



UNIVERSIDADE FEDERAL DO CEARÁ
CENTRO DE CIÊNCIAS
DEPARTAMENTO DE BIOLOGIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ECOLOGIA E RECURSOS NATURAIS

ALYNE VASCONCELOS CAVALCANTE

BIORREMEDIAÇÃO DE PESTICIDA POR CONSÓRCIO FÚNGICO

FORTALEZA

2024

ALYNE VASCONCELOS CAVALCANTE

BIORREMEDIAÇÃO DE PESTICIDA POR CONSÓRCIO FÚNGICO

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ecologia e Recursos Naturais da Universidade Federal do Ceará, como parte dos requisitos para obtenção do título de Doutora em Ecologia e Recursos Naturais. Área de concentração: Ecologia e Recursos Naturais.

Orientadora: Prof.^a Dr.^a Kelly Rodrigues
Coorientadora: Prof.^a Glória Marinho

FORTALEZA

2024

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação
Universidade Federal do Ceará
Sistema de Bibliotecas
Gerada automaticamente pelo módulo Catalog, mediante os dados fornecidos pelo(a) autor(a)

C364b Cavalcante, Alyne Vasconcelos.
Biorremediação de pesticida por consórcio fúngico / Alyne Vasconcelos Cavalcante. – 2024.
98 f.: il. color.

Tese (doutorado) – Universidade Federal do Ceará, Centro de Ciências, Programa de Pós-Graduação em Ecologia e Recursos Naturais, Fortaleza, 2024.

Orientação: Profa. Dra. Kelly de Araújo Rodrigues Pessoa.

Coorientação: Profa. Dra. Glória Maria Marinho Silva.

1. Paraquat. 2. Fungos isolados. 3. Consórcio. 4. Micoremediação. I. Título.

CDD 577

ALYNE VASCONCELOS CAVALCANTE

BIORREMEDIAÇÃO DE PESTICIDA POR CONSÓRCIO FÚNGICO

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ecologia e Recursos Naturais da Universidade Federal do Ceará, como parte dos requisitos para obtenção do título de Doutora em Ecologia e Recursos Naturais. Área de concentração: Ecologia e Recursos Naturais.

Aprovada em: 22/01/2024

BANCA EXAMINADORA

Profa. Dra. Kelly de Araújo Rodrigues Pessoa (Orientadora)
Universidade Federal do Ceará (UFC)
Instituto Federal do Ceará (IFCE)

Profa. Dra. Karina Querne Carvalho
Universidade Tecnológica Federal do Paraná (UTFPR)

Profa. Dra. Luísa Helena dos Santos Oliveira
Universidade Federal do ABC (UFABC)

Prof. Dr. Marcus Vinícius Freire Andrade
Instituto Federal do Ceará (IFCE)

Profa. Dra. Suzana Cláudia Silveira Martins
Universidade Federal do Ceará (UFC)

AGRADECIMENTOS

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) - Código de Financiamento 001.

Às professoras Kelly Rodrigues e Glória Marinho pela coordenação do laboratório onde foram executadas as análises, por mobilizarem todos os esforços na aquisição de materiais, reagentes e equipamentos que dão suporte a todos os projetos de pesquisa desenvolvidos no Latam.

Aos professores e colegas durante a caminhada do doutorado, pelo ensino, aprendizagem, trocas e vivências dentro e fora da Universidade Federal do Ceará.

À minha família que entende minhas ausências, meu pai e, em especial, minha mãe que retira todas as barreiras do meu caminho e me mostra diariamente o valor da paciência e persistência.

Aos colegas do Laboratório de Tecnologia Ambiental (LATAM), pela ajuda com as análises, pelos dias em que trabalho e boa convivência sempre puderam coexistir. Em especial Lidiani durante o trabalho no tempo final da pandemia, Jonas, Jackson, Catharina e João Pedro pela reta final e pelo comprometimento pontual. São muitos nomes, cito apenas os ligados ao trabalho em si.

Aos demais bolsistas e voluntários do Latam, especialmente Victória, sempre muito solícita.

Aos professores participantes da Banca examinadora, pelo aceite, colaborações e sugestões.

Ao programa de Pós-Graduação em Ecologia e Recursos Naturais.

Ao Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Ceará.

RESUMO

Uma alternativa para remediação de áreas contaminadas por agrotóxicos é o uso de microrganismos para remoção de compostos químicos. É consenso na literatura que há uma busca constante para isolamento de consórcios que promovam a degradação de poluentes complexos como os pesticidas, que contaminam água, solo e ar. Sendo assim, o objetivo desta pesquisa foi avaliar a capacidade de espécies fúngicas de removerem pesticida em meio aquoso sintético. Desta forma a tese foi estruturada em quatro seções: 1) uma introdução geral, com uma pergunta de pesquisa e possíveis hipóteses; 2) um artigo de revisão intitulado “Potencial de fungos para biorremediação de pesticidas: uma revisão sobre cepas isoladas e consórcios” que aborda tipos principais de pesticidas comumente apresentados em pesquisas sobre biorremediação, assim como estado da arte a partir de levantamento bibliográfico com critérios de exclusão e inclusão. 3) artigo experimental intitulado “Efeito de pesticida sobre o crescimento de fungos consorciados”, no qual foi avaliada a tolerância das quatro espécies estudadas ao herbicida paraquat nas concentrações 10, 20, 30, 40, 50 e 60 mg.L⁻¹. Foram preparadas 140 placas para registro fotográfico e para cálculo de taxas de velocidade de crescimento de fungos isolados e fungos consorciados. 4) artigo experimental intitulado “Consórcio de fungos para degradação de paraquat em reatores com biomassa dispersa e imobilizada”, no qual foram montados reatores em batelada agitada com biomassa dispersa e, posteriormente, reatores sequenciais com biomassa imobilizada na ausência e presença de cossubstrato, sendo as espécies escolhidas para a batelada agitada as que se desenvolveram melhor em placas de Petri: *Aspergillus niger* AN 400, *Phanerochaete chrysosporium* e *Trametes versicolor*. Diante dos resultados de remoção das bateladas agitadas com biomassa dispersa foi decidida a composição dos reatores sequenciais, sendo reator com consórcio *A.niger* AN 400 com *P. chrysosporium* sem glicose e reator de *A. niger* na presença de 5 g.L⁻¹ de glicose, em 10 ciclos de 48 horas cada. O consórcio *A.niger* AN 400 e *P. chrysosporium* alcançou 42% de remoção de paraquat enquanto batelada agitada, enquanto *A.niger* AN 400 isolado com glicose removeu 37,3% de paraquat. Os resultados obtidos nos reatores sequenciais apontaram a viabilidade de uso de fungos consorciados para remoção de pesticida em meio líquido, com foco na melhoria do tempo reacional. Foram estudados os parâmetros de remoção de paraquat, demanda química de oxigênio e pH em todos reatores. Nas bateladas sequenciais verificou-se que os valores de remoção de paraquat não obedeceram um padrão.

Palavras-chave: micoremediação; paraquat; fungos isolados; consórcios.

ABSTRACT

An alternative for the remediation of areas contaminated by pesticides is the use of microorganisms to remove chemical compounds. It is a consensus in the literature that there is a constant search for the isolation of consortia that promote the degradation complex pollutants such as pesticides, which contaminate water, soil, and air. Thus, the aim of this research was to evaluate the ability of fungal species to remove pesticides in synthetic aqueous medium. The thesis was structured into four sections: 1) a general introduction, with a research question and possible hypotheses; 2) a review article entitled "Potential of fungi for the bioremediation of pesticides: a review on isolated strains and consortia," which addresses the main types of pesticides commonly studied in bioremediation research, as well as the state of the art based on a literature review with inclusion and exclusion criteria. 3) an experimental article entitled "Effect of pesticide on the growth of consortium fungi," in which the tolerance of the four studied species to the herbicide paraquat was evaluated at concentrations of 10, 20, 30, 40, 50, and 60 mg.L⁻¹. 140 plates were prepared for photographic recording and for calculating the growth rate of isolated fungi and consortium fungi. 4) an experimental article entitled "Fungal consortium for paraquat degradation in reactors with dispersed and immobilized biomass," in which batch reactors with dispersed biomass were set up, followed by sequential reactors with immobilized biomass in the absence and presence of co-substrate. The species chosen for the batch reactors were those that performed better in Petri dishes: *Aspergillus niger* AN 400, *Phanerochaete chrysosporium*, and *Trametes versicolor*. Based on the removal results from the batch reactors with dispersed biomass, the composition of the sequential reactors was decided, which included a reactor with the *A. niger* and *P. chrysosporium* consortium without glucose and a reactor with *A. niger* in the presence of 5 g.L⁻¹ of glucose, in 10 cycles of 48 hours each. The *A. niger* and *P. chrysosporium* consortium achieved 42% paraquat removal, while the *A. niger* isolated with glucose removed 37.3% of paraquat during batch agitation. The results obtained in the sequential reactors indicated the feasibility of using consortium fungi for pesticide removal in liquid media, with a focus on improving reaction time. The parameters of paraquat removal, chemical oxygen demand, and pH were studied in all reactors. In the sequential batches, it was observed that the paraquat removal values did not follow a pattern.

Keywords: bioremediation; paraquat; isolated fungi; consortia.

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	7
2	OBJETIVOS	9
3	CAPÍTULO 1: POTENCIAL DE FUNGOS PARA BIORREMEDIAÇÃO DE PESTICIDAS: UMA REVISÃO SOBRE CEPAS ISOLADAS E CONSÓRCIOS.....	11
4	CAPÍTULO 2: EFEITO DE PESTICIDA SOBRE O CRESCIMENTO DE FUNGOS CONSORCIADOS	35
5	CAPÍTULO 3: CONSÓRCIO DE FUNGOS PARA DEGRADAÇÃO DE PARAQUAT EM REATORES COM BIOMASSA DISPERSA E IMOBILIZADA	66
6	CONCLUSÃO	90
	REFERÊNCIAS	91

1 INTRODUÇÃO

Grande parte dos processos que envolvem uso de agrotóxicos podem oferecer algum risco de contaminação ambiental e durante os últimos anos o uso de recursos biológicos para degradar ou remover pesticidas se estabeleceu como alternativa com potencial para minimizar impactos ambientais deste tipo (MAQBOOL *et al.* 2016).

A dificuldade nos processos de degradação destes compostos xenobióticos podem ser atribuídos à sua complexidade estrutural e até mesmo escassez de organismos na fonte de contaminação, pois muitas vezes as comunidades microbianas perdem a versatilidade de desenvolver vias capazes de metabolizar esses compostos, e a biotransformação que os mesmos sofrem produzem compostos intermediários geralmente com maior risco que o composto de origem (IJOMA, TEKERE; 2017).

Em comunidades microbianas naturais a capacidade de degradação de poluentes pode ser melhorada com a adição de cepas específicas, por isso bactérias e fungos têm ampla utilização em processos de biorremediação. Dentre eles, os fungos apresentam alta capacidade de biodegradar substâncias devido sua forte tolerância em altas concentrações de poluentes (GONZÁLEZ *et al.*, 2021).

Para aplicação deste recurso biológico podem ser desenvolvidos os sistemas de co-cultivo que partem da observação de algumas espécies e seu papel dentro do ecossistema cuja descoberta mais episódica de uma aplicação como esta foi a síntese de penicilina, em 1929, por Alexander Fleming, em que as espécies *Penicillium* e *Staphylococcus* foram responsáveis pela formação de um bioproduto considerado um marco no século 20 (ROSERO-CHASOY *et al.*, 2021).

As associações em sistemas microbianos podem ser simbióticas cuja sinergia envolve muitas vezes liberação de moléculas que promovem crescimento e com fins nutricionais, mas também podem incluir parasitismo ou depredação com liberação de toxinas que inibem o crescimento microbiano (PADMAPERUMA *et al.*, 2018). A vantagem de usar um consórcio microbiano pode ser atribuída a capacidades metabólicas mais amplas e ao efeito sinérgico entre os membros da cultura microbiana, levando ao aumento da eficiência de biodegradação (CHENG *et al.*, 2017).

Cepas bacterianas pertencentes à gêneros *Arthrobacter*, *Flavobacterium*, *Micrococcus*, *Pseudomonas*, *Rhizobium* e *Sphingomonas* demonstraram capacidade de consumir pesticidas e usá-los como fonte de carbono, fonte de nitrogênio e fósforo. Por outro lado, os fungos relatados na biorremediação de agrotóxicos são *Phanerochaete chrysosporium*, *Pleurotus*

ostreatus, *Aspergillus niger*, *Fusarium proliferatum*, *Candida* sp., *Trametes versicolor*, *Cunninghamella elegans* e *Penicillium* sp, (BHATT *et al.*, 2021)

Várias abordagens de consórcios estabelecidos e testados são compostos por bactérias, bactéria com fungos e fungos com algas, sendo bactérias o grupo majoritário, e sabendo que fungos possuem características a serem ainda intensamente exploradas torna-se necessário investigar o desempenho desses microrganismos na redução ou remoção de compostos de difícil degradação como os pesticidas.

Assim sendo tem-se como pergunta de pesquisa:

- O quão diferente são os resultados de tratamento por biorremediação fúngica com uso de espécies isoladas ou consorciadas?

Para essa questão tem-se como hipótese que:

a) a capacidade de remoção de pesticida por fungos é potencializada quando duas ou mais espécies são associadas.

2 OBJETIVOS

Objetivo geral

Verificar a capacidade das espécies fúngicas *Aspergillus niger* AN 400, *Phanerochaete chrysosporium*, *Trametes versicolor* e *Pleurotus* sp. de crescer e degradar o herbicida paraquat em meio aquoso.

Objetivos específicos

- Verificar a tolerância das espécies de suportar seu crescimento na presença de concentrações variadas de paraquat;
- Comparar o comportamento das espécies na presença de paraquat quanto ao crescimento de forma isolada e consorciada;
- Verificar a eficiência de remoção do pesticida de meio aquoso por fungos atuando de forma isolada e consorciada, em reatores com biomassa dispersa sob agitação e, posteriormente, com biomassa imobilizada;
- Investigar a influência de cossustrato na melhora da remoção do pesticida de meio aquoso por fungos nos reatores propostos.

REFERÊNCIAS

- BHATT, P.; BHATT, K.; SHARMA, A.; ZHANG, W.; MISHRA, S.; CHEN, S. Biotechnological basis of microbial consortia for the removal of pesticides from the environment. **Critical Reviews in Biotechnology**, v. 41, n. 3, p. 317–38, 2021.
- CHENG, Z.; LI, C.; KENNES, C.; YE, J.; CHEN, D.; ZHANG, S.; CHEN, J.; YU, J. Improved biodegradation potential of chlorobenzene by a mixed fungal-bacterial consortium. **International Biodeterioration & Biodegradation**, v. 123, p. 276-285, 2017.
- GONZÁLEZ, C.; WU, Y.; ZULETA-CORREA, A.; JARAMILLO, G.; VASCO-CORREA, J. Biomass to value-added products using microbial consortia with white-rot fungi. **Bioresource Technology Reports**, v.16, 2021.
- IJOMA, G. N., TEKERE, M. Potential microbial applications of co-cultures involving ligninolytic fungi in the bioremediation of recalcitrant xenobiotic compounds. **International Journal of Environmental Science and Technology**, v.14, n.8, p. 1787–1806, 2017. Center for Environmental and Energy Research and Studies.
- MAQBOOL, Z.; HUSSAIN, S.; IMRAN, M.; MAHMOOD, F.; SHAHZAD, T.; AHMED, Z.; AZEEM, F.; MUZAMMIL, S. Perspectives of using fungi as bioresource for bioremediation of pesticides in the environment: A critical review. **Environmental Science and Pollution Research**, v. 23, n.17, p. 16904–16925, 2016.
- PADMAPERUMA, G.; KAPOORE, R.V.; GILMOUR, D.J.; VAIDYANATHAN, S. Microbial consortia: A critical look at microalgae co-cultures for enhanced biomanufacturing. **Critical Reviews in Biotechnology**, v. 38, n. 5, p. 690–703, 2018.
- ROSERO-CHASOY, G.; RODRÍGUEZ-JASSO, R.M.; AGUILAR, C.N.; BUTRÓN, G.; CHAIREZ, I.; RUIZ, H. A. Microbial co-culturing strategies for the production high value compounds, a reliable framework towards sustainable biorefinery implementation – an overview. **Bioresource Technology**, v. 321, 2021.

3 CAPÍTULO 1: POTENCIAL DE FUNGOS PARA BIORREMEDIAÇÃO DE PESTICIDAS: UMA REVISÃO SOBRE CEPAS ISOLADAS E CONSÓRCIOS

Capítulo preparado em formato de artigo e submetido à Revista Journal of Water Process Engineering. Qualis A2. ISSN 2214-7144

POTENCIAL DE FUNGOS PARA BIORREMEDIAÇÃO DE PESTICIDAS: UMA REVISÃO SOBRE CEPAS ISOLADAS E EM CONSÓRCIOS

RESUMO

A modernização da agricultura e o uso crescente de pesticidas são temas de destaque nas pesquisas sobre tratamento de poluentes persistentes e impulsionam a busca de alternativas consideradas ambientalmente mais vantajosas. Este trabalho consiste na seleção de artigos de pesquisa que exemplificam o estado da arte entre os anos 2016 e 2021 acerca das várias técnicas utilizadas para tratamento de solo e água contaminados por pesticidas, com ênfase em tratamento biológico realizados por fungos e consórcios destes microrganismos. As bases de dados Science Direct, Springer Link e Portal Periódico da Capes foram consultadas entre agosto e dezembro de 2021 nas quais foram feitas duas etapas de busca, cada uma com palavras-chaves diferentes totalizando 75 artigos, dos quais 30 trabalhos empíricos na primeira busca e 45 artigos na segunda e terceira buscas, após critérios de exclusão.

Palavras-chaves: Pesticida, biodegradação, microrganismo, consórcio fúngico, co-cultura, solo.

ABSTRACT

The modernization of agriculture and the increasing use of pesticides are prominent themes in research on the treatment of persistent pollutants and drive the search for alternatives considered to be more environmentally advantageous. This work consists of the selection of research articles that exemplify the state of the art between 2016 and 2021 about the various techniques used to treat soil and water contaminated by pesticides, with emphasis on biological treatment performed by fungi and consortia of these microorganisms. The Science Direct, Springer Link and Capes Periodical Portal databases were consulted between August and December 2021, in which two search steps were carried out, each with different keywords, totaling 75 articles, of which 30 empirical studies were carried out in the first search and 45 articles in the second and third searches, after exclusion criterion.

Keywords: Pesticide, biodegradation, microorganism, fungi consortium, co-culture, soil.

INTRODUÇÃO

O crescimento exponencial da população mundial a partir do século XXI promoveu uma produção de alimentos em ritmo acelerado e, para promover rendimento de culturas e abastecimento da demanda, a aplicação de pesticidas passou a ser realizada em larga escala (HUANG *et al.*, 2021).

Os pesticidas então consolidaram-se como ferramenta principal para assegurar a proteção contra perdas na produção ou destruição de culturas. Desta forma há uma disseminação de diferentes substâncias químicas desenvolvidas para atuar em um conjunto específico de pragas, mas que acabam sendo potencialmente danosas aos organismos não alvos incluindo a biota e o homem (MONTAGNER *et al.*, 2017).

Dentre os produtos químicos usados para proteger plantações, os pesticidas são os mais perigosos, por outro lado, por terem eficácia agrônômica e econômica altas são cada vez mais usados regularmente para controle de pragas. Contudo, sua não seletividade é uma ameaça potencial para plantas de cultivo economicamente importantes (PRUDNIKOVA *et al.*, 2021). Ainda assim, há perda de 45% da produção agrícola mundial anualmente, devido à propagação em grande escala do número de pragas (HUANG *et al.*, 2021).

Estima-se que em todo o mundo são utilizados, aproximadamente, 2 milhões de toneladas de pesticidas, dos quais 47,5% são herbicidas, 29,5% são inseticidas, 17,5% são fungicidas e 5,5% são outros pesticidas (SHARMA *et al.*, 2019). Os dez principais países consumidores de agrotóxicos no mundo são China, EUA, Argentina, Tailândia, Brasil, Itália, França, Canadá, Japão e Índia, nessa ordem. Além disso, estima-se que até o ano de 2020, o uso global de pesticidas aumentou para 3,5 milhões de toneladas. Com a necessidade de se alcançar uma produção sustentável, acompanhada de uma redução ou proibição do uso de agrotóxicos, cada país passou a legislar a respeito. Em nível mundial a Organização das Nações Unidas para Alimentação e Agricultura (FAO) e a Organização Mundial da Saúde (OMS) divulgaram um par de diretrizes sobre legislação de pesticidas e rotulagem. Um código para essa legislação foi publicado em 2020 para orientação de governos que atualizam e projetam suas legislações específicas (RAFFA *et al.*, 2021).

A biorremediação de pesticidas é uma abordagem ecológica para a degradação completa ou transformação de pesticidas em metabólitos não tóxicos usando agentes vivos como degradadores potenciais (SARKER *et al.*, 2021). Embora seja um fenômeno natural em terras agrícolas, esses processos são relativamente lentos em locais contaminados.

No estudo de Vagi *et al.* (2020) foram reunidos dados que mostravam que agrotóxicos identificados em matrizes ambientais diversas e em tecidos biológicos em concentrações de ng.L^{-1} a $\mu\text{g.L}^{-1}$ são considerados substâncias prioritárias pois, mesmo em níveis baixos, seu potencial de toxicidade é agudo e crônico e a maioria dessas substâncias são quimicamente estáveis e pertencem à classe de Poluentes Orgânicos Persistentes (POPs) cujas técnicas de tratamentos convencionais não são suficientes para removê-los aos níveis desejados.

Alguns critérios considerados importantes para realização de biodegradação podem ser resumidos em:

- Eficiência de custo – mais econômica que outras técnicas disponíveis para biodegradação;
- Estirpes corretas – adaptabilidade do microrganismo diretamente ligada à ocorrência do processo sem impedimento, enzimas presentes podem ser eficientes na degradação de um determinado pesticida e talvez não adequadas para degradar resíduo de um outro xenobiótico;
- Condições ambientais ideais – pH, temperatura, salinidade, disponibilidade de água. Bactérias e fungos que podem degradar pesticidas em ampla faixa de pH são preferidas, por exemplo;
- Presença de microrganismos – quantidade suficiente para agir sobre o composto alvo;
- Disponibilidade de nutrientes – nutrientes devem ser suficientes para sustentar o crescimento dos agentes de decomposição. Ajustes nas proporções C:N:P podem ser realizadas para alcance de velocidade maior nessa degradação. Fontes adicionais como sacarose, glicose, extratos de levedura podem reduzir o tempo de degradação;
- Toxicidade – provavelmente a concentração de um composto pode ser tolerada apenas até certo ponto;
- Estrutura de pesticidas – peso molecular, estrutura química e espacial e composição do pesticida são aspectos importantes para uma degradação mais rápida.

Vários gêneros bacterianos, como *Pseudomonas*, *Bacillus*, *Actinobacter*, *Acinetobacter*, *Burkholderia*, e *Klebsiella*, são eficazes para a biorremediação de agrotóxicos de diversas classes químicas, enquanto fungos, que são provavelmente o segundo grupo mais comum de organismos no planeta, em termos de biodiversidade, representam até 75% da

biomassa microbiana do solo e têm independência para usar poluentes como substrato de crescimento, sendo portanto bem adequados para biorremediação (LI *et al.*, 2019).

Os fungos são microrganismos eucarióticos presentes em diferentes ambientes e se adequam a quase todo tipo de habitat e, de forma sintrófica, desempenham papel de regulação de fluxo de nutrientes e energia (MOHAPATRA *et al.*, 2021). Fungos da podridão branca como *Phanerochaete chrysosporium*, *Pleurotus ostreatus* e *Trametes versicolor* têm a capacidade de degradar vários compostos tóxicos usando numerosos mecanismos oxidativos e redutores; outros como *Mucor alternans*, *Fusarium oxysporum*, *Tricoderma viride* e mais uma vez *Phanerochaete chrysosporium* são conhecidos há muito tempo pela capacidade de degradar agrotóxicos, como DDT (GAUR *et al.*, 2018), por exemplo.

Além de cepas individuais, algumas pesquisas ressaltam a importância de culturas fúngicas mistas feitas de várias populações exibindo cooperação catabólica sinérgica para a degradação de pesticidas (MAQBOOL *et al.*, 2016), no entanto há uma busca constante de casos que contemplem culturas mistas e consórcios de fungos da podridão branca, relatados como pouco explorados (IJOMA;TEKERE, 2017). A exploração do potencial de consórcios microbianos e seus mecanismos de comunicação célula a célula vêm sendo relatados como grande oportunidade de construção de consórcios também artificiais, pois criam novo microambiente que ativam vias metabólicas que talvez não fossem expressas sob cultivo em condições totalmente naturais (QIAN *et al.*, 2020).

Sendo assim esta revisão propõe sintetizar descobertas e resultados obtidos nos últimos seis anos no campo da biodegradação de pesticida utilizando fungos isolados e consorciados.

MATERIAIS E MÉTODOS

Para elaboração desta revisão bibliográfica foram selecionados artigos nas bases de dados Science Direct, Springer e no Portal de Periódicos da Capes cujas palavras chaves foram estabelecidas primeiramente pela busca de informações gerais acerca de tratamentos obtidos por biorremediação e seu estado atual e, posteriormente, por termos cujos conceitos foram mais limitados para compor características específicas do trabalho.

Para a triagem inicial, os dados relevantes foram coletados com base na existência de todos ou alguns dos termos no título do artigo, resumo e palavras-chave. Fez-se primeira busca com três palavras-chaves, sendo pesticidas, biodegradação e microrganismos; em uma

segunda busca, por 3 termos (consórcio fúngico, co-cultura e pesticida) e terceira busca por mais quatro termos (fungo, consórcio, solo, pesticida), para comparação de artigos encontrados, sendo excluídos os que apareceram repetidamente na segunda e terceira buscas. A seleção dos artigos ocorreu entre os meses de agosto e dezembro de 2021 e, como critério de inclusão, foram considerados os anos de publicação entre 2016 e 2021.

