autoclavado

O aumento da concentração do corante azul de metileno no meio com detergente não influenciou no diâmetro micelial e na velocidade de crescimento do LED 96/18, cujos dados não foram ajustados a nenhum modelo de regressão. Por outro lado, o aumento da concentração do azul de metileno a partir de 40 $mg.L^{-1}$ reduziu significativamente o diâmetro micelial e a velocidade de crescimento micelial do isolado PS em relação a 0 $mg.L^{-1}$ do corante, cujos dados foram ajustados à regressão linear (Tabela 7).

Tabela 7 – Diâmetro micelial e velocidade de crescimento micelial dos isolados fúngicos LED96/18 e PS em meio de BDA com detergente de maçã e cinco concentrações de azul de metileno, após 4 dias de cultivo

Isolados fúngicos[1]	Concentração de azul de metileno ($mg.L^{-1}$)					Regressão, R^2
	0	20	40	80	160	
	Diâmetro micelial (cm)					
LED 96/18	1,6bA[2]	1,6bA	1,9bA	1,9bA	1,6bA	Linear; 0,0009ns[3]
PS	6,5aA	5,9aA	4,7aB	4,3aB	2,3aC	Linear; 0,96**
CV (%)	15,2					
	Velocidade de crescimento micelial ($cm.dia^{-1}$)					
LED 96/18	0,2bA	0,2bA	0,3bA	0,3bA	0,2bA	Linear; 0,002ns
PS	1,5a A	1,3aA	1,0aB	0,9aB	0,4aC	Linear; 0,96**
CV (%)	19,3					

[1] LED 96/18: *Lentinula edodes* e PS: *Pycnoporus sanguineus*; [2] Médias seguidas de mesma letra (minúscula na coluna; maiúscula na linha) não diferem entre si pelo Teste de *Tukey* a 5% de probabilidade; e [3] (ns) não significativo ($p>0,05$); e (**) = significativo a 1% ($p < 0,01$)

Nos tratamentos com o isolado LED 96/18 houve contaminação em todas as concentrações do azul de metileno, exceto com 80 $mg.L^{-1}$ do corante. Desta forma, não foi possível avaliar o real efeito do meio contendo azul de metileno e detergente no diâmetro micelial e na velocidade de crescimento micelial do isolado LED 96/18 (Tabela 8).

Tabela 8 – Contaminação (%) do meio de cultura à base de extrato de levedura com o corante azul de metileno e detergente inoculado com os isolados fúngicos, após quatro dias de cultivo

Tratamento*	Contaminante	Contaminação (%)				
		0 $mg.L^{-1}$	20 $mg.L^{-1}$	40 $mg.L^{-1}$	80 $mg.L^{-1}$	160 $mg.L^{-1}$
LED 96/18	Bactérias	-	60,0	-	-	-
	Penicillium sp.	80,0	20,0	100,0	-	60,0
PS	-	-	-	-	-	-

* LED 96/18: *Lentinula edodes* e PS: *Pycnoporus sanguineus*

No LED 96/18, o fungo *Penicillium* sp. e as bactérias que foram identificadas com 99,87% e 100% de similaridade com as espécies *Bacillus subtilis* NCIB 3610 e *Bacillus velezensis* CR-502, respectivamente, promoveram a descoloração do meio de cultivo (Figura 5).

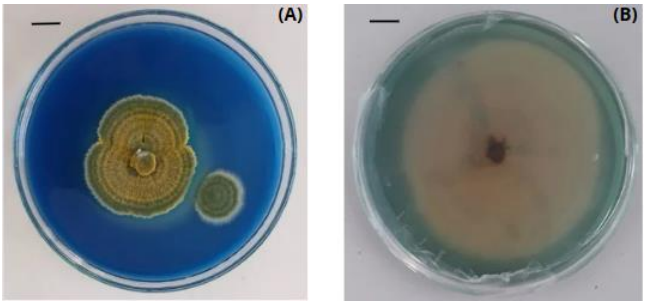

Figura 5 – Descoloração do meio BDA com detergente de maçã, em A: com 40 mg.L^{-1} do azul de metileno pelo contaminante *Penicillium* sp. e em B: com 20 mg.L^{-1} de corante por *Bacillus*, após dez dias de cultivo (barra = 1 cm)