As publicações cujos títulos não estavam relacionados a aplicação de microrganismos em processos ambientais ou cujos termos não foram discutidos na seção de resultados foram descartados.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Após leitura dos resumos dos artigos ficaram como resultantes 30 selecionados após primeira triagem, cujas palavras-chaves tiveram intuito de apresentar a produção de conhecimento de quais pesticidas foram mais estudados em degradação biológica, a relevância deste tipo de tratamento e que microrganismos aparecem mais comumente. Posteriormente, diferentes palavras-chaves foram aplicadas nas segunda e terceira buscas para selecionar trabalhos com a abordagem de consórcios e de fungos, consorciados ou não, resultando em 45 artigos, ou seja, foram escolhidas palavras-chaves em três buscas distintas. A quantidade de artigos e palavras-chave selecionadas foram separados por bases de dados apresentados na Tabela 1, sendo obtidos, no total, 1417 artigos:

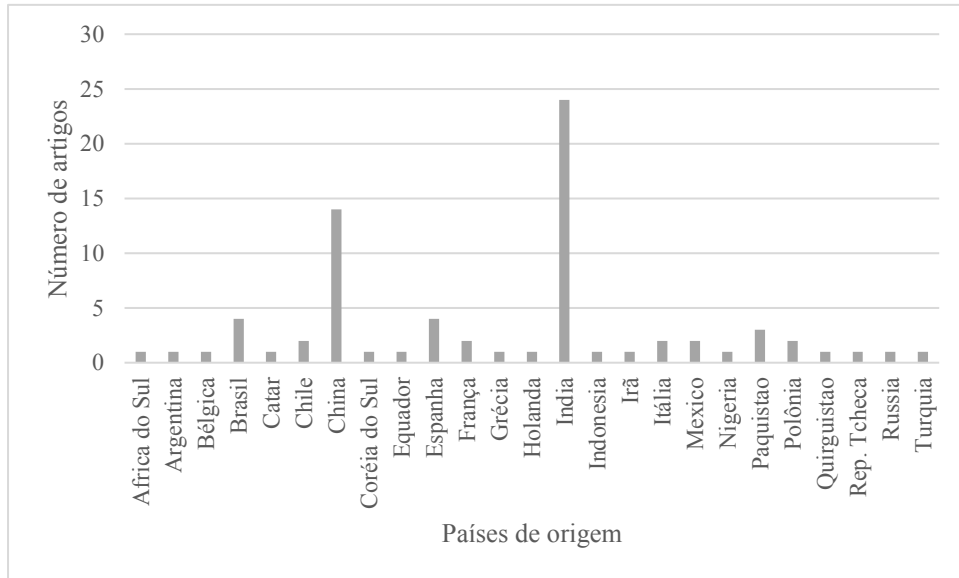
Tabela 1. Quantidade de artigos resultantes para cada sequência de palavras-chaves nas bases de dados.

Palavras-chaves	Science Direct	Springer	Capes
<i>Pesticide AND biodegradation AND microorganism</i>	543	-	-
<i>Fungi consortium AND co-culture AND pesticide</i>	592	59	-
<i>Fungi AND consortium AND soil AND pesticide</i>	168	8	47

Fonte: Autora (2024)

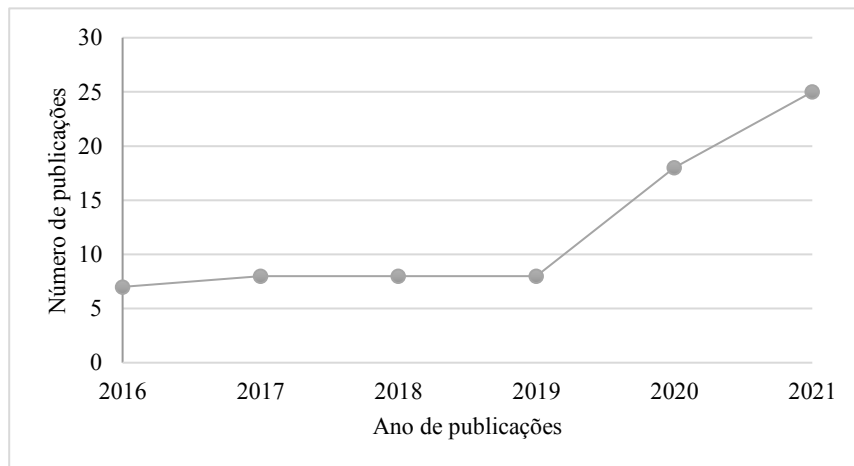
Das três buscas foram lidos 75 artigos integralmente e os mesmos foram agrupados por origem e ano (Figuras 1 e 2).

Figura 1. Origem dos artigos publicados que foram selecionados com base no intervalo de 2016 a 2021.



Fonte: Autora (2024)

Figura 2. Evolução do número de publicações por ano, a partir de 2016 até 2021.



Fonte: Autora (2024)

O destaque para China e Índia comprovam que, além da extensão dos dois territórios, ambos apresentam atividade agrícola fortemente representada pela rizicultura, dentre outras que demandam uso de agrotóxicos, ocupando extensas áreas setentrionais do continente asiático.

Pesticidas empregados

A depender da sua estrutura química, os pesticidas podem ser classificados em organoclorados, organofosforados, carbamatos, clorofenóis e piretróides sintéticos, e a depender do seu propósito são classificados em bactericidas, fungicidas, raticidas, moluscicidas, nematocidas, inseticidas e herbicidas (MARICAN; DURÁN-LARA, 2018). Os

mais perigosos ao meio ambiente pertencem ao grupo dos organoclorados, que são semivoláteis e podem volatilizar a partir do solo para a atmosfera e serem transportados para outros locais pelas correntes de ar (WOŁEJKO *et al.*, 2020).

Segundo Bose *et al.* (2021) os pesticidas podem ser agrupados da forma apresentada no Quadro 1.

Quadro 1. Classificação de pesticidas.

Classificação dos pesticidas	
Organoclorados	Compostos principalmente de carbono, cloro e hidrogênio. Do tipo lipofílico. Exemplos: diclorodifeniltricloroetano (DDT), lindano, aldrin, heptacloro e Endosulfan. Possuem alta toxicidade e se enquadram nas primeiras classes da classificação da Organização Mundial de Saúde.
Organofosforados	Solúveis em solventes orgânicos. Ex: metil paration
Carbamatos	Solúveis em água e termicamente bastante instáveis.
Piretróides	São relativamente menos persistentes e são suscetíveis à fotodegradação.
Biopesticidas	Extraídos de substâncias com a capacidade de agir como pesticidas. Altamente biodegradáveis e não são prejudiciais aos organismos.

Pesticidas obsoletos, como organoclorados, organofosfatos, carbamatos, piretróides e herbicidas de amplo espectro já foram banidos ou não recomendados para aplicação, assim como em meados de 2013 foi apontado que menos de 5% do total de pesticidas aplicados inibem pragas de modo prático, enquanto o restante, mais de 95%, não alcançam tais pragas e terminam por se depositarem e contaminarem solos e recursos hídricos (SARKER *et al.*, 2021).

Em 2020, 261 herbicidas foram classificados em 25 grupos, de acordo com o Comitê de Ação de Resistência a Herbicida, com base nas proteínas inibidas ou similaridade de sintomas induzidos (PILEGGI *et al.*, 2020). A ameaça associada a composto de difícil degradação e alta persistência no meio ambiente está diretamente ligada à recalcitrância dessas substâncias, dentre elas metais pesados, polímeros e corantes sintéticos,

hidrocarbonetos sejam aromáticos policíclicos, sulfonatos, nitroaromáticos e policlorados, além dos próprios pesticidas (IJOMA; TEKERE, 2017).

A Organização Mundial de Saúde (OMS) e Organização das Nações Unidas para a Alimentação e Agricultura (FAO) estabeleceram diretrizes atualizadas sobre legislação e rotulagem e pesticidas com o objetivo de orientar os governos que procuram revisar, atualizar ou projetar a legislação nacional de pesticidas (RAFFA *et al.*, 2021).

Uma síntese de algumas legislações internacionais importantes é apresentada no Quadro 2:

Quadro 2. Legislações sobre uso de pesticidas em alguns países.

União Europeia	Rege o uso pela Diretiva 2009 / 128 EC e Regulamento (EC) nº 1107 / 2009 que aprova e autoriza comercialização e uso. A Instituição avaliadora de substâncias ativas - Autoridade Europeia para a Segurança Alimentar (EFSA). Planos de Ações Nacionais incluem objetivos, quantitativos, metas, medidas e calendários revistos de 5 em 5 anos. 1º Plano comunicado em 2012. Em 2017 todos estados membros tinham plano em vigor.

Estados Unidos da América	Departamento de Agricultura dos Estados Unidos (USDA) – aplica a tolerância a pesticidas, principalmente em carnes, aves e produtos derivados de ovos; Food and Drug Administration (FDA) – aplica tolerância em outras categorias, sejam nacionais ou importadas. Agência de Proteção Ambiental dos EUA (EPA) – registra, aprova uso, estabelece quantidades máximas residuais no alimento. EPA regula o uso por dois estatutos federais: (1). Lei de Inseticidas, Fungicidas e Rodenticidas (FIFRA), promulgada em 1947 e atualizada. (2). Lei Federal de Alimentos, Medicamentos e Cosméticos (FD&C). Estabelece tolerâncias ou níveis seguros de resíduos de pesticidas em commodities agrícolas brutas. Agências estaduais trabalham em cooperação com EPA, mas aplicam regulamentações mais rígidas.
Índia	Ministério da Agricultura, Departamento de Agricultura e Cooperação – em 1968 estabeleceu 1ª lei no setor de inseticidas. Desde 1971 regula venda, transporte, importação, fabricação e uso de pesticidas persistentes. Conselho Central de Inseticidas (CIB) e Comitê de Registro (RC) – revisões periódicas, autorizações de uso e autoridade de proibição de uso mesmo após registro do pesticida.
China	Ministério da Agricultura – aplica a lei sobre Qualidade e Segurança de Produtos Agropecuários e o Regulamento de Controle de Agroquímicos. Padrão Nacional de Segurança Alimentar foi aprovado em 2012. Versão atualizada em fevereiro de 2021.
Japão	Regulamentação pela Lei Básica de Segurança Alimentar promulgada em 2003. Define limites máximos de concentração aceitável de pesticidas residuais.

A grande resistência destes compostos se deve às propriedades físico-químicas. Cada pesticida é caracterizado por uma meia-vida que depende de condições do ambiente como umidade, temperatura e tipo de solo. Alguns podem ter tempo de meia-vida menos que 30 dias, sendo classificados como não persistentes, e outros podem ter tempo de meia-vida

superior a 100 dias, sendo chamados de persistentes, porém mesmo os não persistentes são perigosos pois seus produtos de degradação podem apresentar comportamento diferente do composto original (WOŁEJKO *et al.*, 2020).

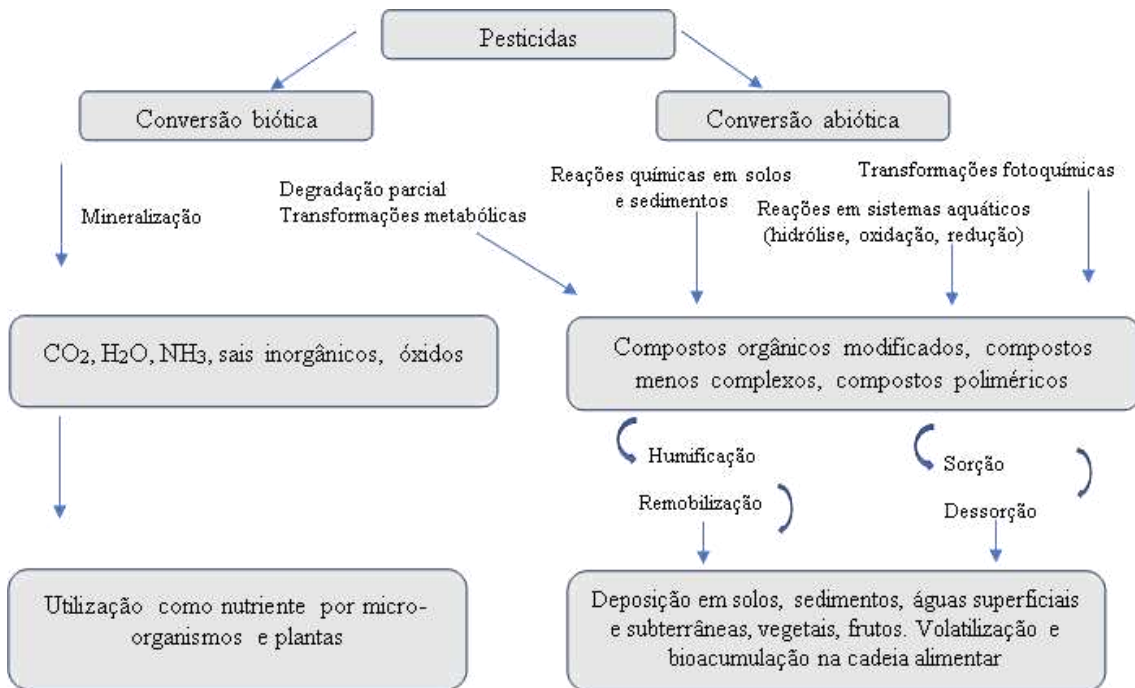
Estudos que tratam organoclorados se apresentam em maior quantidade se comparados a organofosforados (VAGI *et al.*, 2020). Organofosforados são moléculas menos estáveis em comparação com organoclorados porque sofrem decomposição química e microbiana através de muitas vias de degradação.

Em um estudo de tratamento aplicando consórcio bacteriano, Kumari *et al.* (2020) avaliaram concentração de 50 ppm do inseticida organoclorado lindano que após 120 horas foi degradado por bactérias (*Paenibacillus sp.*), algas (*Scenedesmus sp.*) e um consórcio de ambos microrganismos. Os autores afirmaram que em seus resultados que tanto cepas bacterianas quanto de algas têm potencial para degradar o pesticida, mas que não é eficiente quando individualmente. Igualmente, foi afirmado neste trabalho que embora muitas pesquisas relatem degradação de lindano por bactérias ou algas, este foi o primeiro relato de co-culturas destes microrganismos com este tipo de poluente.

Um estudo de biodegradação do inseticida malation em concentrações de 25 a 200 mg.L⁻¹ foi realizado por Geed *et al.* (2016). A biodegradação foi realizada em meio aquoso por culturas de bactérias isoladas: *Pseudomonas putida*, *Rhodococcus rhodochrous* e *Spingomonas sp.* na qual a melhor remoção constatada foi de 72% do inseticida em concentração de 125 mg.L⁻¹. A conversão do pesticida em seus três metabólitos confirmaram trabalhos anteriores que apontam a aplicação prática de cepas bacterianas para remediação de ambientes contaminados por malation. A pesquisa ressaltou a importância de modelos cinéticos que incluam substrato, crescimento bacteriano e decomposição, pois ainda não há relatos sobre cinética de degradação para este inseticida.

Pesticidas hidrofóbicos são frequentemente adsorvidos por partículas do solo e pela matéria orgânica, enquanto pesticidas solúveis em água atingem além da superfície as camadas profundas do solo através de percolação e escoamento, visto que muitos países em todo o mundo detectam este tipo de contaminação tanto em águas superficiais quanto subterrâneas (MAQBOOL *et al.*, 2016). De forma geral, as frações passíveis de decomposição seguem um esquema conforme Figura 3:

Figura 3: Percurso de pesticidas no meio ambiente.



Fonte: Adaptado de (DAR *et al.*, 2019)

Biorremediação

A biorremediação é um processo ecológico e sustentável que promove a retirada ou diminuição de poluentes do meio ambiente sem comprometer ou perturbar os processos biológicos normais associados a ele (GAUR *et al.*, 2018), no qual ocorre a transformação compostos de alta toxicidade em produtos menos tóxicos após triagem, enriquecimento e cultivo de cepas com características de degradação (HUANG *et al.*, 2019). Este processo pode ainda ser significativamente acelerado pela aplicação de microrganismos geneticamente modificados (SARKER *et al.*, 2021).

Os principais agentes biológicos envolvidos na biorremediação são bactérias e fungos que usam contaminantes como fonte de energia, sendo o processo influenciado pela diversidade microbiana local, natureza do poluente e propriedades do solo como pH, temperatura, teor de umidade, teor nutricional e potencial oxidação-redução (MORILLO; VILLAYERDE, 2017). A investigação de mecanismos microbianos para decomposição e degradação é importante para otimização do processo, cuja utilização é vantajosa do ponto de vista de custo. Além disso, fornecem embasamento que permite avanços nos tipos de abordagem biológica, com intuito de reduzir a poluição no meio ambiente (IJOMA; TEKERE, 2017), buscando-se a degradação completa do composto poluidor, a qual é geralmente

alcançada mais rapidamente devido à cooperação de microrganismos (PRUDNIKOVA *et al.*, 2021). Esses estudos que apresentam implantações de tecnologias de biorremediação são desenvolvidos em escala laboratorial e seus resultados subsidiam a implementação do processo em escalas maiores que conduzirão ao uso de estações de tratamento em que essas tecnologias possam ser acopladas (MARICAN; DURÁN-LARA, 2018).

A ação dos fungos na remediação de poluentes é denominada micorremediação. Através de mecanismos como bioissorção e biotransformação, esses microrganismos conseguem degradar e/ou remover significativamente poluentes como metais pesados, pesticidas, poluentes orgânicos persistentes e outros compostos emergentes (KUMAR *et al.*, 2021). Além disso, a degradação fúngica desses compostos apresenta vantagens únicas, geralmente relacionadas à tolerância às altas concentrações do poluente (HUANG *et al.*, 2021), sendo mais tolerantes a níveis mais elevados de contaminação que bactérias (KUMAR *et al.*, 2021).

Os denominados fungos da podridão branca são capazes de degradar a substância de maior recalcitrância dentre polímeros naturais, a lignina (IJOMA; TEKERE, 2017). Podem ser destacados cinco componentes importantes para o aproveitamento dos benefícios de enzimas no processo de mico-remediação, que são a) identificação de enzima desejada que degrada ou reduz toxicidade; b) rastreamento da propriedade principal da enzima; c) obtenção de grande produção; d) avaliação de campo da enzima visando estabilidade e eficácia que pode ser influenciada por pH e temperatura; e) produção comercial para uso bem sucedido (KUMAR *et al.*, 2021).

Várias reações metabólicas catalisadas por enzimas ocorrem durante um processo de biodegradação de pesticida, como hidrólise, oxidação, adição de oxigênio à ligação dupla, redução de grupo amino para grupo nitro, substituição de enxofre por oxigênio, adição de hidroxilas ao anel benzênico, dentre outras (GAUR *et al.*, 2018). As informações sobre cepas capazes de mineralizar pesticidas ainda são limitadas sobretudo no que diz respeito aos metabólitos produzidos durante a biodegradação fúngica, contudo uma solução apontada seria a aplicação de consórcios microbianos incluindo ambos fungos e cepas bacterianas (MAQBOOL *et al.*, 2016).

A remediação biológica de ambientes contaminados por pesticidas já foi estudada em ambientes como solos e aquíferos e a atenuação natural pode ser limitada em águas subterrâneas por serem um ambiente oligotrófico anaeróbico que pode restringir a atividade microbiana quanto maior a profundidade. Assim a biorremediação tradicional se utiliza de estratégias como adição de nitrato e substratos de carbono (ALDAS-VARGAS *et al.*, 2021).

Importante ressaltar que em cenários que apontam para aumento de temperatura e demais mudanças climáticas espera-se uma alteração nas funções ecossistêmicas, o que afeta diretamente os fungos, ao modificar seu crescimento, reprodução, distribuição geográfica e seu habitat como um todo (KUMAR *et al.*, 2021). Dados acerca de produção de esporos de fungos e condições de estresse no meio no qual os microrganismos se encontram precisarão estar alinhados com informações múltiplas sinalizadoras de mudanças tais como radiação UV, temperatura, seca, deposição de gás carbônico, nitrogênio e ozônio, por exemplo.

Microrganismos isolados e consorciados

Consórcios microbianos e sua aplicação inspiram pesquisadores a estender a biologia de comunicação de células individuais para construção de sistemas de cultura mista que resulta em um metabolismo não expresso em condições da biologia tradicional (QIAN *et al.*, 2020). O consórcio fúngico é uma alternativa de incrementar o processo de degradação e, no caso de pesticidas, existem estudos que relatam a importância da mistura de populações que exibem uma cooperação catabólica sinérgica para a degradação (MAQBOOL *et al.*, 2016). O uso de co-culturas tem sido objeto de pesquisa por ser apontado como método vantajoso ao combinar diferentes fungos que se complementam no mecanismo de degradação, e além de melhoria nas condições de resistência dos microrganismos, a sinergia resultante de parceria entre eles também colabora para melhor uso do substrato (IJOMA; TEKERE, 2017).

Dados do Escritório de Patente Europeu e da Classificação Internacional de Patentes apresentam os principais agentes efetivos de biorremediação de poluentes orgânicos que incluem bactérias (57%), enzimas (19%), fungos (13%), algas (6%) e plantas (4%), enquanto o uso de consórcio de bactérias e fungos é a última tendência em eficácia de tecnologia (ZABOROWSKA *et al.*, 2019). Quando ocorre degradação de compostos como pesticidas, muitos microrganismos estão envolvidos nos processos que modificam a estrutura química de um composto, o que implica na diminuição da sua toxicidade. Essa degradação, geralmente envolve mais de uma espécie e, de acordo com Doolotkeldieva *et al.* (2018) nenhum exemplo de mineralização foi descrito por uma única cepa.

No intuito de alcançar maior eficiência de degradação torna-se importante estudar a relação entre membros de um consórcio e sua adaptabilidade a ambientes diversos, dando ênfase a cepas que podem tolerar condições adversas no solo como mudanças de temperatura, salinidade, pH e disponibilidade de nutrientes (HUANG *et al.*, 2019). Reporta-se que um único tipo de microrganismo pode ser eficaz na biorremediação, assim como um consórcio misto pode ser usado para degradar um pesticida químico específico (SARKER *et al.*, 2021). Avanços em consórcios microbianos são reportados na literatura recente como promissores devido ao efeito combinado e indutivo de diversas enzimas participantes no processo de degradação de poluentes como benzopireno, hidrocarbonetos poliaromáticos e pesticidas (PURNOMO *et al.*, 2020).

Na Tabela 2 são apresentadas as principais espécies de bactérias e fungos envolvidas na biorremediação de pesticidas, com base na seleção de artigos realizada, assim como tipo de pesticida e se o processo foi por espécie única ou consorciada.

Tabela 2. Principais espécies de bactérias e fungos envolvidos na biorremediação de pesticidas, com base nos artigos selecionados entre os anos 2016 a 2021.

Espécie	Remoção do pesticida empregado	Tipo de biorremediação	Autores (ano)
<i>Pseudomonas fluorescens</i>	94% de Aldrin	Consórcio bacteriano	Bose <i>et al.</i> (2021)
<i>Ganoderma lucidum</i>	75.5% de Lindano	Cultura pura fúngica	Bose <i>et al.</i> (2021)
<i>Agrobacterium tumefaciens</i> , <i>Cellulosimicrobium funkei</i> , <i>Shinella zoogloeoides</i> , <i>Bacillus aryabhatai</i> <i>Aspergillus sydowii</i>	100% de Clorpirifó	Consórcio bacteriano	Unival <i>et al.</i> (2021)
<i>Pseudanabaena sp</i>	80% de Metil paration e 52% de Profenofos	Cultura pura fúngica	Soares <i>et al.</i> (2021)
	98% de Cipermetrina e 99% de Deltametrina	Cultura pura bacteriana	Bano <i>et al.</i> (2021)
<i>Leptolyngbya sp.</i>	82% de Cipermetrina e 97.8% de Deltametrina	Cultura pura bacteriana	Bano <i>et al.</i> (2021)
<i>Aspergillus niger</i> MK640786	82% de Diazinon	Cultura pura fúngica	Kumar <i>et al.</i> (2021)
<i>Trametes versicolor</i>	> 90% de Clorpirifó	Cultura pura fúngica	Sarker <i>et al.</i> (2021)
<i>Paenibacillus sp</i>	61% de Lindano	Cultura bacteriana	Kumari <i>et al.</i> (2020)
<i>Scenedesmus sp</i>	68% de Lindano	Cultura de alga	

<i>Paenibacillus sp. ISTP10 e Scenedesmus sp</i>	100% de Lindano	Consórcio misto (bactéria+alga)	
<i>Comamonas odontotermitis P2</i>	90% de Glifosato	Cultura pura bacteriana	Firdous <i>et al.</i> (2020)
Cultura mista	30-60% de glifosato	Cultura mista (lodo aclimatado)	Feng <i>et al.</i> (2020)
<i>Bjerkandera adusta</i>	>92% de atrazina	Cultura pura fúngica	Dhiman <i>et al.</i> (2020)
<i>Fomitopsis pinicola</i>	42% de DDT	Cultura pura fúngica	Purnomo <i>et al.</i> (2020)
<i>Ralstonia pickettii</i>	31% de DDT	Cultura pura bacteriana	
<i>F. pinicola e R. pickettii</i>	61% de DDT	Consórcio misto (bactéria+fungo)	
<i>Pseudomonas nitroreducens AR-3</i>	97% de Clorpirifó	Cultura pura bacteriana	Aswathi <i>et al.</i> (2019)
<i>Bacillus cereus MCAS 02</i>	89% de Clorpirifó	Cultura pura bacteriana	Duraysami <i>et al.</i> (2018)
Não informado	81.6% de Diuron	Consórcio bacteriano	Villaverde <i>et al.</i> (2018)
<i>Bacillus</i>	>90% de mistura de Atrazina, Malation e Paration	Cultura pura bacteriana	Geed <i>et al.</i> (2017)
<i>Pseudomonas putida</i>	72% de Malation [125 mg.L ⁻¹]	Cultura pura bacteriana	Geed <i>et al.</i> (2016)
<i>Rhodococcus rhodochrous</i>	70% de Malation [125 mg.L ⁻¹]	Cultura pura bacteriana	
<i>Sphingomonas sp.</i>	64% de Malation [100 mg.L ⁻¹]	Cultura pura bacteriana	
Streptomyces spp. AC5, AC9, GA11 and ISP13	32 a 74% de Clorpirifós	Cultura mista bacteriana	Briceno <i>et al.</i> (2016)

Fonte: Autora (2024)

Em estudo conduzido por Góngora-Echeverría *et al.* (2020) foi comparada a capacidade de cepas bacterianas puras e consorciadas isoladas de uma biomistura solo-palha (1:1) para biorremediação de efluente contendo cinco tipos de pesticidas, dos quais obtiveram mais de 90% de tratamento por consórcio a atrazina, carbofurano e glifosato, enquanto 2,4-D e diazinon foram os mais persistentes. Nestes consórcios *Pseudomonas nitroreducens* foi a espécie mais abundante e quando foi utilizado apenas cepas puras os pesticidas foram mais resistentes ao tratamento, com exceção da atrazina e carbofurano. Estes dados demonstram o quanto pode ser interessante a ação microbiana em consórcio no processo de biorremediação de pesticidas, uma vez que o poluente pode se tornar mais acessível ao microrganismo.