Bafana (2022) relataram que *Bacillus velezensis* são capazes de liberar enzimas azoredutases e, consequentemente, promoverem a descoloração de corantes do grupo azo, enquanto, Patrao et al. (2012) notaram a capacidade de *Bacillus subtilis* em degradar detergentes aniônicos. E, Costa et al. (2020) observaram que *Penicillium chrysoqenum* é capaz de biodegradar o LAS, o que corrobora com os resultados obtidos neste trabalho.

Os fungos pertencentes ao gênero *Penicillium* sp. também são comumente encontrados nos esgotos domésticos de acordo com Sessegolo et al. (2011), que com base nos resultados obtidos neste trabalho apresentam potencial para serem utilizados na remoção de detergentes de efluentes sanitários.

Por outro lado, não houve presença de microrganismos contaminantes no tratamento PS. Desse modo, foi possível observar que o emprego de 20 a 160 mg.L^{-1} do corante no tratamento PS promoveu uma inibição do diâmetro micelial de 9,5% a 64,5% e da velocidade de crescimento de 10,6% a 72,3% em comparação ao 0 mg.L^{-1} (Tabela 7 e 8).

No tratamento LED 96/18 com 80 mg.L^{-1} do corante, que não houve presença de contaminantes, é possível notar que o principal mecanismo biorremediador deste isolado foi o da bioabsorção/bioadsorção destes xenobióticos, o que corrobora com os resultados do bioensaio 2 (Tabela 9).

Tabela 9 – Dados médios de notas subjetivas de descoloração e de absorção do meio de BDA suplementado com detergente de maçã e cinco concentrações de azul de metileno colonizado por fungos filamentos, após 10 dias de cultivo

Variável analisada	Isolados fúngicos[1]	Azul de metileno (mg.L^{-1})				
		0	20	40	80	160
Descoloração[3,4]	LED 96/18	0,0aB[2]	1,0aA	1,0aA	0,2bB	0,8aA
	PS	0,0aB	1,0aA	1,0aA	0,8aA	1,0aA
	CV (%)	7,9				
Absorção[3,4]	LED 96/18	0,0aB	0,2aB	0,0bB	1,0aA	0,6aAB
	PS	0,0aB	0,6aAB	0,8aA	0,8aA	0,0bB
	CV (%)	12,3				

[1] LED 96/18: *Lentinula edodes* e PS: *Pycnoporus sanguineus* ; [2] Médias seguidas de mesma letra (minúscula na coluna; maiúscula na linha) não diferem entre si pelo Teste de *Tukey* a 5% de probabilidade; [3] Dados transformados por $\sqrt{x+1}$; e [4] Notas sujetivas: 1 = presença de descoloração do meio e/ou absorção do meio e 0 = ausência de descoloração e/ou absorção do meio pelo micélio.

O PS promoveu a descoloração do meio com azul de metileno e detergente em todas as concentrações do corante, mas houve absorção do corante no micélio nas concentrações de 20 a 80 mg.L^{-1} do azul de metileno (Tabela 9).

Estes resultados corroboram as observações do bioensaio anterior, pois a presença de azul de metileno influenciou negativamente no diâmetro micelial e da velocidade de crescimento dos fungos a depender da concentração. Entretanto, os isolados LED 96/18 e PS promoveram a descoloração e/ou absorção do meio, o que demostra o potencial de biorremediar o detergente de maçã e o corante azul de metileno "in vitro", e dessa forma, é necessário realizar estudos complementares em condições de campo.

Conclusões

A combinação da análise das variáveis de diâmetro micelial, velocidade de crescimento micelial, porcentagens de inibição de diâmetro micelial e de velocidade de crescimento micelial, taxa de descoloração do meio e efeitos fitotóxicos do meio com e sem a colonização fúngica pode ser utilizada para determinar o potencial biorremediador "in vitro" de fungos.

Os basidiomicetos de *Lentinula edodes* (LED 96/18), de *Pleurotus ostreatoroseus* (POS SP1) e de *Pycnoporus sanguineus* (PS) apresentam potencial biorremediador de meios contendo o detergente lava-louças de maçã (Ypê®), cujo componente ativo é o Linear Alquil Benzeno Sulfonato de Sódio (LAS), a depender da concentração deste composto e da interação microbiana.

Desse modo, estes isolados fúngicos apresentam potencial de serem uma alternativa biotecnológica para o tratamento de efluentes contendo estes produtos domissanitários, tais como, o doméstico ou advindo de lavanderias e lava jatos, no entanto é requerido pesquisas complementares em escalas maiores.

Agradecimentos

Os autores agradecem ao Laboratório de Corrosão e Nanotecnologia (LCNT/NUPEG/UFS) e ao Laboratório de Remediação de Solos (DEA/UFS) pela utilização dos equipamentos e infraestrutura e ao apoio financeiro do CNPq.

Conflito de interesses

Os autores declararam não haver conflito de interesses.

Referências

ABIPLA – Associação Brasileira das Indústrias de Produtos de Higiene, Limpeza e Saneantes de Uso Doméstico e de Uso Profissional. **17° Anuário:** 2022. São Paulo, 2022. Disponível em: <https://abipla.org.br/anuario/ >. Acesso em 13 jul. 2023.

ANA. **Atlas Esgotos, Despoluição de Bacias Hidrográficas**, Brasília, 2017. Disponível em: <ATLASeESGOTOSDespoluicaodeBaciasHidrograficas-ResumoExecutivo_livro.pdf (ana.gov.br)>. Acesso em 25 ago. 2023.

Araújo, G. R.; Bezerra, J. D. P.; Freire, K. T. L. S.; Paiva, L. M.; Sousa Motta, C. M.; Malosso, E.; Silva, D. C. V. Descoloração do corante têxtil índigo carmine por espécies de *Aspergillus*. In: Simpósio de Ciências Biológicas, 6., Recife, 2013.

Bach, F.; Helm, C. V.; Pedro, A. C.; Stafussa, A. P.; Maciel, G. M.; Haminiuk, C. W. I.

Atividade antioxidante e antimicrobiana do extrato de *Lentinula edodes*. In: Congresso Sul Brasileiro de Engenharia de Alimentos, 4., Guarapuava, 2018.

Bafana, A. Identification and characterization of azoreductase enzyme AzoR2 from *Bacillus velezensis* for biodegradation of azo dyes. **International Biodeterioration & Biodegradation**, v. 167, p. 105351, 2022. https://doi.org/10.1016/j.ibiod.2021.105351

Barnett, H. L.; Hunter, B. B. **Illustrated genera of imperfect fungi**. Ohio: Amer Phytopathological Society, 1998. 234p.

Brasil. **Resolução CONAMA nº 357, de 17 de março de 2005**. Dispõe sobre a classificação dos corpos de água e diretrizes ambientais para o seu enquadramento bem como estabelece as condições e padrões de lançamento de efluentes, e dá outras providências. Disponível em: <conama.mma.gov.br/?option=com_sisconama&task=arquivo.download&id=450>. Acesso em: 01 fev. 2024.

Brasil. **Resolução CONAMA nº 359, de 29 de abril de 2005**. Dispõe sobre a regulamentação do teor de fósforo em detergentes em pó para uso em todo território nacional e dá outras providências. Disponível em: <resolucao-conama-359-05.pdf (baciaspcj.org.br)>. Acesso em: 01 set. 2023.

Brasil. **Resolução da Diretoria Colegiada nº 694, de 13 de maio de 2022**. Dispõe sobre os critérios para a regularização de produtos de limpeza e afins e sobre a biodegradabilidade de tensoativos aniônicos. Disponível em: <dfd68a5a-1521-4bd4-b715-d9b8b7629728 (anvisa.gov.br)>. Acesso em: 01 set. 2023.