Os pesticidas estudados por Góngora-Echeverría *et al.* (2020) pertenciam a classe dos carbamatos, triazinas, organofosfatos e organofosforados amplamente utilizado no México. Os autores alegaram a falta de conhecimento dos microrganismos envolvidos na biodegradação com uso de biobeds, portanto avaliaram o potencial desse tipo de sistema, que no período de 15 dias alcançou quase 80% de degradação. *Biobed* consiste em uma trincheira no solo preenchido com uma biomistura, que é uma mistura de turfa (25%), trigo palha (50%) e solo agrícola (25%), e coberto por capim, projetado para descartar resíduos de agrotóxicos (DIAS *et al.*, 2020). O sistema aplicado mostrou que bactérias estão presentes no processo de biodegradação dessa biotecnologia que permite acompanhamento em condições reais, portanto uma forma de aplicação *in situ* viável.

O tipo de pesticida e a interação com o consórcio foram altamente relevantes e o tempo de tratamento foi considerado a variável mais significativa. De forma geral o consórcio microbiano foi eficiente e os resultados podem estar atribuído ao fato de diferentes microrganismos como bactérias, arqueobactérias e fungos apresentarem população maior em comparação com cepas isoladas.

Outro pesticida comumente utilizado em escala mundial na agricultura e silvicultura é o glifosato, herbicida do grupo fosfonato e de rápida degradação. Korkmaz *et al.* (2021) avaliaram em seu trabalho a capacidade de biorremediação pelas bactérias isoladas *Bacillus aryabhatai*, *Pseudomonas azotoformans* e *Sphingomonas pseudosanguinis*, assim como seus consórcios. Dentre os parâmetros analisados, a demanda química de oxigênio por *S. pseudosanguinis* alcançou redução de 92,1% em 11 dias enquanto a taxa de carbono total foi de 69,1% pelo uso de consórcio.

O glifosato é um importante herbicida do grupo dos organofosfatos usado para eliminar gramíneas e plantas herbáceas em muitas situações de manejo da vegetação. Uma nova cepa bacteriana *Comamonas odontotermitis* P2, capaz de utilizar o glifosato como carbono (C) e/ou fósforo (P), foi isolado de um solo de campo contaminado com glifosato na Austrália e caracterizado por metodologia de superfície de resposta. Neste estudo realizado por Firdous *et al.* (2020), a cepa *C. odontotermitis* P2 foi proficiente em degradar 1,5 g por litro de glifosato completamente em 104 horas. As condições ideais para a degradação foram pH 7,4, temperatura de 29,9 °C e densidade de inóculo de 0,54 g L⁻¹, resultando em uma degradação máxima de 90% empregando um delineamento composto central fatorial.

Processos de aclimação igualmente foram considerados como alternativas de degradação de pesticida, como o glifosato conforme investigação de Feng *et al.* (2020), cujo trabalho com reator em batelada confirmaram maior eficiência de remoção em lodo aclimatado se comparado a um lodo fresco. De acordo com Vázquez *et al.*, (2021) o glifosato é o herbicida mais utilizado e mais questionado atualmente. Ele constitui o ingrediente ativo de mais de 750 diferentes herbicidas de amplo espectro utilizados em todo o mundo e a tolerância desenvolvida por alguns vegetais pode ser explicada por um incremento exponencial no uso de herbicidas contendo glifosato nos últimos anos, pois desde meados da década de 1990, ocorreram mudanças significativas em quando e como este herbicida é aplicado, com aumento no volume total aplicado.

Outro composto tóxico de aplicabilidade eficaz há mais de 40 anos em cerca de 80 países é a atrazina, cujo uso excessivo causa deterioração generalizada do ecossistema, portanto mais uma potente ameaça ambiental. A biodegradação dessa substância foi testada com o basidiomiceto *Bjerkandera adusta* que foi considerado microrganismo de alta potencialidade com remoção de 92% em concentrações de atrazina variadas de 25 a 100 ppm (DHIMAN *et al.*, 2020). Os autores concluíram que seus resultados são úteis para compreensão e previsão do comportamento de *B. adusta* na biopurificação de águas residuais contaminadas por xenobióticos. Em geral águas residuais da produção de pesticidas, de acordo com a literatura, apresentam concentração deste poluente que varia entre 350 e 33.750 mg.L⁻¹, enquanto a demanda biológica de oxigênio varia entre 30 e 11.590 mg.L⁻¹, e as quantidades de pesticidas em várias fontes de água variam entre 0,1 e 107 mg.L⁻¹ (SALEH *et al.*, 2020).

Uniyal *et al.* (2021) avaliaram a remoção de clorpirifó em solo real e constataram a maior eficiência ao utilizar consórcio bacteriano composto por *Agrobacterium tumefaciens*, *Cellulosimicrobium funkei*, *Shinella zoogloeoides* e *Bacillus aryabhatai* quando comparado às cepas puras. Ao aplicarem planejamento fatorial os autores apresentaram singularidade em seu estudo, cujo aumento do consórcio envolvido sugeriu compatibilidade de cultura aumentada com a microbiota local. A perspectiva levantada endossa que desenvolvimento de consórcios representam ferramenta biotecnológica propícia para biorremediação de poluentes em solos contaminados.

Em pesquisa conduzida por Aswathi *et al.* (2019) *Pseudomonas nitroreducens* AR-3 isolada de solo agrícola contaminado com pesticidas removeu 97% de clorpirifós (CP) em apenas 8 h, em meio de sal mineral contendo glicose (1,0 g.L⁻¹) e extrato de levedura (0,5 g.L⁻¹) a 30°C e 2% (v/v) de inóculo com pesticida na concentração de 100 mg.L⁻¹. O 3, 5, 6-tricloro 2 piridinol (TCP), o produto de degradação do CP foi detectado apenas em níveis baixos, indicando sua posterior degradação. Foi considerada a cepa de maior taxa de degradação entre as *Pseudomonas*.

Em um estudo conduzido por Soares *et al.* (2021) foram avaliados clorpirifós, metil paration e profenofos com uso de cepas marinhas dos fungos *Penicillium raistrickii*, *Penicillium decaturense* e *Aspergillus sydowii*. Todas as cepas avaliadas tiveram crescimento satisfatório que decresceu conforme aumento das concentrações dos xenobióticos em questão. A espécie *Aspergillus sydowii* cresceu por toda placa no período de sete dias e foi escolhida para testes posteriores em meio aquoso, com destaque para degradação dos metabólitos mais tóxicos de metil paration. Em relação a profenofós, a mesma espécie biodegradou pentaclorofenol, um pesticida organoclorado de extrema resistência à degradação.

Metil paration também foi analisado por Rong *et al.* (2019) em cujo trabalho a biodegradação se deu por hidrólise facilitada do pesticida devido a uma argila mineral capaz de estimular atividade metabólica de *Pseudomonas sp. Z1*. Na concentração de 20 mg.L⁻¹ houve diminuição de 98,6% de metil paration após 10 horas de degradação. A adesão crescente das bactérias à superfície do mineral esteve diretamente relacionada ao aumento da degradação do pesticida. Os autores destacaram que muitos estudos se concentram na relação entre bactéria e mineral, mas não investigam previsões do comportamento dos microrganismos degradantes em solos e sedimentos, portanto concluem que futuras investigações incluam relações interfaciais.

Alguns pesticidas apesar de considerados relativamente seguros em termos de efeitos a longo prazo, são tóxicos para peixes e invertebrados aquáticos, como os pesticidas estrobilurínicos, o que justifica preocupação com a destinação final após aplicação. Birolli *et al.* (2020) ao avaliarem biodegradação do fungicida piraclostrobina com consórcio de bactérias *Paenibacillus alvei* e *Bacillus sp.* extraídas de uma plantação de laranjas, concluíram que apenas algumas seleções de cepas foram melhores comparadas ao tratamento de solo com *Bacillus* como única cepa. Neste trabalho a concentração inicial do pesticida foi o principal

fator de degradação, e a inoculação de outra espécie em solo favoreceu a microbiota nativa e consequentemente a biodegradação.

CONCLUSÃO

Os resultados positivos em biorremediação comprovam que os microrganismos têm a capacidade de acumular e degradar poluentes orgânicos melhorando a qualidade do solo e da água. No entanto, dependendo do tipo de contaminantes, diferentes mecanismos de degradação serão realizados pela comunidade microbiana. Embora a eficiência para a biodegradação e biorremediação de poluentes ambientais usando cepas isoladas seja baixa e restrita, cada vez mais atenção tem sido voltada para a microbiota de consórcios, uma vez que a sua multifuncionalidade é característica inerente, robusta e adaptável.

Algumas semelhanças apontadas nos trabalhos citados sugerem uma triagem de novas espécies de fungos e consórcios microbianos para biodegradação de contaminantes tendo maior adaptação a situação ecológica para melhorar as aplicações de biorremediação, competitividade e praticidade, assim como as interações complexas entre consórcios baseados em fungos e bactérias com perspectivas químicas e biológicas que necessitam de melhores investigações.

Como as diversas condições como pH, temperatura, umidade, concentração e biodisponibilidade do contaminante interferem na eficiência da degradação e no potencial metabólico, as técnicas disponíveis precisam considerar tais condições para um crescimento ótimo microbiano. Como muitos dos locais contaminados por pesticidas geralmente contêm misturas complexas em vez de um único contaminante, toda essa dinâmica pode se tornar um processo complicado para culturas puras. Nesse sentido os consórcios apresentam maior potencial para degradação de pesticidas, pois a vida em consórcio contribui com a sobrevivência, e aumenta as vias catabólicas.

Por fim a necessidade urgente é focar no desempenho da mico-remediação sob o cenário ambiental de mudanças climáticas, pois na ausência da conjuntura atual, é muito difícil entender a longevidade de tratamento de mico-remediação em nível de campo. Já é sabido e difundido o papel que bactérias desempenham em processos de degradação, contudo, fungos como segundo grupo de potenciais degradadores merecem uma investigação maior, visto que sua capacidade de consumir pesticida como fonte de carbono e nitrogênio, por

exemplo, existe mas é apresentada como escassa de acordo com o levantamento dos trabalhos selecionados.

REFERÊNCIAS

ALDAS-VARGAS, A., VAN DER VOOREN, T., RIJNAARTS, H. H. M.; SUTTON, N. B. Biostimulation is a valuable tool to assess pesticide biodegradation capacity of groundwater microorganisms. **Chemosphere**, v. 280, 2021.

ASWATHI, A.; PANDEY, A.; SUKUMARAN, R. K. Rapid degradation of the organophosphate pesticide – Chlorpyrifos by a novel strain of *Pseudomonas nitroreducens* AR-3. **Bioresource Technology**, v. 292, 2019.

BANO, S.; BURHAN, Z.; NADIR, M.; AHMED, A.; RASOOL, S. G.; SIDDIQUI, P. J. A.; RASHEED, M. Removal efficiency of marine filamentous Cyanobacteria for Pyrethroids and their effects on the biochemical parameters and growth. [Algal Res. 60 (2021) 102546]. **Algal Research**, v. 61, 2022.

BIROLI, W. G.; SILVA, B. F.; RODRIGUES-FILHO, E. Biodegradation of the fungicide Pyraclostrobin by bacteria from orange cultivation plots. **Science of the Total Environment**, v.746, 2020.

BOSE, S., KUMAR, P. S., VO, D. V. N., RAJAMOHAN, N., SARAVANAN, R. Microbial degradation of recalcitrant pesticides: a review. **Environmental Chemistry Letters**, v.19, n.4, p. 3209–3228, 2021.

BRICEÑO, G.; SCHALCHLI, H.; MUTIS, A.; BENIMELI, C. S.; PALMA, G.; TORTELLA, G. R.; DIEZ, M.C. Use of pure and mixed culture of diazinon-degrading *Streptomyces* to remove other organophosphorus pesticides. **International Biodeterioration and Biodegradation**, v. 114, p. 193-201, 2016.

DAR, M. A.; KAUSHIK, G.; VILLARREAL-CHIUI, J. F. Pollution status and bioremediation of chlorpyrifos in environmental matrices by the application of bacterial communities: A review. **Journal of Environmental Management**, v. 239, p. 124–136, 2019.

DHIMAN, N.; JASROTIA, T.; SHARMA, P.; NEGI, S.; HAUDHARY, S.; KUMAR, R.; MAHNASHI, M. H.; UMAR, A.; KUMAR, R. Immobilization interaction between xenobiotic and *Bjerkandera adusta* for the biodegradation of atrazine. **Chemosphere**, v. 257, 2020.

DIAS, L.A.; GEBLER, L.; NIEMEYER, J. C.; ITAKO, A. T. Destination of pesticide residues on biobeds: State of the art and future perspectives in Latin America. **Chemosphere**, v. 248, 2020.

DOOLOTKELDIEVA, T.; KONURBAEVA, M.; BOBUSHEVA, S. Microbial communities in pesticide-contaminated soils in Kyrgyzstan and bioremediation possibilities. **Environmental Science and Pollution Research**, v. 25, n. 32, p. 31848–31862, 2018.

DURASAMY, K.; MUTHUSAMY, S.; BALAKRISHNAN, S. An eco-friendly detoxification of chlorpyrifos by *Bacillus cereus* MCAS02 isolate from agricultural soil, Namakkal, Tamil Nadu, India. **Biocatalysis and Agricultural Biotechnology**, v.13, 2018.

FENG, D.; MALLERET, L.; CHIAVASSA, G.; BOUTIN, O.; SORIC, A. Biodegradation capabilities of acclimated activated sludge towards glyphosate: Experimental study and kinetic modeling. **Biochemical Engineering Journal**, v. 161, 107643, 2020.

FIRDOUS, S.; IQBAL, S.; ANWAR, S. Optimization and modeling of glyphosate biodegradation by a novel *Comamonas odontotermitis* P2 through response surface methodology. **Pedosphere**, v. 30, n.5, p. 618–627, 2020.

GAUR, N.; NARASIMHULU, K.; Y, P. Recent advances in the bio-remediation of persistent organic pollutants and its effect on environment. **Journal of Cleaner Production**, v. 198, p. 1602–1631, 2018.

GEED, S. R.; KUREEL, M. K.; SHUKLA, A. K.; SINGH, R. S.; RAI, B. N. Biodegradation of malathion and evaluation of kinetic parameters using three bacterial species. **Resource-Efficient Technologies**, v. 2, 2016.

GEED, S.R.; SHRIRAME, B.S.; SINGH, R. S.; RAI, B. N. Assessment of pesticides removal using two-stage Integrated Aerobic Treatment Plant (IATP) by *Bacillus* sp. isolated from agricultural field. **Bioresource Technology**, v. 242, p. 45-54, 2017.

GÓNGORA-ECHEVERRÍA, V. R.; GARCÍA-ESCALANTE, R.; ROJAS-HERRERA, R.; GIÁCOMAN-VALLEJOS, G.; PONCE-CABALLERO, C. Pesticide bioremediation in liquid media using a microbial consortium and bacteria-pure strains isolated from a biomixture used in agricultural areas. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 200, 2020.

HUANG, Y.; ZHAN, H.; BHATT, P.; CHEN, S. Paraquat degradation from contaminated environments: Current achievements and perspectives. **Frontiers in Microbiology**, v. 10, p. 1–9, 2019.

HUANG, Y.; ZHANG, W.; PANG, S.; CHEN, J.; BHATT, P.; MISHRA, S.; CHEN, S. Insights into the microbial degradation and catalytic mechanisms of chlorpyrifos. **Environmental Research**, v. 194, 2021.

IJOMA, G. N., TEKERE, M. Potential microbial applications of co-cultures involving ligninolytic fungi in the bioremediation of recalcitrant xenobiotic compounds. **International Journal of Environmental Science and Technology**, v. 14, n.8, p. 1787–1806, 2017.

KORKMAZ, V., YILDIRIM, N., ERGUVEN, G. O., DURMUS, B., NUHOGLU, Y. The bioremediation of glyphosate in soil media by some newly isolated bacteria: The COD, TOC removal efficiency and mortality assessment for *Daphnia magna*. **Environmental Technology and Innovation**, v. 22, 2021.

KUMAR, A.; YADAV, A. N.; MONDAL, R.; KOUR, D.; SUBRAHMANYAM, G.; SHABNAM, A. A.; KHAN, S. A.; YADAV, K. K.; SHARMA, G. K.; CABRAL-PINTO, M.; FAGODIYA, R. K.; GUPTA, D. K.; HOTA, S.; MALYAN, S. K. Myco-remediation: A

mechanistic understanding of contaminants alleviation from natural environment and future prospect. **Chemosphere**, v. 284, 2021.

KUMAR, M.; YADAV, A. N.; SAXENA, R.; PAUL, D.; TOMAR, R. S. Biodiversity of pesticides degrading microbial communities and their environmental impact. **Biocatalysis and Agricultural Biotechnology**, v. 31, 2021.

KUMARI, M.; GHOSH, P.; SWATI; THAKUR, I. S. Development of artificial consortia of microalgae and bacteria for efficient biodegradation and detoxification of lindane. **Bioresource Technology Reports**, v. 10, 2020.

LI, X.; LI, Y.; ZHAO, X.; ZHANG, X.; ZHAO, Q.; WANG, X.; LI, Y. Restructured fungal community diversity and biological interactions promote metolachlor biodegradation in soil microbial fuel cells. **Chemosphere**, v. 221, p. 735–749, 2019.

MAQBOOL, Z.; HUSSAIN, S.; IMRAN, M.; MAHMOOD, F.; SHAHZAD, T.; AHMED, Z.; AZEEM, F.; MUZAMMIL, S. Perspectives of using fungi as bioresource for bioremediation of pesticides in the environment: a critical review. **Environmental Science and Pollution Research**, v. 23, n.17, p.16904–16925, 2016.

MARICAN, A.; DURÁN-LARA, E. F. A review on pesticide removal through different processes. **Environmental Science and Pollution Research**, v. 25, n. 3, p. 2051–2064, 2018.

MOHAPATRA, D; RATH, S. K.; MOHAPATRA, P. K. Soil fungi for bioremediation of pesticide toxicants: A perspective. **Geomicrobiology Journal**, v. 39, n. 3-5, p. 352-372, 2021.

MONTAGNER, C. C.; VIDAL, C.; ACAYABA, R. D. Contaminantes emergentes em matrizes aquáticas do Brasil: Cenário atual e aspectos analíticos, ecotoxicológicos e regulatórios. **Quimica Nova**, v. 40, n. 9, p. 1094–1110, 2017.

MORILLO, E.; VILLAVERDE, J. Advanced technologies for the remediation of pesticide-contaminated soils. **Science of the Total Environment**, v. 586, p. 576–597, 2017.

PILEGGI, M.; PILEGGI, S. A. V.; SADOWSKY, M. J. Herbicide bioremediation: from strains to bacterial communities. **Heliyon**, v. 6, n. 12, 2020.

PRUDNIKOVA, S.; STRELTSOVA, N.; VOLOVA, T. The effect of the pesticide delivery method on the microbial community of field soil. **Environmental Science and Pollution Research**, v. 28, n. 7, p. 8681–8697, 2021.

PURNOMO, A. S.; SARIWATI, A.; KAMEI, I. Synergistic interaction of a consortium of the brown-rot fungus *Fomitopsis pinicola* and the bacterium *Ralstonia pickettii* for DDT biodegradation. **Heliyon**, v. 6, n. 6, 2020.

QIAN, X.; CHEN, L.; SUI, Y.; CHEN, C.; ZHANG, W.; ZHOU, J.; DONG, W.; JIANG, M.; XIN, F.; OCHSENREITHER, K. Biotechnological potential and applications of microbial consortia. **Biotechnology Advances**, v. 40, 2020.

RAFFA, C. M.; CHIAMPO, F. Bioremediation of agricultural soils polluted with pesticides: a review. **Bioengineering**, v.8, n. 7, 2021.

RONG, X.; ZHAO, G.; FEIN, J. B.; YU, Q.; HUANG, Q. Role of interfacial reactions in biodegradation: A case study in a montmorillonite, *Pseudomonas* sp. Z1 and methyl parathion ternary system. **Journal of Hazardous Materials**, v. 365, p. 245–251, 2019.

SALEH, I. A.; ZOUARI, N.; AL-GHOUTI, M. A. Removal of pesticides from water and wastewater: Chemical, physical and biological treatment approaches. **Environmental Technology and Innovation**, v. 19, 2020.

SARKER, A.; NANDI, R.; KIM, J. E.; ISLAM, T. Remediation of chemical pesticides from contaminated sites through potential microorganisms and their functional enzymes: Prospects and challenges. **Environmental Technology and Innovation**, v. 23, 2021.

SHARMA, A.; KUMAR, V.; SHAHZAD, B.; TANVEER, M.; SIDHU, G.P.S.; HANDA, N.; KOHLI, S.K.; YADAV, P.; BALI, A.S.; PARIHAR, R.D.; DAR, O.I.; SINGH, K.; JASROTIA, S.; BAKSHI, P.; RAMAKRISHNAN, M.; KUMAR, S.; BHARDWAJ, R.; THUKRA, A. K. Worldwide pesticide usage and its impacts on ecosystem. **SN Applied Sciences**, v. 1, n. 11, p. 1–16, 2019.

SOARES, P. R. S.; BIROLI, W. G.; FERREIRA, I. M.; PORTO, A. L. M. Biodegradation pathway of the organophosphate pesticides chlorpyrifos, methyl parathion and profenofos by the marine-derived fungus *Aspergillus sydowii* CBMAI 935 and its potential for methylation reactions of phenolic compounds. **Marine Pollution Bulletin**, v. 166, 2021.

UNIYAL, S.; SHARMA, R. K.; KONDAKAL, V. New insights into the biodegradation of chlorpyrifos by a novel bacterial consortium: Process optimization using general factorial experimental design. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 209, 2021.

VAGI, M. C.; PETSAS, A. S. Recent advances on the removal of priority organochlorine and organophosphorus biorecalcitrant pesticides defined by Directive 2013/39/ EU from environmental matrices by using advanced oxidation processes: an overview (2007–2018). **Journal of Environmental Chemical Engineering**, v. 8, 2020.

VÁZQUEZ, M. B.; MORENO, M. V.; AMODEO, M. R.; BIANCHINOTTI, M. V. Effects of glyphosate on soil fungal communities: A field study. **Revista Argentina de Microbiología**, v. 53, n. 4, p. 349-358, 2021.

VILLAVERDE, J.; RUBIO-BELLIDO, M.; LARA-MORENO, A.; MERCHAN, F.; MORILO, E. Combined use of microbial consortia isolated from diferente agricultural soils and cyclodextrin as a bioremediation technique for herbicide contaminated soils. **Chemosphere**, v. 193, p. 118-125, 2018.

WOŁEJKO, E.; JABŁOŃSKA-TRYPUĆ, A.; WYDRO, U.; BUTAREWICZ, A.; ŁOZOWICKA, B. Soil biological activity as an indicator of soil pollution with pesticides – A review. **Applied Soil Ecology**, v. 147, 2020.

ZABOROWSKA, M.; WYSZKOWSKA, J.; KUCHARSKI, J. Biochemical activity of soil contaminated with BPS, bioaugmented with a mould fungi consortium and a bacteria consortium. **Environmental Science and Pollution Research**, v. 26, n. 36, p. 37054–37069, 2019.

4 CAPÍTULO 2: EFEITO DE PESTICIDA SOBRE O CRESCIMENTO DE FUNGOS CONSORCIADOS

Capítulo preparado em formato de artigo e submetido à Revista Brazilian Archives of Biology and Technology para posterior edição e publicação. Qualis A4. ISSN: 1678-4324

EFEITO DE PESTICIDA SOBRE O CRESCIMENTO DE FUNGOS CONSORCIADOS

RESUMO

Foram estudadas as espécies *Aspergillus niger* AN 400, *Phanerochaete chrysosporium*, *Trametes versicolor* e *Pleurotus* sp. para avaliação de tolerância ao herbicida paraquat em seis concentrações (10 a 60 mg.L⁻¹) em teste de placa, tanto cepas isoladas quanto seus consórcios. Soluções aquosas foram distribuídas em placas junto com meio Potato Dextrose Agar (PDA). Das quatro espécies fúngicas, *Aspergillus niger* AN 400 e *Phanerochaete chrysosporium* formaram colônias bem desenvolvidas, enquanto *Trametes versicolor* e *Pleurotus* sp. reduziram seu tamanho à medida que se aumentava a concentração. As taxas de velocidade de crescimento de *A. niger* se sobressaiu em relação aos demais fungos, e *Pleurotus* sp. foi o de menor crescimento e o mais desfavorecido quando cultivado com *A.niger* AN 400 e *P. chrysosporium*. *A. niger* atingiu 0,45 cm²/h na ausência de pesticida, 3,90 cm²/h na menor concentração (10 mg.L⁻¹) e 5,71 cm²/h na maior concentração (60 mg.L⁻¹). O metabolismo dos fungos pode ter sido favorecido pelo pesticida, e as espécies com maiores crescimento podem apontar para boa formação de consórcio fúngico para remover compostos mais complexos.

Palavras-chave: pesticida, paraquat, consórcio fúngico.

ABSTRACT

Species *Aspergillus niger* AN 400, *Phanerochaete chrysosporium*, *Trametes versicolor*, and *Pleurotus* sp. were studied to assess tolerance to the herbicide paraquat at six concentrations (10 to 60 mg.L⁻¹) in a plate test, both as isolated strains and in their consortia. Aqueous solutions were distributed on plates along with Potato Dextrose Agar (PDA) medium. Among the four fungal species, *Aspergillus niger* AN 400 and *Phanerochaete chrysosporium* formed well-developed colonies, while *Trametes versicolor* and *Pleurotus* sp. reduced their size as the concentration increased. The growth rates of *A. niger* exceeded those of the other fungi, and *Pleurotus* sp. showed the slowest growth and was the most disadvantaged when cultivated with *A. niger* AN 400 and *P. chrysosporium*. *A. niger* reached 0.45 cm²/h in the absence of the pesticide, 3.90 cm²/h at the lowest concentration (10 mg.L⁻¹), and 5.71 cm²/h at the highest concentration (60 mg.L⁻¹). The fungi metabolism may have been favored by the pesticide, and species with higher growth rates may indicate good fungal consortium formation for the removal of more complex compounds.

Keywords: pesticide, paraquat, fungi consortium.

INTRODUÇÃO

Pesticidas são compostos químicos empregados em várias práticas na agricultura como controle de pragas, ervas daninhas e doenças nas plantas, o que os tornou ferramenta vital para o aumento do rendimento de culturas (SHARMA *et al.* 2019). Porém, ao mesmo tempo em que promovem aumento da produção agrícola, a contaminação surge como resultado do escoamento dos campos agrícolas ou através da deriva da pulverização (BOSE *et al.*, 2021). Nas últimas décadas, uma das grandes questões ambientais em pauta são os impactos

adversos causados pela aplicação de pesticida, pois o uso excessivo de fertilizantes químicos atinge diferentes matrizes incluindo solo, ar e água. Como consequência, além de contaminação do ambiente e organismos muitas vezes não-alvo desses componentes, a saúde humana também é afetada negativamente, com registros dessas substâncias em fluidos humanos como leite materno e urina (BILAL, IQBAL, BARCELÓ; 2019).

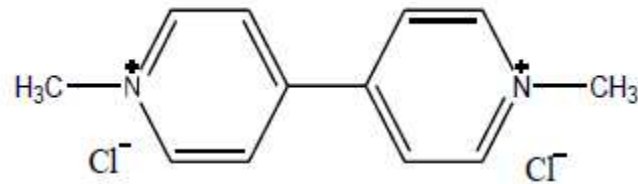
A quantidade aplicada bem como a persistência determinam o efeito tóxico, e em alguns casos, gotas em contato com pele humana já causam malefícios, enquanto outros menos tóxicos se tornam nocivos pela exposição contínua e a longo prazo (SHARMA, 2019). Em relação à meia-vida, a preocupação ambiental direciona esforços para investigação e estratégias de degradação, cuja tecnologia depende de circunstâncias como concentração, tipo de pesticida e uso final do meio contaminado (CONDE-AVILA *et al.*, 2021).

Dentre os tratamentos físico e químicos existentes para matriz aquosa, tem-se uso de argilas, carvão ativado, materiais aluminossilicatos cristalinos e tipos de polímeros, processos de oxidação avançada, fonte de luz UV, fotocatalise e fotodegradação (MARICAN, DURÁN-LARA; 2018). Porém, os tratamentos biológicos são considerados ecologicamente mais corretos, além de uma solução economicamente viável e indispensável (MALLA *et al.*, 2022). Dentre os microrganismos, fungos e bactérias são capazes de transformar compostos como os pesticidas, contudo alguns são mais complexos e de difícil degradação, portanto muitas vezes são recalcitrantes por natureza (PARTE *et al.*, 2017).

A estrutura da maioria dos pesticidas sintéticos é formada por uma cadeia de hidrocarbonetos simples com vários grupos substituintes (halogênios, fosfatos, grupos nitro) que podem ser afetados por enzimas microbianas e usados como substrato energético, contudo, alguns mostram resistência à essa biotransformação devido à ligações químicas incomuns presentes na sua molécula, contribuindo assim para acumulação destes xenobióticos no ambiente, como por exemplo paraquat, aldrin, lindano, atrazina e outros organoclorados ou triazínicos (PRUDNIKOVA *et al.*, 2021).

No caso de herbicidas como o paraquat, sua utilização é uma estratégia para aumentar a produção de culturas alimentares, pois são compostos que atuam bloqueando a biosíntese de aminoácidos, carotenóides, lipídios, ou interrompem fluxo de elétrons no processo de fotossíntese de ervas daninhas (PILEGGI *et al.*, 2020). O paraquat, também denominado violeta de metila (dicloreto de 1,1-dimetil-4,4-bipiridínio), tem sua estrutura química representada na Figura 1.

Figura 1 – Estrutura química do paraquat.



Fonte: (JAFARINEJAD, 2015)

A ação do paraquat sobre as ervas daninhas, como *Conyza* spp., consiste em danificar as membranas de cloroplastos (clorose) a partir da formação de radicais superóxidos (O₂^{•-}). Ele é um sal solúvel em água, cujos eletrólitos são fortes e possui capacidade de afetar os processos de luz em seus alvos, pois tem alto potencial redutor e os elétrons livres gerados podem induzir à formação de radicais livres (BEFFA *et al.*, 2019).

O paraquat é geralmente comercializado como Gramoxone®, Gramocil®, Agroquat®, Gramuron®, Paraquat®, Paraquol® e também em misturas com outros princípios ativos, como o Secamato®, sendo muito utilizado em culturas como: abacaxi, arroz, algodão, café, cana-de-açúcar, feijão, fumo, maçã, soja, uva (MARTINS, 2013). Embora seja mundialmente utilizado para controle de ervas daninhas, seu desempenho está diminuindo por conta do uso contínuo, o que tem tornado algumas espécies de ervas daninha resistentes, como *Conyza bonariensis*, *C. canadensis* e *C. sumatrensis* (ALBRECHT *et al.*, 2020). No Brasil, o uso do paraquat foi reavaliado entre os anos de 2008 e 2017 devido sua alta toxicidade aguda e crônica, sendo que, em 2017, foi temporariamente banido. Contudo, devido à falta de alternativas para substituição do paraquat em campo e em face de pressão de produtores e associações de agricultores seu uso estocado e com várias restrições voltou a ser permitido na safra 2020-2021 até 31 de julho de 2021 (CAMARGO *et al.*, 2020; ALBRECHT *et al.*, 2022).

O paraquat é altamente persistente e se inativa ao entrar em contato com o solo, com tempo de desintegração (TD₅₀) que pode ir de 1,2 anos a 7,2 anos (CAMACHO-MORALES *et al.*, 2017), podendo ainda alcançar águas de mananciais de superfície e de lençóis freáticos, pois é de difícil controle.

As técnicas de biorremediação são usadas com eficácia ainda que seja um processo de vários estágios. Normalmente, uma única cepa ou espécie não consegue degradar efetivamente um contaminante, enquanto combinações de cepas microbianas podem ajudar na transformação do contaminante e, assim, alcançar uma melhor ou biodegradação completa (CHAUDHARY *et al.*, 2023). A maior parte da degradação de poluentes no meio ambiente ocorre pela ação de culturas mistas de microrganismos (consórcios), como reportado por Li *et al.* (2017). Esses autores utilizaram um consórcio contendo *Roseateles terrae*, *Bacillus sp.*, *Escherichia coli* e *P. fluorescens* e alcançou 97% de degradação de paraquat, em concentração inicial de 100 mg.L⁻¹, durante 7 dias. Para além de bactérias, os fungos também demonstram capacidade de degradar paraquat, como reportado por Camacho-Morales *et al.* (2017). Em seu estudo, os autores isolaram 54 macromicetos do sudeste do México, dos quais, dez foram capazes de crescer em meio de cultura sólido na presença de 200 ppm de paraquat, sendo que os três com maior alcance de degradação foram *Trametes pavonia* ECS-67 (54,2%), *Trametes versicolor* ECS-79 (54,1%) e *Hypholoma dispersum* ECS-705 (70,7%), em 12 dias.

Porém, de acordo com Jimenez *et al.* (2019) poucos são os trabalhos com informações sobre interações entre espécies fúngicas consorciadas em reatores biológicos, ainda que o uso de consórcios seja relatado como benéficos ao processo de biodegradação de compostos recalcitrantes, sendo importante informações sobre o crescimento e comportamento dessas espécies durante a metabolização desses compostos, pois a sinergia microbiana pode atenuar e remover gradualmente subprodutos formados a partir da ação sobre a molécula original, evitando o seu acúmulo no meio (DACCÓ *et al.*, 2020).

Embora o uso de consórcios microbianos na degradação de pesticidas e outros poluentes venha sendo reportado como benéfico, existe a necessidade de investigar sobre possíveis limitações a cerca das interações que possam ocorrer entre as espécies envolvidas. Particularmente, em relação aos fungos, os filamentosos têm melhores qualidades individuais e resistência preeminente em ambientes hostis, pois nessas condições gastam mais energia na produção de ectoenzimas que auxiliam na degradação de compostos tóxicos, muitas vezes utilizados facilmente por eles como fontes de carbono (YUAN *et al.*, 2018). São denominadas ectoenzimas por serem secretadas e se manterem aderidas à superfície celular que irá reagir com substratos poliméricos externos à célula. Sua síntese é controlada por mecanismos ligados à disponibilidade de nutrientes do ambiente, portanto constituem fator limitante para aquisição de carbono por organismos heterotróficos (SANTINO *et al.*, 2008).

Portanto o objetivo desse estudo foi testar diferentes tipos de consórcios utilizando *Aspergillus niger* AN 400, *Phanerochaete chrysosporium*, *Trametes versicolor* e *Pleurotus* sp. e avaliar a tolerância dos fungos ao paraquat em seis concentrações (10 a 60 mg.L⁻¹) em teste de placa, em comparação com as cepas isoladas.

MATERIAS E MÉTODOS

Microrganismos e condições de cultivo

As cepas utilizadas foram provenientes do Laboratório de Tecnologia Ambiental do Instituto Federal do Ceará (LATAM). As espécies *Aspergillus niger* AN 400, *Trametes versicolor* e *Pleurotus* sp. foram cultivadas em meio *Potato Dextrose Agar* (PDA) e *Phanerochaete chrysosporium* com meio PDA modificado segundo as proporções (g.L⁻¹): PDA, 39 g; K₂HPO₄, 1,0 g; MgSO₄.7H₂O, 0,5 g; KH₂PO₄, 0,6 g; extrato de levedura, 2,0 g; peptona, 2,0 g; glicose, 20 g e ágar, 15 g. O meio preparado foi previamente esterilizado em autoclave a 121°C por 15 minutos. Nessa etapa, placas esterilizadas receberam 11 mL do meio de cultura previamente autoclavado. Após a adição do meio, o mesmo foi deixado para solidificar e após resfriado foi introduzido o inóculo fúngico em forma de disco de micélio (*plug*). Foram cultivadas quatro placas de cada uma das espécies, para serem utilizadas posteriormente. As placas foram mantidas em estufa microbiológica, cujo período de incubação foi de 7 dias à temperatura de 28 ± 2°C e, verificado o crescimento e desenvolvimento da colônia, foram armazenadas em refrigerador.

Preparação das concentrações de pesticida

A partir de composto comercial (Gramoxone 200 g.L⁻¹) foi preparado um meio aquoso nomeado solução estoque, com concentração final de 1.500 mg.L⁻¹. Da solução estoque foram preparadas diferentes diluições para se obter as concentrações de 10, 20, 30, 40, 50 e 60 mg.L⁻¹ que foram armazenadas em frascos de vidro âmbar e mantidas sob refrigeração a 4 °C durante toda a etapa do teste de tolerância nas placas de Petri. A partir das seis diferentes soluções que o volume de 1 mL foi adicionado nas placas.

Ensaio de tolerância fúngica em placas de Petri

Nessa etapa foram inoculadas placas de Petri com diferentes concentrações de paraquat (10, 20, 30, 40, 50 e 60 mg.L⁻¹) e diferentes configurações de crescimento (isolado ou consorciado) dos fungos. Essas placas totalizaram um número de 140.

As placas foram organizadas em categorias, sendo: placas com paraquat – placas com concentrações variáveis do herbicida; crescimento isolado – placas com uma única espécie fúngica nas concentrações variáveis do herbicida; placas de controle – placas de crescimento isolado que não receberam paraquat; crescimento consorciado – placas com duas espécies fúngicas nas concentrações variáveis do herbicida e branco – placas consorciadas que não receberam paraquat.

Inicialmente, as placas de Petri anteriormente esterilizadas foram identificadas e receberam 1 mL do pesticida. Cada concentração foi reproduzida em duplicata, assim como as placas controle e o branco. Após adição do pesticida foi adicionado 11 mL do meio de cultura descrito anteriormente e a inoculação de cada espécie isolada se deu por um *plug* de 9 mm centralizado e, para os consórcios, um *plug* de uma espécie distante 4 centímetros do *plug* de outra espécie, conforme Yanto e Tachibana (2014).

Para cada intervalo todas as placas tiveram medidos seus respectivos espaços ocupados (área da placa) e fotografadas para registro visual das colônias. A distribuição das séries de placas está representada na Tabela 1. A medição de espaço ocupado pela colônia fúngica na placa foi realizada dividindo-se a área total em quadrados de 0,49 m² de área cada, obtendo-se assim uma área total milimetrada que permitiu a contagem do número de quadrados ocupados pela colônia em crescimento. Devido em algumas placas o crescimento fúngico ter ocorrido de forma dispersa, ou seja, com desenvolvimento da colônia em mais de um centro radial, particularmente em relação a *Aspergillus niger* AN 400 o registro de área ocupada se deu apenas por essa contagem assim como registro fotográfico.

Tabela 1. Série de placas de Petri inoculadas isoladas e em consórcio na presença de pesticida nas concentrações de 10, 20, 30, 40, 50 e 60 mg.L⁻¹

Tempo de monitoramento do crescimento (h)	Cultivos em consórcio	Cultivadas isolados
24, 36, 48, 60, 72, 84, 96, 120, 144 e 168	<i>Aspergillus niger</i> AN 400 + <i>Phanerochaete chrysosporium</i>	<i>Aspergillus niger</i> AN 400
	<i>Aspergillus niger</i> AN 400 + <i>Trametes versicolor</i>	<i>Phanerochaete chrysosporium</i>
	<i>Aspergillus niger</i> AN 400 + <i>Pleurotus sp</i>	<i>Pleurotus sp</i>

	<i>Phanerochaete chrysosporium</i> + <i>Trametes versicolor</i>	<i>Trametes versicolor</i>
	<i>Phanerochaete chrysosporium</i> + <i>Pleurotus sp</i>	
	<i>Trametes versicolor</i> + <i>Pleurotus sp</i>	
Total de placas inoculadas	72	48
Total de placas Controle	20	

Fonte: Autora (2024)

Assim, foram delineados de forma ocasional 6 consórcios distintos: Consórcio I (*A. niger* + *P. chrysosporium*); Consórcio II (*A. niger* + *T. versicolor*), Consórcio III (*A. niger* + *Pleurotus sp.*); Consórcio IV (*P. chrysosporium* + *T. versicolor*); Consórcio V (*P. chrysosporium* + *Pleurotus sp.*) e Consórcio VI (*T. versicolor* e *Pleurotus sp.*).

Após o procedimento de inoculação, as placas foram incubadas em estufa microbiológica a $28 \pm 2^\circ\text{C}$ por 7 dias, com acompanhamento do crescimento das colônias nos seguintes intervalos de tempo: 24, 36, 48, 60, 72, 84, 96, 120, 144 e 168 horas. Em cada intervalo, todas as placas tiveram medidos a área superficial ocupada pela colônia e fotografadas para registro visual.

A partir das 24 horas iniciais, a medição foi realizada de 12 em 12 horas até 96 horas (dia 4) e, a partir do quarto dia, de 24 em 24 horas até as 168 horas finais. A medição da área superficial ocupada na placa pelas colônias foi realizada pela contagem de quadrados ocupados em folha milimetrada cujos quadrados possuíam $0,49 \text{ cm}^2$ de área. As placas utilizadas tinham diâmetro de 9,0 ou 9,5 cm. A porcentagem de inibição micelial (IM) foi determinada através da Equação (1):

$$\% \text{ IM} = [(\text{CMC} - \text{CMI}) / \text{CML}] * 100 \quad (1)$$

Sendo: % IM: porcentagem de inibição micelial; CMC: crescimento micelial controle; CMI: crescimento micelial influenciado.

As taxas de crescimento por hora (T_c) foram estimadas, de acordo com procedimento descrito em Barreto e Anaguano (2015), conforme a Equação (2):

$$T_c = (A_f - A_i) / (T_f - T_i) \quad (2)$$

Sendo: A_f : área do tempo final expressa em cm; A_i : área do tempo inicial expressa em cm; T_f : tempo final; T_i : tempo inicial.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

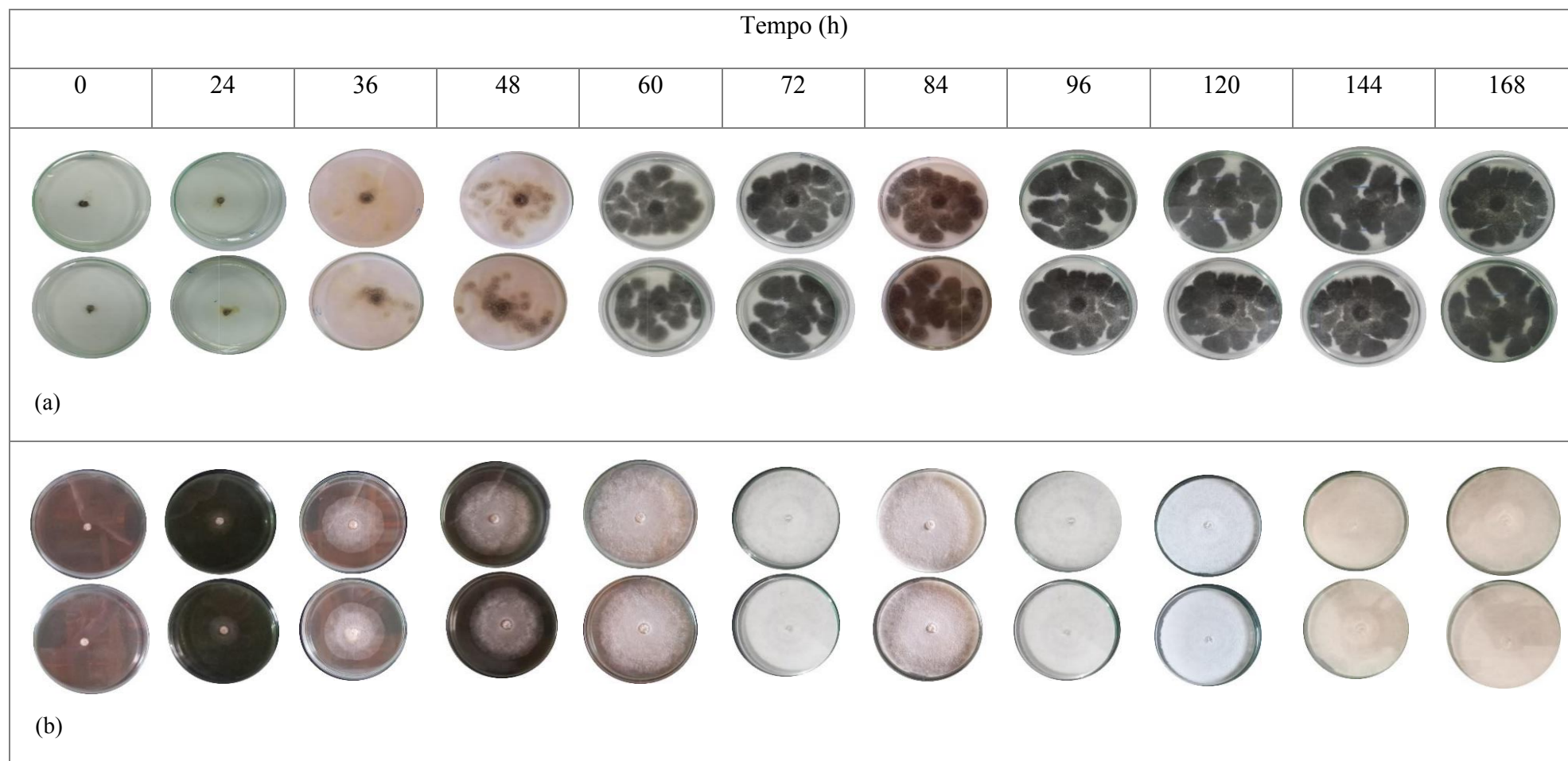
Crescimento das Colônias de Crescimento Isolado na Ausência e Presença de Paraquat

Ao longo de sete dias de monitoramento, para as placas nas quais os fungos foram inoculados individualmente, observou-se que naquelas que funcionaram como controle – sem adição do paraquat – as colônias de *Aspergillus niger* AN 400 e *Phanerochaete chrysosporium* apresentaram taxa média de crescimento de 0,45 cm²/h e 0,54 cm²/h, respectivamente. O crescimento de ambas as espécies foi maior nos três primeiros dias, tanto que *P. chrysosporium*, já em 72 horas, ocupou toda a área da superfície da placa, sendo a taxa máxima de crescimento 2,25 cm²/h, em 60 horas. Porém *Aspergillus niger* AN 400 alcançou taxa máxima de crescimento em tempo menor, de 36 horas (2,02 cm²/h), ainda que ligeiramente inferior à maior taxa de crescimento obtida por *P. chrysosporium*.

T. versicolor e *Pleurotus* sp. tiveram menor taxa média de crescimento, 0,42 cm²/h e 0,29 cm²/h, respectivamente, nas placas de controle e o preenchimento da superfície total das placas por suas colônias ocorreu apenas ao final de 168 horas (dia 7), tempo no qual, a taxa máxima de crescimento foi de apenas 1,31 cm²/h para *T. versicolor* e de 0,97 cm²/h para *Pleurotus* sp., ambas registradas em 144 horas (dia 6). Assim, em condições ideais de crescimento, na ausência do paraquat, os fungos com crescimento mais rápido foram *P. chrysosporium* > *Aspergillus niger* AN 400 > *T. versicolor* > *Pleurotus* sp, sendo o crescimento das colônias fúngicas nas placas de controle, ao longo dos dias de monitoramento, registrado visualmente, conforme Figuras 1 e 2.

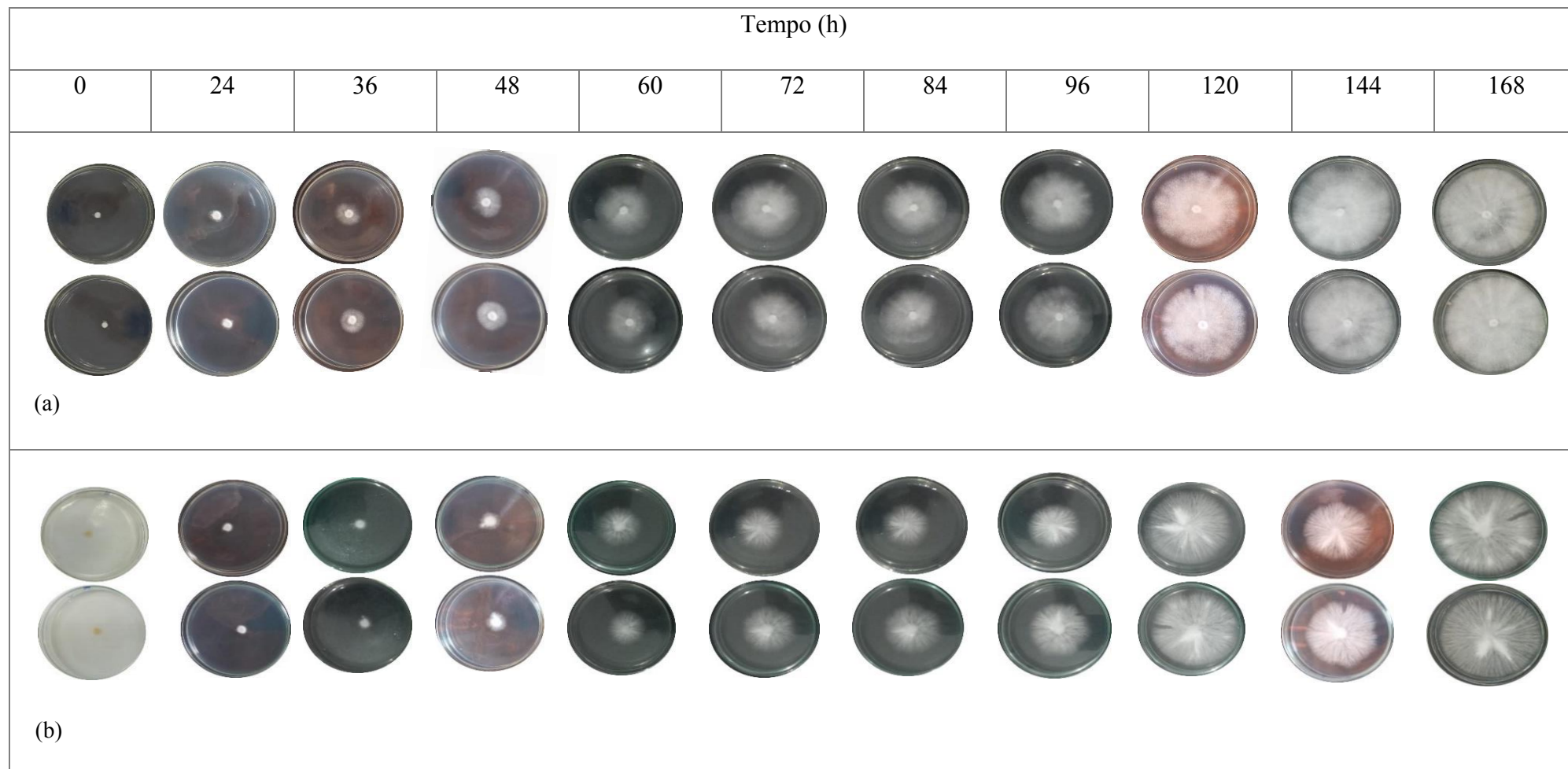
Na presença do pesticida, *T. versicolor* e *Pleurotus* sp. foram consideradas intolerantes às concentrações de paraquat testadas, pois apresentaram inibição acima de 70%, valor este a partir do qual o microrganismo tem considerado seu crescimento, o que é influenciado ainda pelas combinações e condições nutricionais do meio (BARRETO; ANAGUANO, 2015).