Carballo-Méndez, F. de J.; Urrestarazu, M.; Rodríguez-Ortiz, J. C.; Morales, I. Electrical conductivity of the nutrient solution on the vegetative propagation of bell pepper and tomato. **Ciência Rural**, v. 53, p. e20210730, 2023. http://doi.org/10.1590/0103-8478cr20210730

CETESB. **Apêndice C – Significado ambiental e sanitário das variáveis de qualidade das águas e dos sedimentos e metodologias analíticas e de amostragem 2021**, São Paulo, 2021. Disponível em: <Apendice-C-Significado-ambiental-e-sanitario-das-variaveis-de-qualidade-das-aguas-e-dos-sedimentos-e-metodologias-analiticas-e-de-amostragem.pdf (cetesb.sp.gov.br)>. Acesso em 01 fev. 2024.

Costa, M. F.; Carvalho, B. M. A.; Oliveira, A. M., Oliveira Jr, E. N. Biodegradação do surfactante linear alquilbenzeno sulfonato de sódio utilizando fungos filamentosos. In: Congresso Brasileiro de Engenharia Química, 20., Florianópolis, 2014.

Costa, M. F.; Oliveira, A. M. de; Oliveira Junior, E. N. de. Biodegradation of linear alkylbenzene sulfonate (LAS) by *Penicillium chrysogenum*. **Bioresource Technology Reports**, v. 9, p. 100363, 2020. https://doi.org/10.1016/j.biteb.2019.100363

Delforno, T. P.; Lacerda Jr, G. V.; Sierra-Garcia, I. N.; Okada, D. Y.; Macedo, T. Z.; Varesche, M. B. A.; Oliveira, V. M. Metagenomic analysis of the microbiome in three different bioreactor configurations applied to commercial laundry wastewater treatment. **Science of the Total Environment**, v. 587-588, p. 389-398, 2017. https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2017.02.170

Dutta, D.; Puzari, K. C.; Gogoi, R.; Dutta, P. Endophytes: Exploitation as a tool in plant protection. **Brazilian Archives of Biology and Technology**, v. 57, p. 621-629, 2014. http://dx.doi.org/10.1590/S1516-8913201402043

Effendi, I.; Nedi, S.; Ellizal; Nursyirwani; Feliatra; Fikar; Tanjung; Pakpahan, R.; Pratama. Detergent Disposal into Our Environmentand Its Impact on Marine Microbes. **International Conference on Environment and Technology**, v. 97, p. 012030, 2017. https://doi.org/10.1088/1755-1315/97/1/012030

Eichlerová, I.; Baldrian, P. Ligninolytic Enzyme Production and Decolorization Capacity of Synthetic Dyes by Saprotrophic White Rot, Brown Rot, and Litter Decomposing Basidiomycetes. **Journal of fungi**, v. 6, p. 301-323, 2020. https://doi.org/10.3390/jof6040301

EPA 712-C-010 – United States Environmental Protection Agency. **OCSPP 850.4230: Early Seedling Growth Toxicity Test**. Washington, 2012.

Figueiredo, A.; Silva, A. C. e. Atividade "in vitro" de extratos de *Pycnoporus sanguineus* e *Lentinus crinitus* sobre o fitopatógeno *Fusarium* sp. **Acta Amazonica**, v. 44, p. 1-8, 2014. https://doi.org/10.1590/S0044-59672014000100001

Freitas, E. N. de; Bubna, G. A.; Moriyama, C.; Rauen, T. G.; Peralta-Muniz-Moreira, R. de F.; Souza, C. G. M. de; Bracht, A.; Peralta, R. M. Removal of bisphenol A by laccases from *Pleurotus ostreatus* and *Pleurotus pulmonarius*: Evaluation of degrading products and toxicity. In: Simpósio de Hidrólise Enzimática de Biomassa, 12., Aracaju, 2017.