Figura 1. Crescimento de placas controle de crescimento isolado das colônias de *A. niger* (a) e *P. chrysosporium* (b), ao longo de 168 horas.



Fonte: Autora (2024)

Figura 2: Crescimento de placas controle de crescimento isolado de *T. versicolor* (a) e *Pleurotus* sp. (b) ao longo de 168 horas.



Fonte: Autora (2024)

Assim, como mostrado na Tabela 2, tanto *T. versicolor* quanto *Pleurotus* sp. mesmo na concentração menor de paraquat (10 mg.L⁻¹) já tiveram seu crescimento inibido, apresentando inibição superior a 90%. Em contrapartida, quando *A. niger* AN 400 e *P. chrysosporium* cresceram isoladamente nas placas na presença do pesticida, não tiveram inibição do seu crescimento, de modo que até o final de 7 dias, suas colônias preencheram totalmente a área das placas, independente da concentração do paraquat adicionada.

Tabela 2. Inibição de crescimento IM (%) dos fungos crescendo nas placas de crescimento isolado, na ausência (controle) e presença de paraquat (10, 20, 30, 40, 50 e 60 mg.L⁻¹).

Fonte: Autora (2024)

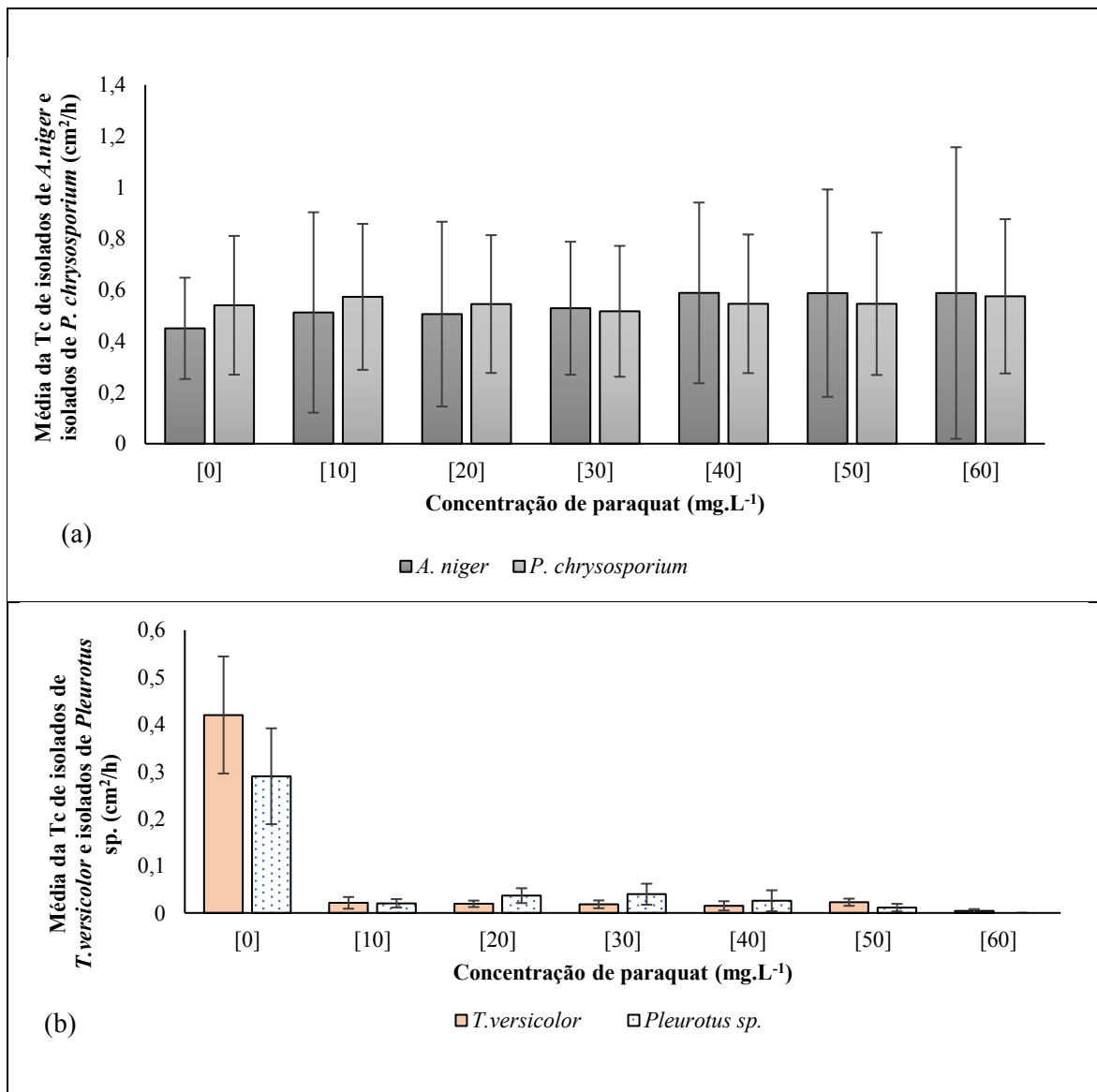
Cepas	Concentração de paraquat (mg.L ⁻¹)						
	Controle	10	20	30	40	50	60
<i>A. niger</i> AN400	0	0	0	0	0	0	0
<i>P. chrysosporium</i>	0	0	0	0	0	0	0
<i>T. versicolor</i>	0	94,4	94,1	94,8	94,7	94,8	98,6
<i>Pleurotus</i> sp.	0	95,3	91,5	91,4	91,2	97,1	100

de controle, *A. niger* AN400 também exibiu a maior velocidade de crescimento em 36 horas, independente da concentração de paraquat ao qual foi submetido, sendo os maiores valores de 3,90 cm²/h (10 mg.L⁻¹) e 5,71 cm²/h (60 mg.L⁻¹). *P. chrysosporium* também cresceu sem qualquer inibição em todas as concentrações de paraquat, sendo a maior taxa de crescimento registrada em 60 horas, de 2,68 cm²/h (60 mg.L⁻¹) e 2,23 cm²/h (10 mg.L⁻¹), demonstrando a habilidade desta espécie de sobreviver e se desenvolver bem ao ponto de obter a maior taxa de crescimento colonial na maior concentração do pesticida.

As taxas médias de crescimento de *A. niger* AN 400, *P. chrysosporium*, *T. versicolor* e *Pleurotus* sp., ao longo de 168 horas, na ausência (controle) e na presença de paraquat, nas seis concentrações estudadas são mostradas na Figura 3.

Figura 3. Média das taxas de crescimento (Tc) das colônias de (a) *A. niger* AN400 e *P. chrysosporium* e

(b) *T. versicolor* e *Pleurotus* sp. , com crescimento individual, na presença de paraquat em concentrações variando de 10 a 60 mg.L⁻¹.



Fonte: Autora (2024)

A capacidade de espécies de *Aspergillus* crescer na presença de pesticidas é comumente relatada em outros trabalhos que avaliaram a biorremediação de outros tipos de pesticidas e taxas de crescimento (Barberis *et al.*, 2019), sendo uma espécie extremamente resistente à presença de pesticidas como clorpirifós e endossulfan, como reportado Bhalerao (2012), sendo que na presença de até 1000 mg.L⁻¹ de endossulfan conseguiu bom crescimento, utilizando o pesticida como fonte de carbono e energia até sua não detecção no meio em 15 dias de incubação. Em outro trabalho, Silambarasan e Abraham (2013) reportaram que *Aspergillus tamarisii* foi cresceu bem até 1000 mg.L⁻¹, concentração a

partir da qual apenas o tolerou até 1300 mg.L⁻¹, quando não mais exibiu crescimento.

Em geral, as pesquisas reportam estudos de biodegradação de pesticidas em concentrações que variam amplamente, de 1 a 1500 mg.L⁻¹ (SILAMBARASAN, ABRAHAM; 2013; SOARES *et al.*, 2021), encontrando-se diferentes respostas em função do tipo e concentração do pesticida e a espécie empregada.

Soares *et al.* (2021) estudaram o crescimento de *Aspergillus sydowii* CBMAI 935, *Penicillium raistrickii* CBMAI 1235, *Penicillium decaturense* CBMAI 1234 e *Trichoderma* sp. CBMAI 932 em meio de cultura solidificado contendo clorpirifós (288 mg.L⁻¹), metil paration (360 mg.L⁻¹) e profenóis (240 mg.L⁻¹), porém observaram inibição acentuada do diâmetro das colônias fúngicas em comparação aos controles.

Contudo o bom crescimento de *Aspergillus niger* AN 400 e *Phanerochaete chrysosporium* na presença de paraquat, observado neta pesquisa, ainda que em menores concentrações, é um indicativo da capacidade dessas espécies em processo de biorremediação de pesticidas. Muitos compostos xenobióticos podem ser usados pelos microrganismos como fontes de energia, sendo comprovado que estas duas espécies são altamente tolerantes a altas concentrações, inclusive de pesticida.

Na literatura o crescimento dos fungos na presença de diferentes poluentes é relatado tanto em água como no solo. Porém, pode ocorrer inibição do crescimento em concentrações baixas, de acordo com Anasonye *et al.* (2015) que não obteve crescimento de *Phanerochaete velutina*, em 24 mg.L⁻¹ de trinitrotolueno, e de *Aspergillus terreus* em 100 µg. L⁻¹ do inseticida endossulfan (SUPREETH, RAJU; 2017). Porém, neste estudo, *A.niger* AN 400 e *P. chrysosporium* conseguiram crescer em todas as concentrações estudadas, inclusive na mais baixa (10 mg.L⁻¹), inferindo-se que utilizaram o paraquat como fonte de carbono e energia, além de exibirem grande tolerância ao pesticida, enquanto *T. versicolor* e *Pleurotus* sp., apesar de serem conhecidos por seu extrato enzimático capaz de degradar lignina e sua eficiência na degradação de DDT, por exemplo, não desenvolveram bem suas colônias na presença do pesticida, sendo pouco tolerantes ao paraquat.

A visualização das placas ao final de 168 horas para as concentrações mínima (10 mg.L⁻¹) e máxima (60 mg.L⁻¹) de paraquat empregadas se apresentam na Figura 4.

Figura 4. Cepas de *Aspergillus niger* AN 400, *Phanerochaete chrysosporium*, *Trametes versicolor* e *Pleurotus* sp. em 10 mg.L⁻¹ (a) e 60 mg.L⁻¹ (b) de paraquat.

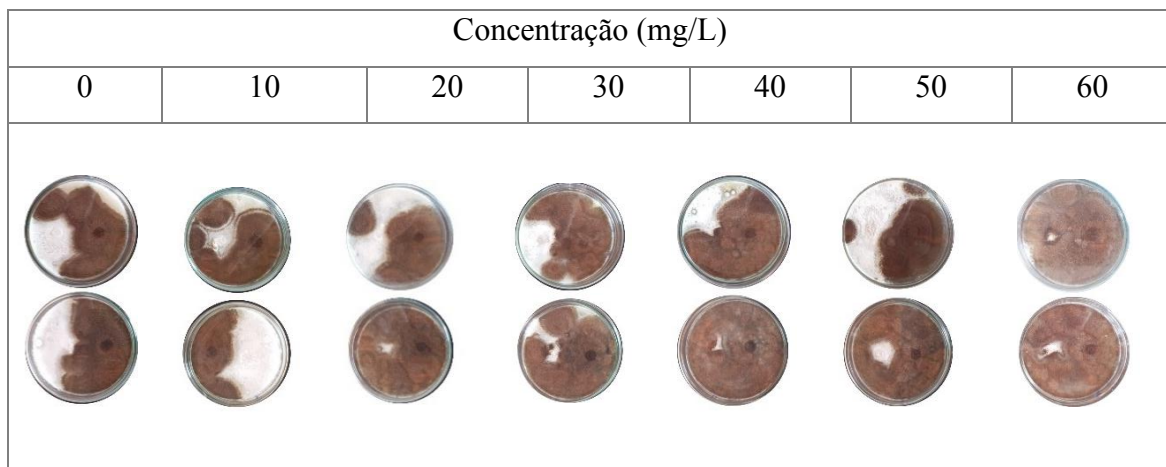


Fonte: Autora (2024).

Crescimento das Colônias Consorciadas na Ausência e Presença de Paraquat

Dos três consórcios formados com *A. niger* AN 400, verificou-se que essa espécie apresentou o melhor desenvolvimento de suas colônias, se comparado às outras três espécies a ele consorciadas. Inicialmente, houve diferença grande entre as taxas de crescimento, principalmente, nas primeiras 48 horas, sendo que, logo em seguida, essa taxa foi decrescendo até zerar, quando a superfície da placa já estava totalmente ocupada. Já *P. chrysosporium* se mostrou a espécie de melhor associação ao *A. niger*, seguido por *T.versicolor*. *Pleurotus* sp. praticamente manteve taxa de crescimento igual ao dia zero, sem crescimento ao longo do tempo estudado. Estes comportamentos sugerem maior viabilidade de uso em consórcio entre *A.niger* AN 400 e *P. chrysosporium*, como foi possível observar pela ocupação das colônias na superfície das placas (Figura 5), contudo quanto maior a concentração, menor a chance deste crescimento mútuo ocorrer.

Figura 5. Placas de crescimento consorciado e branco de *A. niger* AN 400 e *Phanerochaete chrysosporium* com 168 horas.



Fonte: Autora (2024)

Para a concentração 60 mg.L⁻¹ do pesticida, foi verificado que a maior taxa de crescimento de *A. niger* AN 400 (14,77 cm²/h) foi alcançada com 72 horas, diferentemente de quando a cepa estava isolada, crescendo na presença de 60 mg.L⁻¹ do paraquat, a maior taxa de crescimento registrada ocorreu em 36 horas (5,71 cm²/h).

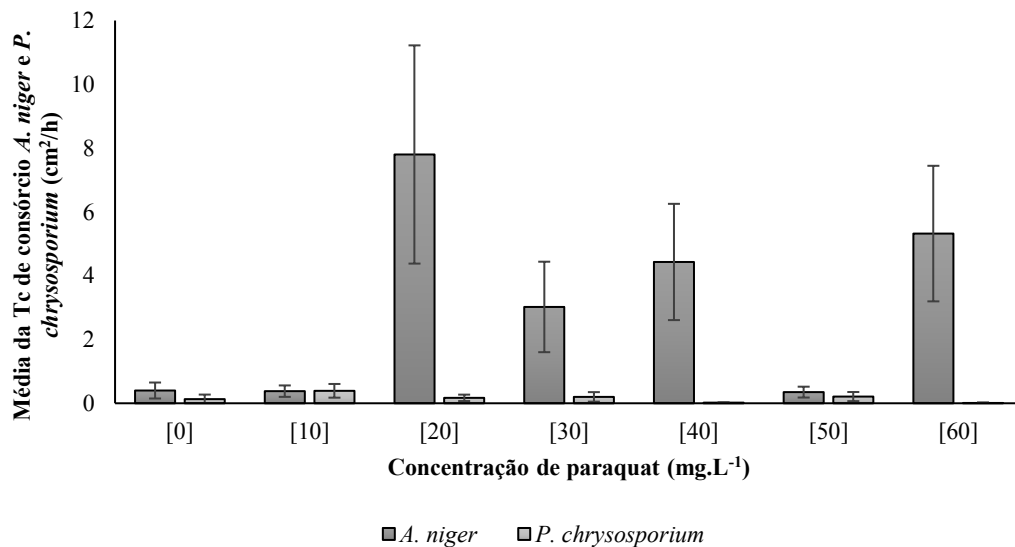
Porém, entre todas as concentrações de paraquat estudadas, a maior taxa de crescimento de *A. niger* AN 400 foi obtida na concentração 20 mg.L⁻¹ (24,14 cm²/h), em 96 e 144 horas. *P. chrysosporium* registrou taxas de crescimento radial inferiores, com sua segunda maior taxa de crescimento radial (1,18 cm²/h), na menor concentração (10 mg.L⁻¹), em 48

horas, voltando a crescer ligeiramente com 84 horas ($2,01 \text{ cm}^2/\text{h}$) e logo em seguida sem crescimento.

Ao analisar em termo de taxas médias de crescimento das colônias consorciadas, a maior média para *A. niger* quando essa espécie cresceu na concentração de 20 mg.L^{-1} ($7,85 \text{ cm}^2/\text{h}$), contudo, na presença de 60 mg.L^{-1} do herbicida, foi registrada a segunda maior taxa média ($5,3 \text{ cm}^2/\text{h}$). Para *P. chrysosporium*, a maior taxa média foi de $0,39 \text{ cm}^2/\text{h}$ (10 mg.L^{-1}). Quando comparado o crescimento do consórcio na ausência do paraquat, *A. niger* AN 400 apresentou taxa média de $0,41 \text{ cm}^2/\text{h}$ e *P. Chrysosporium*, de $0,13 \text{ cm}^2/\text{h}$, comprovando que a presença do pesticida estimulou o crescimento deste consórcio nas concentrações testadas, refletindo indiretamente na utilização do paraquat como fonte de carbono pelo consórcio.

Na Figura 6 são apresentadas as taxas de crescimento do consórcio entre *Aspergillus niger* AN 400 e *Phanerochaete chrysosporium* nas placas com paraquat nas concentrações de estudo e na ausência do herbicida.

Figura 6. Média das taxas de crescimento (T_c) do consórcio I - *A. niger* AN 400 e *P. chrysosporium*.



Fonte: Autora (2024)

Na Tabela 3 é mostrado o percentual de inibição de crescimento micelial IM (%) dos fungos crescendo na ausência e na presença do paraquat (10, 20, 30, 40, 50 e 60 mg.L⁻¹).

Tabela 3. Inibição de crescimento micelial (IM) (%) para *Aspergillus niger* AN 400 em consórcio com *Phanerochaete chrysosporium* (I) *Trametes versicolor* (II) e *Pleurotus* sp. (III) ao crescerem nas placas de crescimento isolado, na ausência (controle) e presença de paraquat (10, 20, 30, 40, 50 e 60 mg.L⁻¹).

Consórcio	Fungo	Concentração de paraquat (mg.L ⁻¹)						
		0	10	20	30	40	50	60
I	<i>A. niger</i> AN 400	0	20	0	0	0	8	0
	<i>Phanerochaete chrysosporium</i>	0	0	39,0	26,1	94,0	92,9	98,4
II	<i>A. niger</i> AN 400	0	20	0,54	0	23,7	0	9,9
	<i>Trametes versicolor</i>	0	16,7	72,2	70,0	70,0	61,1	65,6
III	<i>A. niger</i> AN 400	0	40,0	40,7	18,9	19,7	28,9	54,5
	<i>Pleurotus</i> sp.	*	*	*	*	*	*	*

* Não houve crescimento nas placas com e sem paraquat.

Fonte: Autora (2024)

Os dados de IM indicaram que, embora tenham conseguido coexistir, *Phanerochaete chrysosporium* consorciado ao *Aspergillus niger* AN 400 sofreu inibição de seu crescimento pelo paraquat a partir de 30 mg.L⁻¹. Ainda que isoladamente não tenha sido inibido pelo paraquat em nenhuma das concentrações estudadas, devido à ação dominante de *Aspergillus niger* AN 400 que diminuiu sua tolerância ao herbicida. *Aspergillus niger* AN 400 não apresentou inibição de seu crescimento em nenhum dos consórcios, enfatizando seu caráter dominante sobre todas as espécies com ele consorciadas, sendo que inibiu completamente o crescimento de *Pleurotus* sp. que não cresceu em nenhuma das placas em que esteve consorciado ao *Aspergillus niger* AN 400, mesmo na ausência do paraquat.

A avaliação de efeito antagônico em consórcio fúngico é de grande importância por ser este efeito a consequência de neutralização de um fungo sobre o outro, pois fungos opostos anulam o efeito um do outro. Ascomicetos podem suprimir o crescimento de basidiomicetos e alguns basidiomicetos podem afetar o crescimento de ascomicetos (ALBERT *et al.*, 2011). Assim, a identificação do potencial e capacidade de fungos, bem como as propriedades físico-químicas de um composto e sua biodegradabilidade, determinam o sucesso do consórcio, como afirmado por Yanto e Tachibana (2014) ao verificarem que *Pestalotiopsis* sp. NG007 exibiu forte atividade em meio ágar contendo hidrocarbonetos de

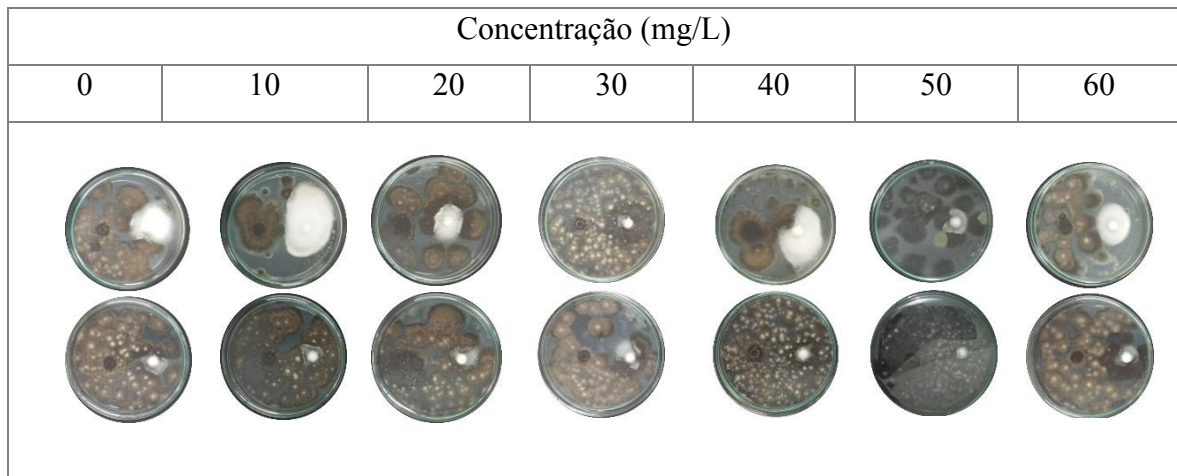
petróleo em contraste com *T. versicolor* U97, *P. ostreatus* PL1, *Cerena* sp. F0607, and *Polyporus* sp. S133 que tiveram menores taxas de crescimento. Os autores concluem que nem todos os fungos com potencial de degradação podem produzir resultados ótimos em um consórcio porque o efeito sinérgico do mesmo é determinado sobretudo pela capacidade de sobreviver à competição com outros fungos.

Embora componham um consórcio capaz de desenvolvimento nas concentrações 10 a 60 mg.L⁻¹ do herbicida, *P. chrysosporium* apresentou menor desenvolvimento em relação ao *A. niger* AN 400 que foi favorecido pela presença do pesticida. Ao estar consorciado com *T. versicolor*, a maior taxa de crescimento de *A. niger* AN 400 foi observada em 30 mg.L⁻¹ do paraquat (48 horas), sendo para *A. niger* de 4,01 cm²/h. *T. versicolor* apresentou maior taxa de crescimento também em 48 h, de 0,25 cm²/h, na concentração de 20 mg.L⁻¹, taxa esta cinco vezes menor que exibida por *A. niger* AN 400 nessa mesma condição (1,43 cm²/h).

No geral, as médias de taxas de crescimento das colônias de *T. versicolor* variaram entre 0,01 e 0,09 cm²/h, respectivamente, com o paraquat em 50 mg.L⁻¹ e 10 mg.L⁻¹ nas placas do seu consórcio com *A. niger* AN 400. Quando *T. versicolor* cresceu isoladamente na presença do paraquat, a maior taxa média de crescimento média registrada para *T. versicolor* foi de 0,02 cm²/h para quase todas as concentrações deste estudo, exceto na de 60 mg.L⁻¹, onde foi nula. Em contrapartida, *T. versicolor* ao crescer isolado e sem pesticida atingiu média de 0,42 cm²/h, logo a presença do herbicida contribuiu para a diminuição de seu crescimento, o que é reforçado pelos valores de elevados de IM a partir de 20 mg.L⁻¹ do paraquat (Tabela 3).

Já os valores de taxa média de crescimento de *A. niger* AN 400 consorciado a *T. versicolor* foram maiores, variando entre 0,32 e 0,51 cm²/h. Nesse consórcio, na ausência do paraquat, a média de crescimento do *A. niger* AN 400 foi de 0,43 cm²/h, menor em relação às obtidas nas placas que possuíam o herbicida. Na Figura 7 são apresentadas as configurações das placas ao final de 168 horas e as taxas de crescimento para os demais intervalos. Quando consorciado com *Pleurotus* sp., *A. niger* AN 400 praticamente não teve dificuldade de crescimento, com taxas de 0,24 cm²/h (60 mg.L⁻¹) a 0,45 cm²/h (40 mg.L⁻¹), enquanto *Pleurotus* sp. não cresceu nas placas, como mencionado anteriormente, indicando a inviabilidade desse consórcio. As de taxas médias de crescimento são apresentadas na Figura 8 e as placas ilustradas na Figura 9.