Henn, C.; Monteiro, D. A.; Boscolo, M.; Silva, R. da; Gomes, E. Biodegradation of atrazine and ligninolytic enzyme production by basidiomycete strains. **BMC Microbiology**, v. 20, p. 266-278, 2020. https://doi.org/10.1186%2Fs12866-020-01950-0

Jakovljević, V. D.; Stojanovic, J. D. Vrvic, M. M. The potential application of fungus *Trichoderma harzianum* rifai in biodegradation of detergent and industry. **Chemical Industry & Chemical Engineering Quarterly**, v. 21, p. 131-139, 2015. https://doi.org/10.2298/ciceq140414017j

Jakovljevic, V. D.; Vrvic, M. M. Capacity of *Aspergillus niger* to Degrade Anionic Surfactants and Coproduce the Detergent Compatible Enzymes. **Applied Biochemistry and Microbiology**, v. 52, p. 183-189, 2016. http://dx.doi.org/10.1134/S0003683816020083

Jakovljevic, V. D.; Vrvic, M. M. Potential of *Penicillium cyclopium* Westling for Removing of Anionic Surfactants and Biotechnology. **Applied Biochemistry and Microbiology**, v. 51, p. 704-711, 2015. http://dx.doi.org/10.1134/S000368381506006X

Kogawa, A. C.; Cernic, B. G.; Couto, L. G. D. de; Salgado, H. R. N. Synthetic detergents: 100 years of history. **Saudi Pharmaceutical Journal**, v. 25, p. 934–938, 2017. https://doi.org/10.1016/j.jsps.2017.02.006

Kryczyk-poprawa, A.; Zmudzki, P.; Maslanka, A.; Piotrowska, J.; Opoka, W.; Muszynska, B. Mycoremediation of azole antifungal agents using in vitro cultures of *Lentinula edodes*. **3 Biotech**, v. 9, p. 207–216, 2019.

http://dx.doi.org/10.1007/s13205-019-1733-5

Liu, X.; Deng, W.; Yang, Y. Characterization of a Novel Laccase LAC-Yang1 from White-Rot Fungus *Pleurotus ostreatus* Strain Yang1 with a Strong Ability to Degrade and Detoxify Chlorophenols. **Molecules**, v. 26, p. 473-504, 2021. https://doi.org/10.3390/molecules26020473

Mastroti, R. R.; Sousa, E. C. P. M. de; Abessa, D. M. de S.; Sass, V. Avaliação preliminar da biodegradabilidade de tensoativos aniônicos em água do mar. **Brazilian Journal of Oceanography**, v. 46, p. 187-193, 1998. https://doi.org/10.1590/S1679-87591998000200007

Menezes, C. R. de; Barreto, A. R. Biodegradação de resíduos lignocelulósicos por fungos basidiomicetos: Caracterização dos resíduos e estudo do complexo enzimático fúngico. **Revista Eletrônica em Gestão, Educação e Tecnologia Ambiental**, v. 19, p. 1365-1391, 2015. Doi: 105902/2236117016853

Menezes, G. dos S.; Carvalho, T. A. de; Almeida, W. dos S.; Sussuchi, E. M.; Viégas, P. R. A.; Marino, R. H. Bioremediation potential of filamentous fungi in methylene blue: Solid and liquid culture media. **Ciência e Agrotecnologia**, v. 41, p. 526-532, 2017. https://doi.org/10.1590/1413-70542017415002917

Patrao, S.; Acharya, A.; Suvarna, N.; Sequeira, M. Degradation of Anionic Surfactants by *Bacillus subtilis* and *Bacillus cereus*. **IOSR Journal of Pharmacy and Biological Sciences**, v. 3, p. 42-45, 2012. https://doi.org/10.9790/3008-0314245

Perovano Filho, N.; Silva, K. F. S. da; López, A. M. Q. Degradação do corante Azul de Metileno por *Cladosporium* sp. isolado de água de lavagem de cana. **Revista Científica do Departamento de Química e Exatas**, v. 1, p. 6-12, 2010.