Figura 7. Placas de controle e paraquat do consórcio entre *A. niger* AN 400 e *Trametes versicolor* com 168 horas.



Fonte: Autora (2024)

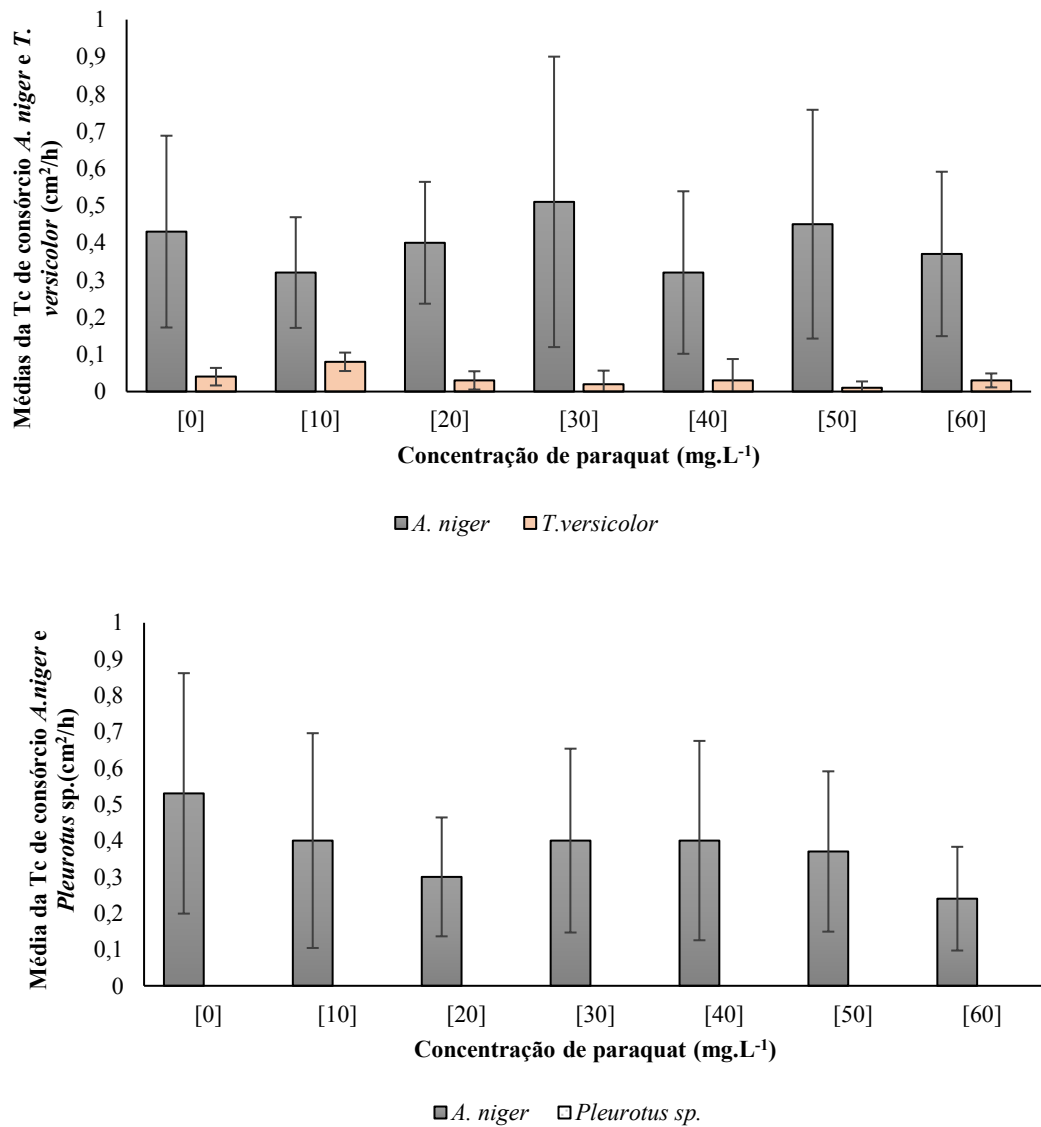
Na placa em que *A. niger* AN400 e *Pleurotus* sp. cresceram consorciados na ausência de paraquat, o primeiro desenvolveu uma taxa média de crescimento radial de $0,53 \text{ cm}^2/\text{h}$, valor não muito distante da maior taxa registrada quando da presença de 40 mg.L^{-1} de paraquat.

O crescimento de *Pleurotus* sp. foi inibido por *A. niger* AN 400 mesmo na ausência do paraquat. Ficou demonstrado que o fator de inibição não foi o pesticida, mas sim a relação antagonica entre as espécies consorciadas, pois *Pleurotus* sp. quando cresceu isoladamente na presença do pesticida apresentou crescimento, com a maior taxa média de $0,4 \text{ cm}^2/\text{h}$ (30 mg.L^{-1}). O antagonismo pode ser exercido pela espécie predominante a partir da secreção de substâncias específicas como ácidos orgânicos, que aliados à uma velocidade de crescimento maior em relação à outra espécie, resulta na inibição de crescimento da espécie dominada (SUÁREZ-ESTRELLA *et al.*, 2007).

Petovic *et al.* (2016) relataram que *Aspergillus piperis* apresentou atividade antagonica contra o fitopatogênio *Pythium aphanidermatum* a partir da secreção de metabólitos constituídos por pequenas moléculas, incluindo ácido glucônico e derivados dos ácidos cítrico e itacônico, mas o antifúngico mais potente foi associado a proteínas resistentes ao calor e a solventes orgânicos. A repressão do crescimento pode ser evidenciado visualmente, como mencionado por El-Debaiky (2017) que observou interação entre as hifas de *Aspergillus piperis* e as de um fungo patogênico de plantas não identificado, como resultado de atividade

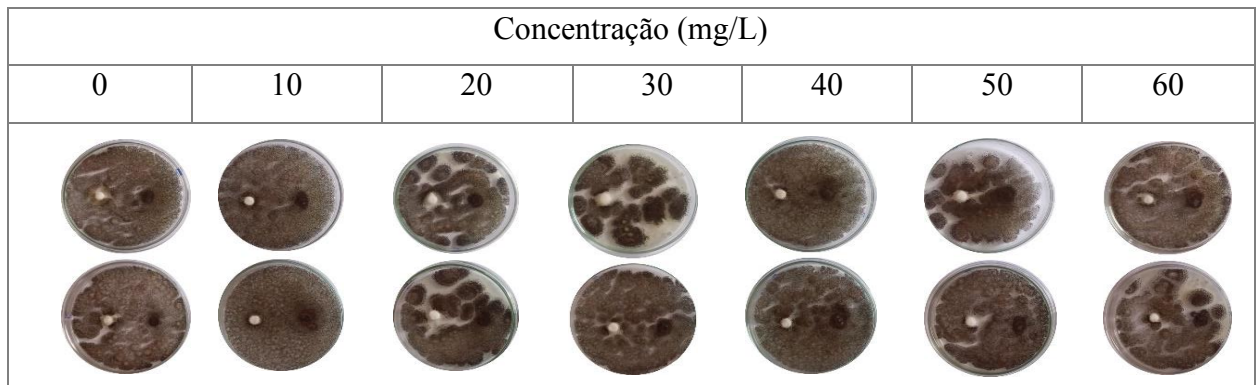
antagônica que inibiu 82% do crescimento do patógeno por mecanismos de enrolamento e penetração das hifas (micoparasitismo) e lise de células de hifas e esporos.

Figura 8. Média das taxas de crescimento (Tc) do consórcio II - *A. niger* AN 400 e *Trametes versicolor* e do consórcio III - *A. niger* AN 400 e *Pleurotus* sp.



Fonte: Autora (2024)

Figura 9. Placas de controle e paraquat do consórcio entre *A. niger* AN 400 e *Pleurotus* sp. com 168 horas.



Fonte: Autora (2024)

Nesta pesquisa, nas placas com consórcio *Aspergillus niger* AN 400 e *Pleurotus* sp., o primeiro cresceu totalmente sobre *Pleurotus* sp, indicando atividade antagônica. Assim, a associação entre *Aspergillus niger* AN 400 e as outras duas cepas aqui consideradas (*P. chrysosporium* e *T. versicolor*) são mais indicadas na composição de um consórcio.

Contudo é interessante observar que *Pleurotus* sp. quando cresceu isolado e sem presença de paraquat desenvolveu taxa média de 0,29 cm²/h, enquanto *Aspergillus niger* AN 400 apresentou valor 1,6 vezes maior (0,45 cm²/h), tendo a vantagem de crescer mais rapidamente no meio. Além disso, *Aspergillus niger* AN 400 usou o paraquat em seu benefício como fonte de carbono para seu metabolismo primário, o que ficou constatado pela maior taxa média de crescimento registrada nessa pesquisa, de 1,80 cm²/h, em 60 mg.L⁻¹ do pesticida, ao crescer isolado, e, nessa mesma concentração, de 5,3 cm²/h em consórcio com *Phanerochaete chrysosporium*, consórcio de maior viabilidade neste estudo.

Para o consórcio entre *Phanerochaete chrysosporium* e *Trametes versicolor* houve redução das taxas de crescimento em comparação ao crescimento isolado dessas espécies, o que sugere que a presença do pesticida afetou negativamente o crescimento dos fungos quando consorciados. Neste consórcio, *P. chrysosporium* atingiu maior taxa de crescimento de 1,59 cm²/h, em 60 h e a 10 mg.L⁻¹ do paraquat, uma taxa de crescimento 1,69 vezes inferior a que foi alcançada na maior concentração (60 mg.L⁻¹), quando estava isoladamente nas placas. A maior taxa média registrada para *P. chrysosporium* em crescimento isolado foi de 0,58 cm²/h (60 mg.L⁻¹), sendo que, enquanto consorciado com *T. versicolor*, exibiu como maior valor médio de da taxa crescimento 0,48 cm²/h (10 mg.L⁻¹).

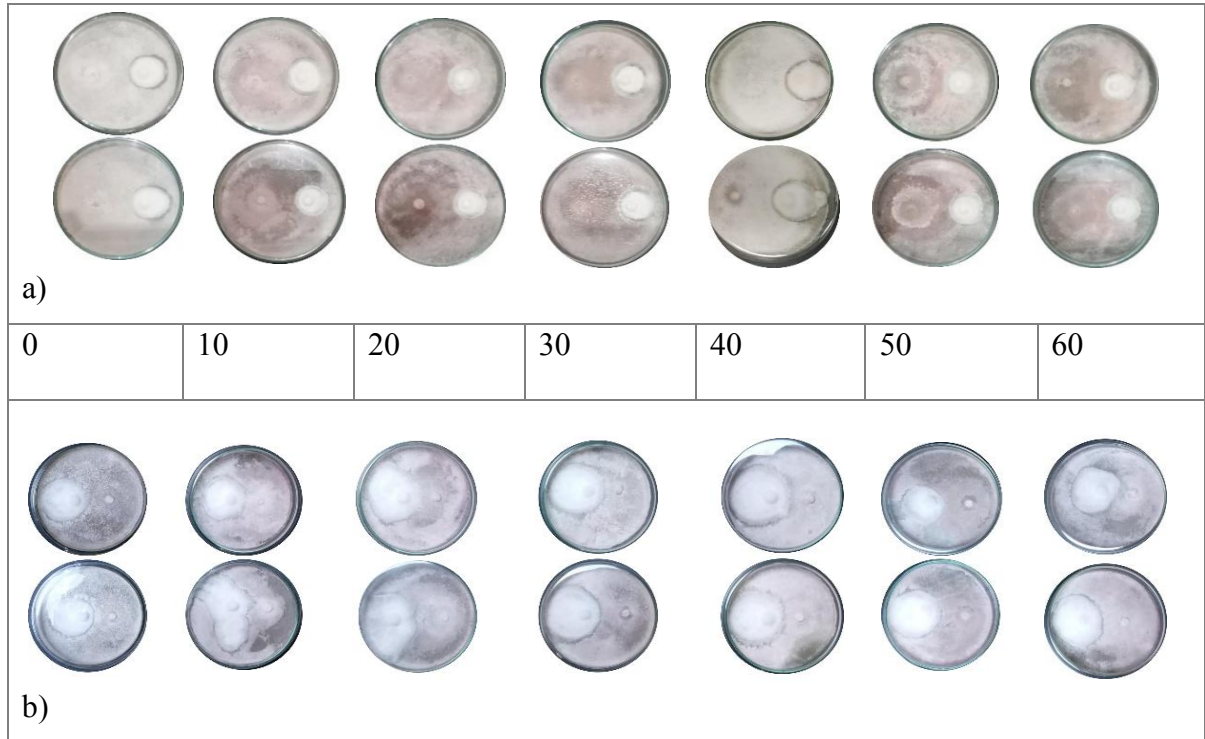
Ao considerarmos a média da taxas de crescimento de *P. chrysosporium*, essa flutuou entre 0,39 e 0,47 cm²/h, nas concentrações de paraquat estudadas, no consórcio com *T. versicolor*, enquanto que, nas placas de controle, o valor foi de 0,50 cm²/h. Para *T. versicolor* as médias ficaram entre 0,032 e 0,06 cm²/h, portanto bem menores, o que sugere que neste consórcio *P. chrysosporium* foi espécie mais favorecida ou dominante. As menores taxas de crescimento evidenciadas quando essas espécies estavam consorciadas pode decorrer de possível gasto energético da espécie dominante durante a competição com a espécie dominada, a qual já tem seu crescimento naturalmente reprimido pelos mecanismos já mencionados, lise celular e microparasitismo, entre outros (El-Debaiky, 2017).

Diferentemente de quando consorciado com *A. niger* AN 400, *Pleurotus* sp. ao crescer em consórcio com *P. chrysosporium* teve um aumento nas taxas de crescimento, de forma que foi possível essas duas espécies crescerem consorciadas, demonstrando crescimento favorável, sem evidenciar efeito antagônico, uma vez que *Pleurotus* sp. exibiu, em todas as seis concentrações de paraquat estudadas, taxa de crescimento média 4 vezes maior quando comparadas às médias de quando cresceu isoladamente nas placas.

Na Figura 10 são apresentadas as configurações das placas ao final de 168 horas e a média das taxas de crescimento para as demais concentrações, respectivamente. O consórcio entre *P. chrysosporium* e *Pleurotus* sp. resultou assim em médias de taxas de crescimento entre 0,25 e 0,42 cm²/h e 0,09 e 0,14 cm²/h, respectivamente, indicando favorecimento ao crescimento de *Pleurotus* sp. na presença do paraquat. É importante mencionar que na ausência do paraquat, *Pleurotus* sp. atingiu média de 0,09 cm²/h e *P. chrysosporium*, 0,48 cm²/h. Sendo assim, para esta configuração de consórcio há viabilidade da espécie que menos se desenvolveu em todas as concentrações de paraquat testadas, cujas médias das taxas de crescimento se encontram na Figura 11.

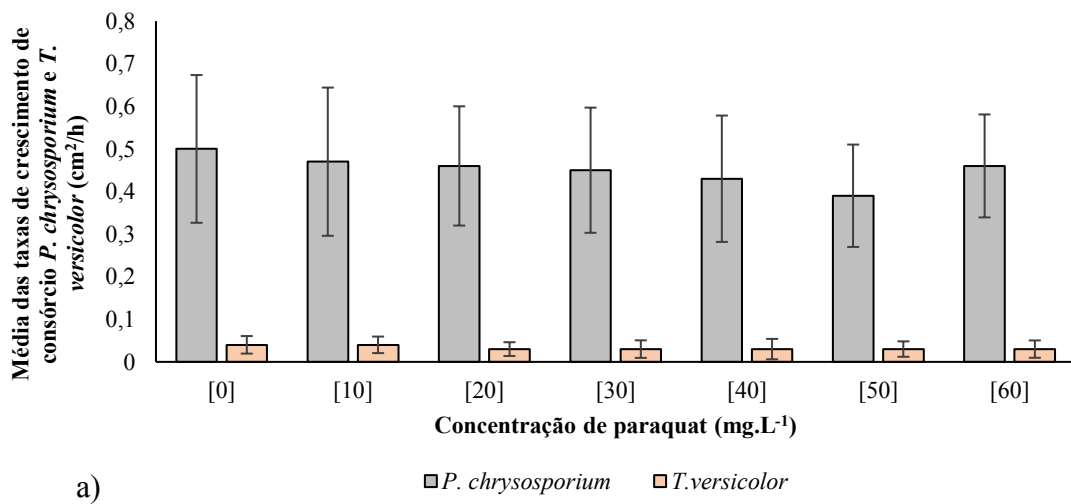
Figura 10. Placas de controle e paraquat do consórcio entre (a) *P. chrysosporium* e *Trametes versicolor* e b) *P. chrysosporium* e *Pleurotus* sp. com 168 horas.

Concentração (mg/L)						
0	10	20	30	40	50	60



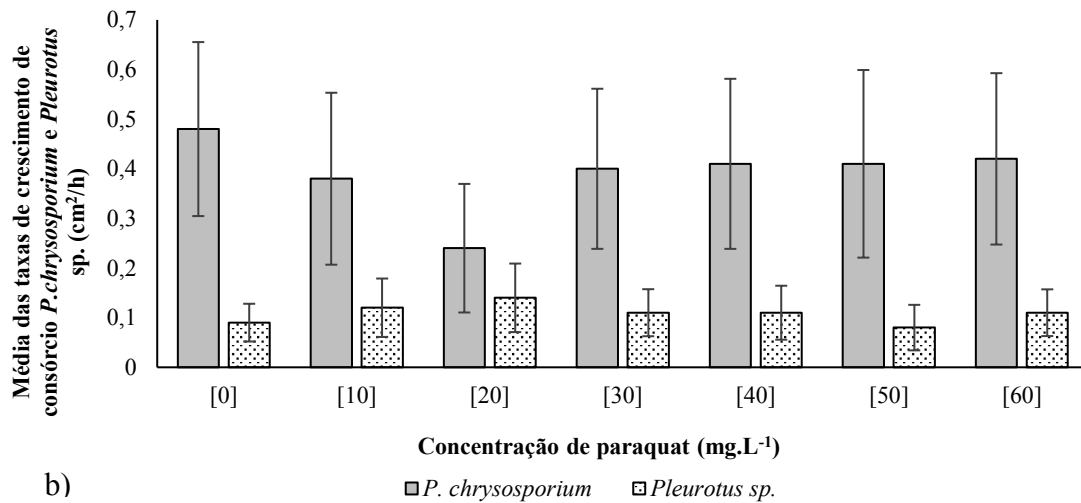
Fonte: Autora (2024).

Figura 11. Média das taxas de crescimento (cm²/h) do consórcio (a) *P. chrysosporium* e *Trametes versicolor* e (b) do consórcio *P. chrysosporium* e *Pleurotus* sp.



a)

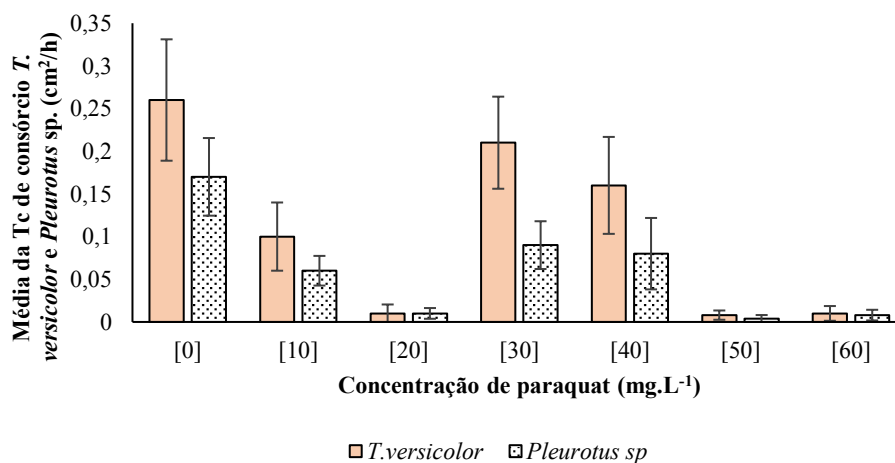
□ *P. chrysosporium* □ *T. versicolor*



Fonte: Autora (2024)

Quanto ao consórcio entre *T. versicolor* com *Pleurotus sp.*, foram encontradas taxas de crescimento máximas de 0,45 cm²/h, com 60 horas, para *T. versicolor* na concentração 30 mg.L⁻¹ e 0,16 cm²/h, em 36 horas, para *Pleurotus sp.*, em concentração 40 mg.L⁻¹. Em geral as taxas foram baixas, com média de 0,21cm²/h na concentração de 30 mg.L⁻¹ no caso de *T. versicolor*, que nao diferiu muito das placas controles (0,26 cm²/h). Nas demais concentrações de pesticida, tanto *T. versicolor* quanto *Pleurotus sp.* se mantiveram abaixo de 0,1 cm²/h (Figura 12).

Figura 12. Média das taxas de crescimento (Tc) do consórcio *T. versicolor* e *Pleurotus sp.*

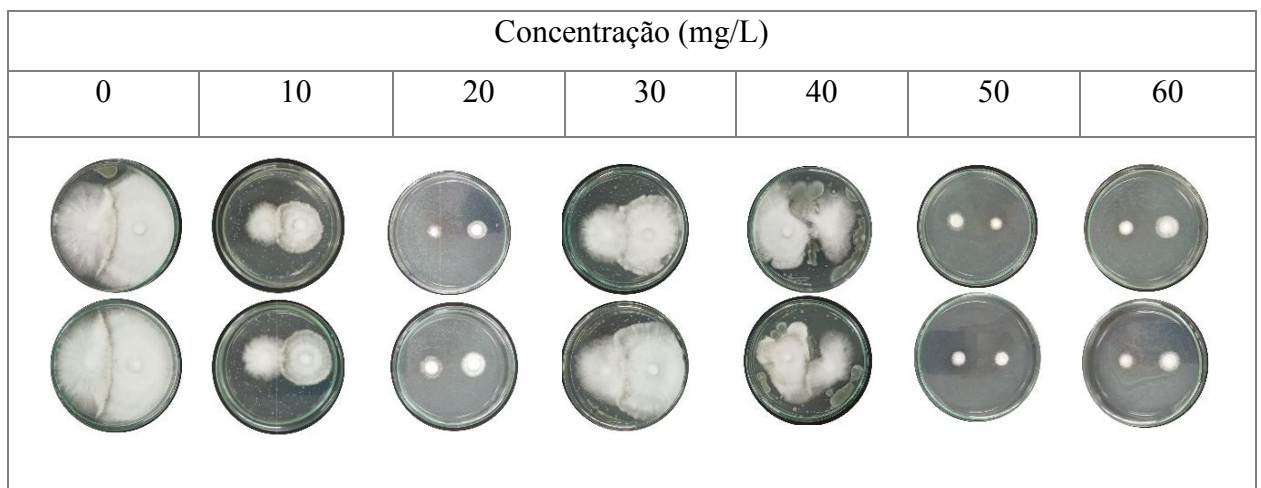


Fonte: Autora (2024)

Conforme Barreto e Anaguano (2015), um consórcio destes dois fungos da podridão branca apresentam diferenças explicadas pela composição do meio avaliado, a disponibilidade de nutrientes e a estratégia de adaptação dos mesmos. Os autores testaram a influência do meio PDA nas mesmas espécies e afirmaram que o mesmo representa um ambiente mais extremo para os fungos pelo seu baixo conteúdo de nutrientes, o que pode levar a uma maior concorrência. Em estudos de adaptação é proposto um sistema de classificação denominado Teoria r e K, que se baseia nas propriedades de crescimento dos microrganismos e suas estratégias para colonizar determinado ambiente. Microrganismos do tipo r tendem a ocupar espaço mais rápido, enquanto os do tipo K possuem taxas de reprodução mais baixa, então neste consórcio *T. versicolor* tende a obedecer a estratégia r por ter uma alta taxa de crescimento em condições desfavoráveis com as concentrações de paraquat testadas, e *Pleurotus* sp. se assemelha ao tipo K, com colonização muito mais lenta (Figura 13).

Em processos de associação de um ou mais microrganismos, a limitação nutricional ou outros fatores de estresse ambiental estimulam interações benéficas de subsistência, e uma determinada espécie fúngica pode apresentar adaptação distinta a certas condições nutricionais, o que influencia diretamente em seu crescimento.

Figura 13. Placas de controle e paraquat do consórcio entre *Trametes versicolor* e *Pleurotus* sp. com 168 horas.



Fonte: Autora (2024)

Foi possível observar que o consórcio menos viável foi o de *Pleurotus* sp. com *A. niger* AN 400, e esse aspecto condiciona a importância de observar estudos de compatibilidade entre as espécies fúngicas, principalmente as direcionadas para tratamento de contaminação por substâncias recalcitrantes, mas muitos estudos limitam-se a resultados qualitativos dessas interações (BARRETO, ANAGUANO; 2015).

Estudos da área relataram que os efeitos sinérgicos ou aumento da eficiência de degradação em consórcios pode resultar de: (1) efeitos cooperativos devido a diferentes bioquímicas complementares; (2) assimilação do pesticida na membrana celular e mudanças de hidrofobicidade celular por substâncias excretadas, como biosurfactantes e (3) eliminação de metabólitos do pesticida por uma cepa que inibe outras cepas. Sendo assim, quais destes mecanismos explicam os efeitos de sinergia entre microrganismos do consórcio ainda precisam ser esclarecidos (KIM *et al.* 2009).