Porwal, H. J.; Mane, A. V.; Velhal, S. G. Biodegradation of dairy effluent by using microbial isolates obtained from activated sludge.**Water Resources and Industry**, v. 9, p. 1-15, 2015. https://doi.org/10.1016/j.wri.2014.11.002

Quevedo, C. M. G.; Paganini, W. S. A disponibilização de fósforo nas águas pelo uso de detergentes em pó: aspectos ambientais e de Saúde Pública. **Ciências & Saúde Coletiva**, v. 23, p. 3891-3902, 2018. https://doi.org/10.1590/1413-812320182311.27062016

Sessegolo, T.; Tochetto, C.; Zanette, R. A.; Silva, A. S. da; Alves, S. H.; Monteiro, S. G.; Santurio, J. M. Microbiota fúngica em amostras de água potável e esgoto doméstico. Semina: Ciências Agrárias, v. 32, p. 301-305, 2011. https://doi.org/10.5433/1679-0359.2011v32n1p301

Silva, F. C. Manual de análises químicas de solos, plantas e fertilizantes. **Revista e ampliada**, Brasília, DF: Embrapa Informação Tecnológica, 2009. 627p.

Silva, L. M. da. Impactos dos detergentes no meio ambiente: evidências de um estudo ecotoxicológico. **Revista Ibero-Americana de Humanidades, Ciências e Educação**, v. 9, p. 1429-1441, 2023. https://doi.org/10.51891/rease.v9i2.8883

Silva, M. G. C.; Almeida, D. G.; Gusmão, N. B.; Sousa, M. F. V. Q. S. Composição de consórcios microbianos para aplicação em processos de biorremediação. In: Simpósio de Ciências Biológicas, 6., Recife, 2013.

Sobrino-Figueroa, A. Toxic effect of commercial detergents on organisms from different trophic levels. **Environmental Science and Pollution Research**, v. 25, p. 13283-13291, 2018. https://doi.org/10.1007/s11356-016-7861-0

Souza, V. A. B.; Coelho, E. F. **Tecnologias para produção em solos arenosos de tabuleiros costeiros do Meio-Norte**. Teresina, PI: EMBRAPA Meio-Norte, 2000.

Su, J.; Rodrigues, D. C. G. de A. Cinética de crescimento radial de fungos isolados em corante laranja ácido 7. In: Congresso Brasileiro de Ciência e Saberes Multidisciplinares, 1., Volta Redonda, 2022.

Takdastan, A.; Farhadi, M.; Salari, J.; Kayedi, N.; Hashemzadeh, B.; Mohammad, M. J.; Rahimi, S.; Khaniabadi, Y. O.; Vosoughi, M.; Zahedi, A. Electrocoagulation Process for Treatment of Detergent and Phosphate. **Archives of Hygiene Sciences**, v. 6, p. 66-74, 2017. http://dx.doi.org/10.29252/ArchHygSci.6.1.66

Teixeira, B. F.; Claudia, S.; Assis, T. R. de, Cruz, S. H. da. Produção de enzimas lignolíticas por fungos utilizando resíduos agroindustriais. In: Seminário Brasileiro de Tecnologia Enzimática, 12., Caxias do Sul, 2016.

Wahyuni, E. T.; Roto, R.; Sabrina, M.; Anggraini, V.; Leswana, N. F.; Vionita, A. C. Photodegradation of Detergent Anionic Surfactant in Wastewater Using UV/TiO2/H2O2 and UV/Fe2+/H2O2 Processes. **American Journal of Applied Chemistry**, v. 4, p. 174-180, 2016. Doi: 10.11648/j.ajac.20160405.13

Wemedo, S., A.; Nrior, R., R. Response of *Mucor Racemosus* to Toxicity of Domestic Detergents. **Journal of Emerging Trends in Engineering and Applied Sciences**, v. 8, p. 85-91, 2017.

Wu, K.; Shi, M.; Pan, X.; Zhang, J.; Zhang, X.; Shen, T.; Tian, Y. Decolourization and biodegradation of methylene blue dye by a ligninolytic enzyme-producing *Bacillus thuringiensis*: Degradation products and pathway. **Enzyme and Microbial Technology,** v. 156, p. 109999, 2022. https://doi.org/10.1016/j.enzmictec.2022.109999