CONCLUSÃO

As diferenças apresentadas entre fungos cultivados isoladamente e, posteriormente, em consórcios testados com paraquat nas concentrações 10, 20, 30, 40, 50 e 60 mg.L⁻¹ permitiu concluir que:

Das quatro espécies fúngicas utilizadas, apenas *Aspergillus niger* AN 400 e *Phanerochaete chrysosporium* foram tolerantes ao paraquat nas concentrações testadas, enquanto *Trametes versicolor* e *Pleurotus* sp. reduziram o tamanho de suas colônias ou não cresceram.

Aspergillus niger AN 400 apresentou taxa de velocidade de crescimento elevada, se comparado às cepas de *Phanerochaete chrysosporium*, *Trametes versicolor* e *Pleurotus* sp., particularmente quando cresceu em consórcio.

As taxas de crescimento tenderam a aumentar à medida que se aumentou a concentração de paraquat, particularmente para *Aspergillus niger* AN 400 que demonstrou caráter dominante em todos os consórcios avaliados, indicando a habilidade dessa espécie de crescer utilizando o herbicida como fonte de carbono e energia.

Nos consórcios estudados, as espécies consorciadas dominadas tenderam a um menor crescimento, ainda que não tenham demonstrado serem inibidas pela presença do pesticida, o que está relacionado ao efeito antagônico exercido pela espécie dominante.

Pleurotus sp. consegue competir em crescimento quando associado a *Phanerochaete chrysosporium*, mas com *Trametes versicolor* o consórcio não se desenvolve acima de 50 mg.L⁻¹, sendo a espécie de menor crescimento.

O uso de consórcio pode favorecer processos de biodegradação do paraquat desde que haja sinergia de crescimento entre as espécies consorciadas, como os dados reportados indicaram existir entre *A. niger* AN 400 e *Phanerochaete chrysosporium*, com aparente uso do herbicida no metabolismo primário, sendo importante estudos em reatores com aplicação desses consórcio visando avaliar o grau de biodegradação do paraquat.

REFERÊNCIAS

- ALBERT, S.; CHAUHAN, D.; PANDYA, B.; PADHIAR, A. Screening of *Trichoderma* spp. as potential fungal partner in co-culturing with white rot fungi for efficient bio-pulping. **Global Journal of Biotechnology and Biochemistry**, v. 6, n. 3, p. 95–101, 2011.
- ALBRECHT, A.J. P., ALBRECHT, L.P.; SILVA, A. F. M. Agronomic implications of paraquat ban in Brazil. **Advances in Weed Science**, v. 40, p. 1–13, 2022.
- ALBRECHT, A. J. P.; THOMAZINI, G.; ALBRECHT, L. P.; PIRES, A.; LORENZETTI, J. B.; DANILUSSI, M.T.Y.; SILVA, A. F. M.; ADEGAS, F. S. *Conyza Sumatrensis* resistant to paraquat, glyphosate and chlorimuron: Confirmation and monitoring the first case of multiple resistance in Paraguay. **Agriculture**, v. 10, n. 12, p. 1–11, 2020.
- ANASONYE, F.; WINQUIST, E.; ROSANEN, M.; KONTRO, J.; BJORKLOF, K.; VASILYEVA, G.; JORGENSEN, K. S.; STEFFEN, K.T.; TUOMELA, M. Bioremediation of TNT contaminated soil with fungi under laboratory and pilot scale conditions. **International Biodeterioration and Biodegradation**, v. 105, p. 7–12, 2015.
- BARBERIS, C. L.; CARRANZ, C. S.; MAGNOLI, K.; BENITO, N.; MAGNOLI, C. E. Development and removal ability of non-toxicogenic *Aspergillus* section Flavi in presence of atrazine, chlorpyrifos and endosulfan. **Revista Argentina de Microbiologia**, v. 51, n. 1, p. 3–11, 2019.
- BARRETO, J. A. R.; ANAGUANO, A. H. Evaluación del crecimiento y compatibilidad de hongos de la podredumbre blanca. **Ciencia en Desarrollo**, v. 5, n. 2, p. 197–205, 2014.
- BEFFA, R.; MENNE, H.; KOCHER, H. Herbicide Resistance Action Committee (HRAC): Herbicide classification, resistance evolution, survey and resistance mitigation activities. **Modern Crop Protection Compounds**, 3 rd. Edition, 2019.
- BHALERAO, T. S. Bioremediation of endosulfan-contaminated soil by using bioaugmentation treatment of fungal inoculant *Aspergillus niger*. **Turkish Journal of Biology**, v. 36, n. 5, 2012.
- BHATT, P.; BHATT, K.; SHARMA, A.; ZHANG, W.; MISHRA, S.; CHEN, S. Biotechnological basis of microbial consortia for the removal of pesticides from the environment. **Critical Reviews in Biotechnology**, v. 41, n. 3, p. 317–338, 2021.
- BILAL, M.; IQBAL, H. M. N.; BARCELÓ, D. Persistence of pesticides-based contaminants in the environment and their effective degradation using laccase-assisted biocatalytic systems. **Science of the Total Environment**, v. 695, 2019.
- BOSE, S.; KUMAR, P. S.; VO, D.V.N.; RAJAMOCHAN, N.; SARAVANAN, R. Microbial degradation of recalcitrant pesticides: a review. **Environmental Chemistry Letters**, v. 19, n. 4, p. 3209–3228, 2021.
- CAMACHO-MORALES, R.L.; GUILLÉN-NAVARRO, K.; SÁNCHEZ, J.E. Degradation of the herbicide paraquat by macromycetes isolated from southeastern Mexico. **3 Biotech** v. 7, n. 324, p. 1–10, 2017.
- CAMARGO, E. R.; ZAPIOLA, M. L.; AVILA, L. A.; GARCIA, M. A.; PLAZA, G.; GAZZIERO, D.; HOYOS, V. Current situation regarding herbicide regulation and public perception in South America. **Weed Science**, v. 68, p. 232–239, 2020.

- CHAUDHARY, P.; XU, M.; AHAMAD, L.; CHAUDHARY, A.; KUMAR, G.; ADELEKE, B. S.; VERMA, K. K.; HU, D. M.; SIRIC, I.; KUMAR, P.; POPESCU, S. M.; FAYSSAL, S. A. Application of synthetic consortia for improvement of soil fertility, pollution remediation, and agricultural productivity: a review. **Agronomy**, v. 13, n. 3, 2023.
- CONDE-AVILA, V.; ORTEGA-MARTÍNEZ, L. D.; LOERA, O.; KASSIS, E. G. E.; DÁVILA, J. G.; VALENZUELA, C. M. Pesticides degradation by immobilised microorganisms. **International Journal of Environmental Analytical Chemistry**, v. 101, n. 15, p. 2975–3005, 2021.
- DACCÒ, C.; GIROMETTA, C.; ASEMOLLOYE, M. D.; CARPANI, G.; PICCO, A. M.; TOSI, S. Key fungal degradation patterns, enzymes and their applications for the removal of aliphatic hydrocarbons in polluted soils: a review. **International Biodeterioration and Biodegradation**, v. 147, 2020.
- DAR, M.A.; KAUSHIK, G.; VILLARREAL-CHIU, J. F. Pollution status and bioremediation of chlorpyrifos in environmental matrices by the application of bacterial communities: a review. **Journal of Environmental Management**, v. 239, p. 124–136, 2019.
- EL-DEBAIKY, S. A. Antagonistic studies and hyphal interactions of the new antagonist *Aspergillus piperis* against some phytopathogenic fungi in vitro in comparison with *Trichoderma harzianum*. **Microbial Pathogenesis**, v. 113, p. 135-143, 2017.
- GONZÁLEZ, C.; WU, Y.; ZULETA-CORREA, A.; JARAMILLO, G.; VASCO-CORREA, J. Biomass to value-added products using microbial consortia with white-rot fungi. **Bioresource Technology Reports**, v. 16, 2021.
- JAFARINEJAD, S. Recent advances in determination of herbicide paraquat in environmental waters and its removal from aqueous solutions : a review. **International Research Journal of Applied and Basic Science**, v. 9, n. 10, p. 1758–1774, 2015.
- JIMÉNEZ, S.; VELÁSQUEZ, C.; MEJÍA, F.; ARIAS, M.; HORMAZA, A. Comparative studies of pure cultures and a consortium of white-rot fungi to degrade a binary mixture of dyes by solid-state fermentation and performance at different scales. **International Biodeterioration and Biodegradation**, v. 145, 2019.
- JOVIČIĆ-PETROVIĆ, J.; JEREMIC, S.; VUČKOVIĆ, I.; VOJNOVIĆ, S.; BULAJIĆ, A.; RAIČEVIĆ, V.; NIKODINOVIĆ-RUNIĆ, J. *Aspergillus piperis* a/5 from plum-distilling waste compost produces a complex of antifungal metabolites active against the phytopathogen *Pythium aphanidermatum*. **Archives of Biological Sciences**, v. 68, n. 2, 2016.
- KIM, Y.M.; AHN, C. K.; WOO, S. H.; JUNG, G. Y.; PARK, J. M. Synergic degradation of phenanthrene by consortia of newly isolated bacterial strains. **Journal of Biotechnology**, v. 144, n. 4, p. 293–298, 2009.
- LI, Y.; GE, X. Z.; WANG, X. Y.; GAO, R. The invention discloses a compound bacterial agent used to degrade paraquat and a preparation method. Patent No CN 106520618 A. Beijing: **National Intellectual Property Administration**, China, 2017.
- MALLA, M.A.; DUBEY, A.; RAJ, A.; KUMAR, A.; UPADHYAY, N.; YADAV, S. Emerging frontiers in microbe-mediated pesticide remediation: Unveiling role of omics and in silico approaches in engineered environment. **Environmental Pollution**, v. 299, 2022.
- MARICAN, A.; DURÁN-LARA, E. F. A review on pesticide removal through different processes. **Environmental Science and Pollution Research**, v. 25, n. 3, p. 2051–2064, 2018.

- MARTINS, T. Herbicida paraquat: conceitos, modo de ação e doenças relacionadas. **Seminário: Ciências Biológicas e da Saúde**, v. 34, n. 2, p. 175-186, 2013.
- PARTE, S. G.; MOEKAR, A. D.; KHARAT, A. S. Microbial degradation of pesticide: a review. **African Journal of Microbiology Research**. v.11, n. 24, p. 992-1012, 2017.
- PILEGGI, M.; PILEGGI, S.A.V.; SADOWSKY, M. J. Herbicide bioremediation: from strains to bacterial communities. **Heliyon**, v. 6, n. 12, 2020.
- PRUDNIKOVA, S.; STRELTSOVA, N.; VOLOVA, T. The effect of the pesticide delivery method on the microbial community of field soil. **Environmental Science and Pollution Research**, v. 28, n. 7, p. 8681–8697, 2020.
- SANTINO, M. B. C.; SCIESSERE, L.; BIANCHINI JÚNIOR, I. As atividades das enzimas na decomposição da matéria orgânica particulada em ambientes aquáticos continentais evolução dos estudos sobre enzimas em ambientes aquáticos. **Oecologia Brasiliensis**, v. 12, n. 1, p. 30–41, 2008.
- SHARMA, A.; KUMAR, V.; SHAHZAD, B.; TANVEER, M.; SIDHU, G.P.S.; HANDA, N.; KOHLI, S.K.; YADAV, P.; BALI, A.S.; PARIHAR, R.D.; DAR, O.I.; SINGH, K.; JASROTIA, S.; BAKSHI, P.; RAMAKRISHNAN, M.; KUMAR, S.; BHARDWAJ, R.; THUKRA, A. K. Worldwide pesticide usage and its impacts on ecosystem. **SN Applied Sciences**, v. 1, n. 11, p. 1–16, 2019.
- SILAMBARASAN, S.; ABRAHAM. J. Mycoremediation of endosulfan and its metabolites in aqueous medium and soil by *Botryosphaeria Laricina* JAS6 and *Aspergillus Tamarii* JAS9. **PLoS ONE** v. 8, n.10, p. 1–10, 2013.
- SOARES, P. R. S.; BIROLI, W. G.; FERREIRA, I. M.; PORTO, A. L. M. Biodegradation pathway of the organophosphate pesticides chlorpyrifos, methyl parathion and profenofos by the marine-derived fungus *Aspergillus sydowii* CBMAI 935 and its potential for methylation reactions of phenolic compounds. **Marine Pollution Bulletin**, v. 166, 2021.
- SUÁREZ-ESTRELLA, F.; VARGAS-GARCÍA, V.; LÓPEZ, M. J.; CAPEL, C.; MORENO, J. Antagonistic activity of bacteria and fungi from horticultural compost against *Fusarium oxysporum* f. sp. *melonis*. **Crop Protection**, v. 26, n. 1, p. 46-53, 2007.
- SUPREETH, M.; RAJU, N.S. Biotransformation of chlorpyrifos and endosulfan by bacteria and fungi. **Applied Microbiology and Biotechnology**, v. 101, n. 15, p. 5961–5971, 2017.
- YANTO, D. H. Y., TACHIBANA, S. Potential of fungal co-culturing for accelerated biodegradation of petroleum hydrocarbons in soil. **Journal of Hazardous Materials**, v. 278, p. 454–463, 2014.
- YUAN, X.; ZHANG, X.; CHEN, X.; KONG, D.; LIU, X.; SHEN, S. Synergistic degradation of crude oil by indigenous bacterial consortium and exogenous fungus *Scedosporium boydii*. **Bioresource Technology**, v. 264, p. 190–197, 2018.

5 CAPÍTULO 3: CONSÓRCIO DE FUNGOS PARA DEGRADAÇÃO DE PARAQUAT EM REATORES COM BIOMASSA DISPERSA E IMOBILIZADA

Capítulo submetido à Revista Environmental Technology para posterior edição e publicação.
Qualis A2. ISSN: 0959-3330.

CONSÓRCIO DE FUNGOS PARA REMOÇÃO DE PARAQUAT EM REATORES COM BIOMASSA DISPERSA E IMOBILIZADA

RESUMO

Foi avaliada a habilidade de três diferentes consórcios fúngicos para a remoção de 50 mg.L⁻¹ de paraquat de meio aquoso, assim como a ação isolada de cada um dos fungos consorciados sobre o poluente. Os consórcios estudados foram: C1 (*Aspergillus niger* AN 400 + *Phanerochaete chrysosporium*), C2 (*Aspergillus niger* AN 400 + *Trametes versicolor*), e C3 (*Phanerochaete chrysosporium* + *Trametes versicolor*). O ensaio foi conduzido em reatores em batelada sob agitação orbital ao longo 7 dias, na ausência e na presença de glicose (5 g.L⁻¹), como cossubstrato. A melhor resposta foi com o uso do consórcio C1 na ausência de glicose (42,0%; kobs: 0,0779 d⁻¹; t_{1/2}: 9 dias), seguidos de *Aspergillus niger* AN 400 (37,3%; kobs: 0,0502 d⁻¹; t_{1/2}: 14 dias) e *Phanerochaete chrysosporium* (25,5%; kobs: 0,0402 d⁻¹; t_{1/2}: 17 dias), sendo estes dois últimos na presença de glicose. Ao aplicar separadamente em reatores em bateladas sequenciais e biomassa imobilizada, o consórcio C1 e o *Aspergillus niger* AN 400 foram submetidos à 50 mg.L⁻¹ de paraquat, sendo os reatores operados em 10 ciclos de 48 h. Porém o processo não foi eficiente, observando-se que o tempo reacional foi pequeno e as sucessivas exposições à concentração inicial mais elevada do herbicida contribuíram para a eficiência baixa do processo.

Palavras-chave: herbicida, inóculo consorciado, micorremediação, reatores em batelada.

ABSTRACT

The ability of three different fungal consortia to remove 50 mg.L⁻¹ of paraquat from aqueous medium was evaluated, as well as the individual action of each fungus in the consortia on the pollutant. The studied consortia were: C1 (*Aspergillus niger* AN 400 + *Phanerochaete chrysosporium*), C2 (*Aspergillus niger* AN 400 + *Trametes versicolor*), and C3 (*Phanerochaete chrysosporium* + *Trametes versicolor*). The assay was conducted in batch reactors under orbital agitation for 7 days, in the absence and presence of glucose (5 g.L⁻¹) as a cosubstrate. The best response was obtained with the use of consortium C1 in the absence of glucose (42.0%; kobs: 0.0779 d⁻¹; t_{1/2}: 9 days), followed by *Aspergillus niger* AN 400 (37.3%; kobs: 0.0502 d⁻¹; t_{1/2}: 14 days) and *Phanerochaete chrysosporium* (25.5%; kobs: 0.0402 d⁻¹; t_{1/2}: 17 days), the latter two in the presence of glucose. When applied separately in sequential batch reactors and immobilized biomass, consortium C1 and *Aspergillus niger* AN 400 were subjected to 50 mg.L⁻¹ of paraquat, with the reactors operated in 10 cycles of 48 h. However, the process was not efficient, as the reaction time was short, and the successive exposures to the higher initial concentration of the herbicide contributed to the low efficiency of the process.

Keywords: herbicide, consortium inoculum, mycoremediation, batch reactors.

INTRODUÇÃO

O paraquat tem sido amplamente utilizado como herbicida e causa efeitos perigosos para o ambiente e para o homem devido sua elevada toxicidade e letalidade. A mineralização química do paraquat é bastante complexa e de alto custo, pois possui amônio quaternário, de tamanhos moleculares muito pequenos, de tal forma que alguns tratamentos tradicionais, como coagulação, sedimentação, filtração e tratamento por membrana, não sejam adequados (NGUYEN *et al.*, 2023).

A degradação microbiana do paraquat pode levar muito tempo, sendo necessário selecionar as melhores condições e espécies específicas de microrganismos para favorecer o processo de biodegradação (NGUYEN *et al.*, 2022). O uso de consórcios microbianos pode otimizar a degradação de poluentes, pois a sinergia microbiana entre espécies que se complementam pode atenuar e remover gradualmente subprodutos formados a partir da ação sobre a molécula original, evitando o seu acúmulo no meio (DACCÓ *et al.*, 2020).

MATERIAIS E MÉTODOS

Este capítulo compreendeu o estudo sobre a degradação do herbicida paraquat através da inoculação dos fungos provenientes do Laboratório de Tecnologia Ambiental (LATAM) através da confecção de reatores monitorados de duas diferentes formas, uma batelada com biomassa fúngica dispersa e, posteriormente, uma batelada sequencial com biomassa fúngica imobilizada em esponjas de poliuretano.

Composição dos meios de cultura e preservação das cepas fúngicas

Os meios de cultura utilizados para crescimento dos fungos diferenciaram-se de acordo com as espécies, sendo adotado o *Potato Dextrose Agar* (PDA) para *Aspergillus niger* AN 400 e *Trametes versicolor*. O meio de cultura tinha em sua composição (g.L^{-1}): glicose, 2,0; infusão a partir de batatas, 200 g; ágar bacteriológico, 15 g. A quantidade de meio preparado seguiu a proporção 39 g.L^{-1} e após pesagem e diluição em água destilada, a solução foi esterilizada em autoclave por 20 minutos a $121 \text{ }^\circ\text{C}$. A mesma proporção de meio PDA foi aplicada para a espécie *Phanerochaete chrysosporium* com acréscimo de (g.L^{-1}): K_2HPO_4 , 1,0 g; $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, 0,5 g; KH_2PO_4 , 0,6 g; extrato de levedura, 2,0 g; peptona, 2,0 g; glicose, 20 g e ágar, 15 g. Em uma capela de fluxo laminar previamente esterilizada os meios de cultura foram vertidos em placas de Petri para repicagem de fungos a serem utilizados nos reatores das etapas seguintes.

Após um bom crescimento das placas que ficaram mantidas em estufa bacteriológica a cerca de 28 °C por período de sete dias, as placas foram mantidas sob refrigeração a cerca de 4 °C para manutenção a cada três meses para usos posteriores.

Teste de reatores em batelada com biomassa dispersa

Nessa etapa foi preparada uma solução aquosa na qual foi empregada glicose como cossustrato para verificarmos a sua influência na biodegradação do paraquat em meio aquoso. Foram utilizados 140 reatores divididos em duas fases: Fase I – sem cossustrato e Fase II – com cossustrato.

- *Constituição de meio sintético*

O meio sintético foi preparado a partir de água de torneira, 10% (v/v) e solução de Vishniac que possuía em sua composição: 10 g.L⁻¹ EDTA; 4 g.L⁻¹ ZnSO₄.7H₂O; 1 g.L⁻¹ MnCl₂.4H₂O; 0,32 g.L⁻¹ CoCl₂.6H₂O; 0,22 g.L⁻¹ (NH₄)₆Mo₇O₂₄.4H₂O; 1,47 g.L⁻¹ CaCl₂.2H₂O e 1 g.L⁻¹ FeSO₄.7H₂O (RODRIGUES, 2010). Em relação ao uso do pesticida optou-se pelo uso da concentração 50 mg.L⁻¹ de paraquat, visto que o crescimento em placas de Petri foi constatado em todas as concentrações testadas no capítulo anterior, que foram 10 mg.L⁻¹, 20 mg.L⁻¹, 30 mg.L⁻¹, 40 mg.L⁻¹, 50 mg.L⁻¹ e 60 mg.L⁻¹.

- *Montagem de reatores*

A montagem de reatores foi realizada em incubadora de bancada (shaker) com velocidade de 150 rotações por minuto (rpm) e temperatura de 28 ± 2 °C. Os reatores consistiram em erlenmeyers de 250 mL que receberam meio sintético com concentração 50 mg.L⁻¹ de pesticida. Após preparação de água sintética adicionada de solução de Vishniac na proporção 1mL.L⁻¹, foi medido o pH e temperatura do meio antes da distribuição nos reatores, sendo o dia do montagem considerado o dia zero (0 h) da batelada dispersa.

O tempo reacional total empregado foi de sete dias, com tempos intermediários de 1, 2, 3 e 4 dias, tanto para os reatores com inóculo de fungos isolados como para fungos em consórcios que apresentaram altas taxas de crescimento em placa realizados, conforme Capítulo 2. Foram montados reatores de controle, sem adição de inóculo fúngico para verificação de possível degradação abiótica do pesticida. Assim, foram montados 70 reatores na Fase I, na qual receberam o meio sintético sem adição de glicose e foram divididos em: 10

reatores contendo apenas meio sintético sem glicose (controle), 10 reatores com *Aspergillus niger* AN 400, 10 reatores com *Phanerochaete chrysosporium*, 10 reatores com *Trametes versicolor* e 10 para seus respectivos consórcios (I- *A. niger* AN 400 e *P. chrysosporium*; II- *A. niger* AN 400 e *T. versicolor*; III- *P. chrysosporium* e *T. versicolor*). Nesta fase nenhum reator recebeu acréscimo de cossubstrato, porém para verificação de eficiência na presença de glicose (Fase II), foram montados mais 70 reatores nas mesmas configurações, a diferença foi a adição de 5 g de glicose por litro em todos eles. Por fim os reatores foram fechados com papel alumínio e TNT para evitar fotodegradação do meio conforme representados na Figura 1.

Figura 1 – Meio sintético e reatores montados em mesa agitadora a 150 rotações por minuto (rpm).



Fonte: Autora (2024)

- *Parâmetros analisados*

As análises realizadas e respectivos métodos estão descritos na Tabela 1.

Tabela 1. Variáveis monitoradas e método utilizado.

Variáveis	Método
pH	Potenciometria (APHA, 2005)
Temperatura	Potenciometria (APHA, 2005)
Paraquat	AOAC 969.09 (2000)
DQO	(Oliveira, 2006)

Fonte: Autora (2024)

A determinação de paraquat seguiu o método AOAC 969.09 (2000) que se baseia na reação de ditionito de sódio 1% ($\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_4$) diluído em NaOH $0,1 \text{ mol.L}^{-1}$ com as amostras retiradas dos reatores. A análise consistiu em pesar 1 g de ditionito de sódio em balança

analítica e diluir em balão de 100 mL com solução NaOH, do qual foram retirados 5 mL e acrescentados em balões de 50 mL que continham 2,5 mL de amostra de cada reator e, por fim, aferidos com água destilada sendo obtida uma coloração azul conforme Figura 2 . Após homogeneização lenta dos balões as leituras foram feitas em espectrofotômetro em comprimento de onda 600 nm.

Figura 2 – Diluições para curva de determinação de paraquat.



Fonte: Autora (2024)

Além dos parâmetros pH, temperatura, DQO e paraquat analisados, foi acompanhada a atividade da enzima Manganês Peroxidase (MnP) na presença de 0,4 mL de $MnSO_4$, 3 mL de tartarato duplo de sódio e potássio; 0,6 mL de peróxido de hidrogênio e 0,6 mL de fenol. A reação foi realizada com 3 mL de alíquotas dos reatores. O monitoramento foi realizado em espectrofotômetro no comprimento de onda de 460 nm, durante 10 minutos.

A atividade da enzima Lacase (Lac) foi determinada com 0,3 mL de ABTS (2,2'-azinobis (3- etilbenzotiazolina-6-ácido sulfônico) e 0,3 mL de tartarato duplo de sódio e potássio. A reação foi realizada com 0,3 mL de amostra e o monitoramento por 5 minutos em espectrofotômetro no comprimento de onda de 490 nm.

Todos os resultados de atividade enzimática foram calculados a partir da fórmula:

$$\text{Atividade enzimática (U)} = (\Delta \text{ Absorbância} \times 10^6) / (\xi \times R \times t)$$

Em que: Δ Absorbância = Absorbância final - Absorbância inicial; ξ = coeficiente de absorção molar; R = volume (mL); 10^6 = conversão da medida para litro; t = tempo de reação (min.).

Ambas enzimas estudadas foram determinadas conforme método descrito por Asemoloye *et al.* (2020). No caso da lacase, uma unidade de atividade de enzima é definida como a quantidade de enzima necessária para oxidar 1 μmol do substrato ABTS por minuto,

utilizando o coeficiente de absorção molar de $36000 \text{ M}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$, enquanto para enzima manganês peroxidase uma unidade de atividade enzimática corresponde à formação de $1 \mu\text{mol}/\text{min}$ do produto, considerando $\epsilon = 6500 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$.

Teste de reatores em batelada com biomassa imobilizada

Nesta etapa foram montados dois reatores com as espécies que apresentaram maior redução da concentração de pesticida realizada na batelada com biomassa dispersa. Foram utilizados dois frascos de Duran de capacidade de 5 L e volume útil de 4 L, nos quais foram inseridos 15 g de espuma de poliuretano como material suporte. A espuma foi cortada em cubos de 2 cm de aresta, posteriormente lavados com água e sabão e armazenados em estufa de secagem à temperatura de cerca de $80 \text{ }^\circ\text{C}$ durante 3 horas.

- *Montagem de reatores*

A montagem de dois reatores foi realizada a partir de um meio basal com condições que favorecessem o crescimento dos fungos a serem inoculados. O meio foi constituído por ($\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$): glicose (1); $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ (0,25); NaNO_3 (0,25); K_2HPO_4 (0,2); $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ (0,4); H_2MoO_4 (0,05); $\text{MnSO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ (0,05); $\text{Fe}_2(\text{SO}_4)_3 \cdot \text{H}_2\text{O}$ (0,05); $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ (0,04) e $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ (2,0) (RODRIGUES *et al.*, 2010). Inicialmente o meio com nutrientes foi esterilizado em autoclave por 20 minutos juntamente com as esponjas dispostas em sacos de polietileno. Após atingir temperatura ambiente e a adição de antibiótico e solução de Vishniac, um dos reatores foi inoculado com *plugs* de *Aspergillus niger* AN 400 e o outro inoculado com *plugs* de *Aspergillus niger* AN 400 e *Phanerochaete chrysosporium* para compor o consórcio imobilizado, ambos reatores na proporção $50 \text{ plugs} \cdot \text{L}^{-1}$.

Os fungos utilizados nesta etapa foram as espécies que se mostraram mais aptas a degradarem o pesticida nas bateladas anteriores, no caso, *A. niger* AN 400 e *P. chrysosporium*. Diferentemente do cultivo realizado para uso da batelada agitada com biomassa dispersa, em que havia apenas o meio propício para crescimento, constituído pelo meio PDA, estes fungos foram repicados de forma a adaptá-los à presença do pesticida, sendo assim, após esterilização dos meios descritos anteriormente, antes dos mesmos serem distribuídos nas placas de Petri foi adicionado 1 mL de pesticida na concentração estudada, 50 mg L^{-1} .

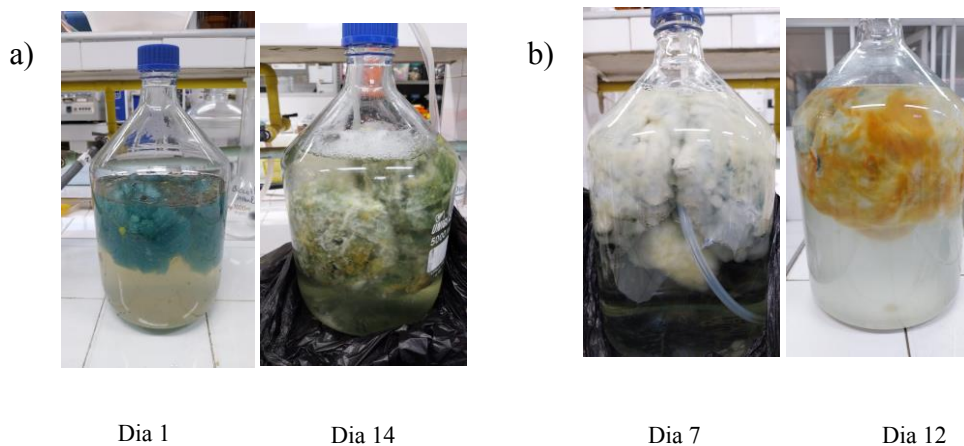
As repicagens ocorridas em placas com a presença do pesticida duraram quatro

semanas. A cada nova semana foram preparadas triplicatas para ambos fungos e, ao final da quarta semana, esses últimos cultivos foram utilizados para inocular os reatores.

Após inoculação dos reatores e passada as primeiras 24 horas, foram utilizados mini compressores para garantir a aeração dos dois sistemas. A cada dois dias o meio era renovado, mantendo-se essa condição até o crescimento da biomassa, o que durou 12 dias para crescimento dos fungos no reator com inóculo consorciado e 17 dias, para crescimento de *A. niger* AN 400 no reator que o recebeu como inóculo isolado (Figura 3). Após o crescimento da biomassa nos reatores foi iniciada sua operação, com a adição do mesmo meio sintético utilizado na batelada de biomassa dispersa, composto de água de torneira, solução de Vishniac e paraquat na concentração 50 mg.L^{-1} , porém a este meio além do componentes citados foi adicionado $0,1 \text{ g L}^{-1}$ de antibiótico Megacilin Super Plus com intuito de minimizar a presença de bactérias.

A operação dos reatores ocorreu em ciclos de 48 horas, sendo 2 ciclos por semana, totalizando 10 ciclos operacionais.

Figura 3 – Reatores inoculado com *A.niger* AN 400 (a) e consórcio *A. niger* AN 400 e *P. chrysosporium* (b).



Fonte: Autora (2024)

Teste de saturação do material suporte suporte e obtenção de parâmetros cinéticos

Para avaliação da saturação no meio de suporte dos reatores com biomassa imobilizada foi utilizado um béquer com capacidade de 5 litros. O béquer recebeu quantidade equivalente a 15 gramas das mesmas espumas de poliuretano utilizadas para imobilização da biomassa nos reatores. Previamente, as espumas foram submetidas a uma lavagem com água e sabão neutro, seguida de secagem em estufas e, por fim, pesagem. Posteriormente, as espumas

foram autoclavadas e colocadas no béquer que continha a mesma solução empregada nos experimentos anteriores contendo concentrações idênticas de pesticida e de Vishniac.

Com o sistema montado, procedeu-se ao monitoramento da adsorção nas espumas. A cada intervalo de 10 minutos, uma amostra da solução foi retirada e armazenada para analisarmos a concentração inicial e final do meio e para encontrar a massa total do pesticida adsorvido no material suporte aplicamos a equação (1):

$$(mg) = (C_0 - C_e) \times V \text{ (mg.L}^{-1}\text{)} \quad (1)$$

Sendo C_0 : concentração inicial de paraquat; C_e : concentração final de paraquat; V : volume (L).

A constante cinética de proporcionalidade k_{obs} foi obtida segundo equação de primeira ordem (Equação 2) e o tempo de meia vida ($t_{1/2}$), pela Equação 3.

$$\ln \left[\frac{C_t}{C_0} \right] = -k \cdot t \quad (2)$$

$$t_{1/2} = \frac{0.693}{k} \quad (3)$$

Onde: t é o tempo de biodegradação, C_t é a concentração residual de paraquat no tempo t e C_0 é sua concentração inicial.

Após a obtenção dos dados, realizou-se análise estatística descritiva e teste de normalidade de Shapiro-Wilk, a comparação entre grupos foi realizada através do teste de Kruskal Wallis.

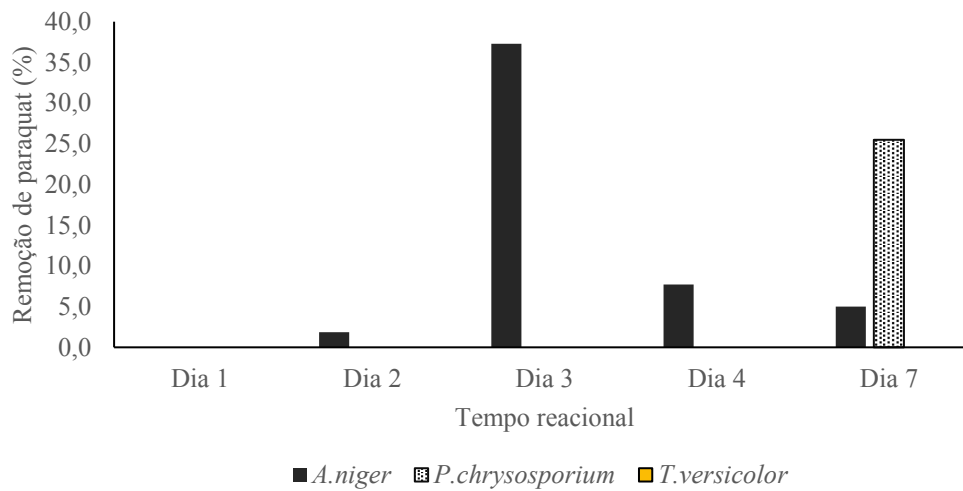
RESULTADOS E DISCUSSÃO

Batelada agitada com biomassa dispersa

Na Fase I, sem adição de glicose como cossubstrato, para os reatores com inóculo isolado de *Aspergillus niger* AN 400, *Phanerochaete chrysosporium* e *Trametes versicolor* não houve biodegradação de pesticida. Nos reatores com *A. niger* AN 400, apenas no terceiro dia dentre os sete dias de tempo reacional, a partir da concentração inicial de 52 mg.L⁻¹, foi registrada 4,3%±1 de remoção, sendo ainda menor o percentual registrado para *P. chrysosporium*, de 3,4%±2, também no terceiro dia.

Ainda em relação ao emprego de inóculo isolado, na Fase II, com adição de 5 g.L⁻¹ de glicose, foi observada uma remoção de 25,5%±0,7 de paraquat ao final do tempo reacional de 168 horas, também para a concentração inicial de 52 g.L⁻¹ por *P. chrysosporium*. Nos reatores que receberam inóculo de *A. niger* AN 400 a adição de glicose incrementou a biodegradação de paraquat que de 4,3%±1, obtido na ausência do cossubstrato, passou para 37,3%±3, percentual este registrado no terceiro dia da batelada (Figura 4).

Figura 4 – Remoção de paraquat em batelada com biomassa dispersa de fungos isolados na presença de glicose.



Fonte: Autora (2024)

O uso da glicose também foi avaliado por Bermúdez (2018) que estudou biodegradação de paraquat 30 mg.L⁻¹ em batelada agitada com biomassa dispersa, sendo aplicados dois cossubstratos: glicose e sacarose. A maior média de remoção encontrada foi de 20% com adição de 4g.L⁻¹ de glicose e remoção 19,6%±5 com adição de sacarose 3 g.L⁻¹, ambos valores menores que *A.niger* AN 400 conseguiu atingir neste trabalho com concentração maior, 50 mg.L⁻¹ de paraquat. O fungo *P. chrysosporium* também foi testado em quatro concentrações de glicose (0,5 g.L⁻¹, 1,0 g.L⁻¹; 3,0 g.L⁻¹ e 4,0 g.L⁻¹) e a melhor média de remoção utilizando glicose foi 15,6%±2, no caso, com glicose 3,0 g.L⁻¹

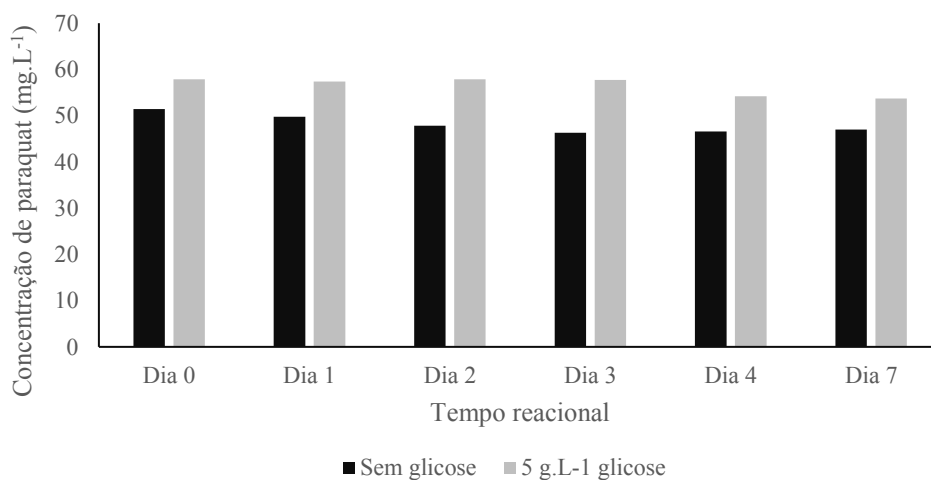
Nos reatores que continham apenas o fungo *T. versicolor* não foi observada remoção de pesticida, tanto na ausência como na presença de glicose, de modo que esta espécie não se mostrou capaz de remediar pesticida em meio líquido.

Assim, considerando a ação individual, na forma de inóculo isolado aplicado aos reatores, as maiores eficiências foram exibidas pelos fungos *A.niger* AN 400 e *P.*

chryso sporium na presença de glicose, de $37,3\% \pm 3$ e $25,5\% \pm 0,7$ respectivamente, o que indica que a maior disponibilidade de carbono de fácil assimilação auxilia os fungos na maior tolerância ao pesticida, o que segundo Griffin (1994) estaria relacionado ao fato de que durante o uso da fonte primária de carbono serem gerados compostos secundários que desempenham papel importante na ativação do sistema enzimático.

Nos reatores de controle também não foi observada variação relevante da concentração do paraquat, tanto nos reatores de controle com glicose quanto nos que não a receberam (Figura 5).

Figura 5 – Variação de paraquat em reatores controle.

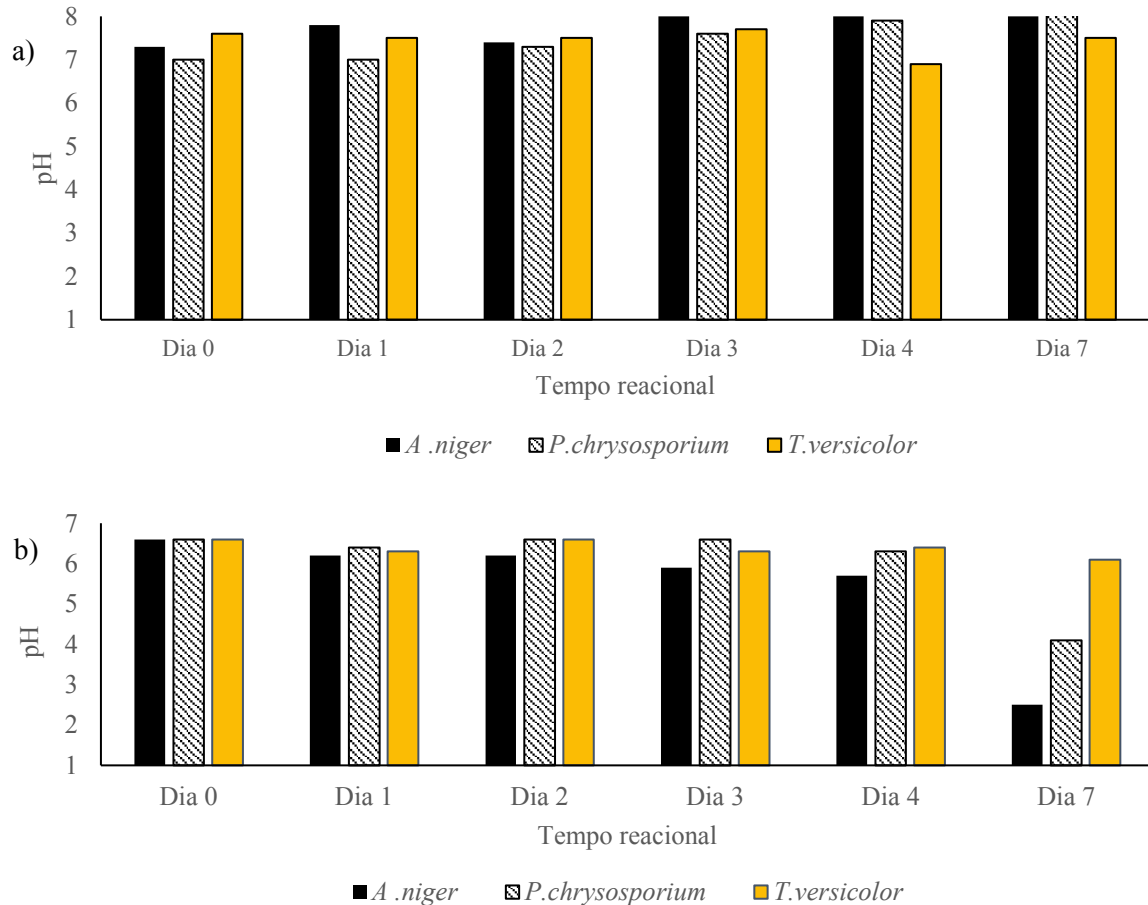


Fonte: Autora (2024)

Nesses reatores, no último dia de batelada, foram registradas remoções de paraquat de apenas $7,27\% \pm 0,4$ e $2,92\% \pm 0,5$, respectivamente, nos reatores de controle com e sem adição de glicose ao meio. O pH nos reatores de controle com e sem glicose chegou, respectivamente, a $6,0 \pm 0,2$ e $6,8 \pm 0,3$ e no último dia de batelada, sendo o pH inicial de $7,05 \pm 0,3$.

Em relação ao pH, em todos os reatores com fungos isolados, na ausência de glicose, (Fase I), houve tendência a elevar seu valor em comparação com a Fase II, quando foi adicionada glicose (Figura 6).

Figura 6 – pH em reatores com biomassa dispersa de fungos isolados a) sem glicose e b) com 5 g.L⁻¹ glicose.



Fonte: Autora (2024)

Nos reatores com *A. niger* AN 400 em que foi adicionada a glicose, houve grande diminuição do pH, principalmente no último dia, chegando a 2,5. Nestes reatores o valor médio do pH ao longo do tempo de operação foi $5,3 \pm 0,3$. Já na ausência da glicose, os reatores com *A. niger* AN 400 mantiveram um valor médio de pH de $7,8 \pm 0,6$. Justamente, nos reatores com *A. niger* AN 400 e glicose, onde o valor do pH foi menor, com meio mais acidificado, ocorreu melhor remoção do paraquat ($37,3\% \pm 3$), tendo-se verificado nesses reatores atividade enzimática de $0,01 \text{ U.mL}^{-1} \pm 0,01$, tanto para lacase como para Mn peroxidase. Embora essas enzimas tenham pH ótimo na faixa ácida e estejam relacionadas à biodegradação de compostos aromáticos diversos por fungos filamentosos, nas condições estudadas, sua atividade não foi elevada.

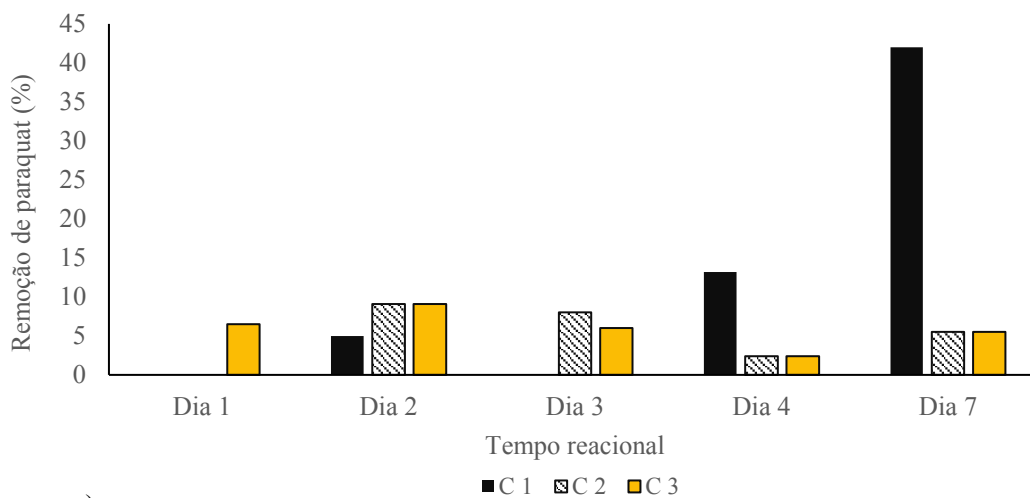
Lira e Orlanda (2020) registraram atividade lacase $0,712 \text{ U.mL}^{-1}$ por *Syncephalastrum racemosum* ao degradar $15 \text{ }\mu\text{g.mL}^{-1}$ de carbofuran. Contudo, especificamente, a lacase é uma enzima influenciada por vários parâmetros, desde a agitação, temperatura, tempo de cultivo, relação C/N, entre outros, tratando-se de uma enzima de baixa especificidade em relação ao substrato.

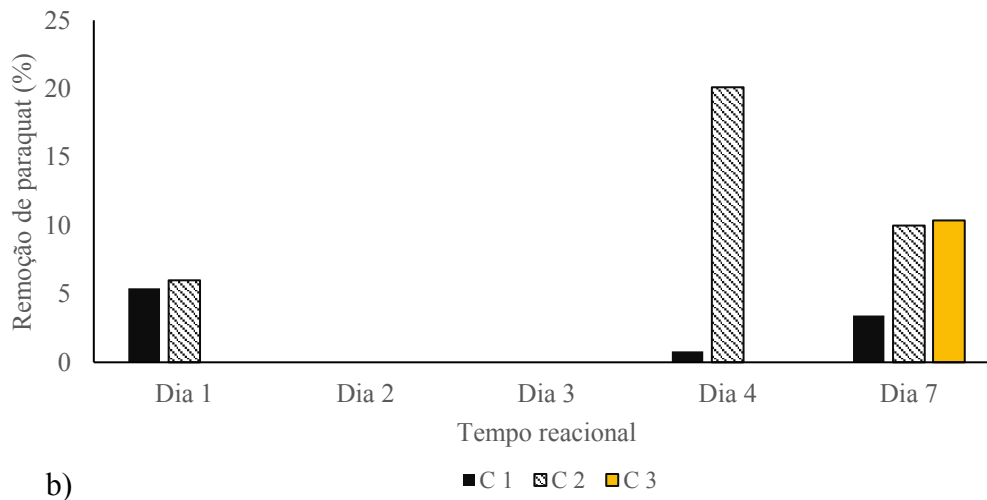
Para o *P. chrysosporium*, nos reatores nos quais não foi adicionada a glicose, o valor médio de pH foi de $7,6\pm 0,5$, enquanto que nos que continham glicose, o pH médio foi de 6, de modo que para esta espécie a adição da glicose resultou na obtenção de uma remoção do pesticida quase oito vezes maior que a registrada quando da sua ausência, cujos valores de remoção foram de $25,5\%\pm 0,7$ e $3,4\%\pm 1$, respectivamente.

Nos reatores com *T. versicolor* o valor médio do pH foi de $7,4\pm 0,4$ na ausência de glicose, sendo que quando a glicose foi adicionada, o pH médio foi de $6,3\pm 0,8$. Apesar dessa diferença, não houve eficiência de remoção de paraquat e de matéria orgânica.

Ao se verificar a ação dos fungos consorciados, o melhor resultado obtido foi na Fase I, na ausência de cossubstrato. A variação da eficiência dos reatores consorciados ao longo do tempo é observada na Figura 7, tendo-se os consórcios C1 (*A. niger* AN 400 e *P. chrysosporium*), C2 (*A. niger* AN 400 e *T. versicolor*) e C3 (*P. chrysosporium* e *T. versicolor*).

Figura 7 – Remoção de paraquat em batelada com biomassa dispersa de fungos consorciados na ausência de glicose (a) e presença de glicose (b).





Fonte: Autora (2024)

O ensaio com os reatores em batelada e biomassa dispersa confirmou que houve variação no comportamento das espécies de fungos no que diz respeito à sua tolerância e potencial de degradação na presença e ausência da glicose, em função de estarem ou não consorciadas. O sinergismo fungo-fungo do consórcio *A. niger* AN 400 e *P. chrysosporium*, na ausência de cossustrato foi melhor que quando os fungos estiveram em contato com paraquat de forma isolada, pois resultou em $42\% \pm 4$ de degradação, frente aos $37,3\% \pm 3$ de *A. niger* AN 400 e $25,5\% \pm 0,7$ de *P. chrysosporium*, ambos com presença de glicose.

A constante cinética de proporcionalidade k , segundo equação de primeira ordem (Equação 1), e o tempo de meia vida ($t_{1/2}$), Equação 2, tem seus valores apresentados na Tabela 2.

$$\ln \left[\frac{C_t}{C_0} \right] = -k \cdot t \quad (1)$$

$$t_{1/2} = \frac{0,693}{k} \quad (2)$$

Onde: t é o tempo de biodegradação, C_t é a concentração residual de paraquat no tempo t e C_0 é sua concentração inicial.

Tabela 2 - Valores de k_{obs} e R^2 do decaimento de paraquat nos reatores de controle e reatores com inóculo isolado e consorciado de *Aspergillus niger* AN 400 e *Phanerochaete chrysosporium*, na ausência e presença de glicose.

Reator	Cossustrato	k_{obs} (d^{-1})	R^2	$t_{1/2}$ (d)
<i>Aspergillus niger</i> AN 400	Ausente	0,00840	0,8992	83
<i>Phanerochaete chrysosporium</i>		0,0062	0,8686	112
<i>Aspergillus niger</i> AN 400 +		0,0779	0,8810	9
<i>Phanerochaete chrysosporium</i>				
Controle		0,0016	0,9081	433
<i>Aspergillus niger</i> AN 400	5 g.L ⁻¹ de glicose	0,0502	0,8585	14
<i>Phanerochaete chrysosporium</i>		0,0402	0,8600	17
<i>Aspergillus niger</i> AN 400 +		0,0090	0,7743	77
<i>Phanerochaete chrysosporium</i>				
Controle		0,01020	0,8169	68

Fonte: Autora (2014)

Observou-se que o maior valor da constante de proporcionalidade k_{obs} foi alcançado nos reatores com inóculo isolado de *A. niger* AN 400 adicionado de glicose (5 g.L⁻¹), de 0,0502 d⁻¹, seguido de *P. chrysosporium* (0,0402 d⁻¹). Contudo, o emprego de inóculo consorciado dispensou a adição de glicose e resultou em um percentual de remoção melhor do paraquat (42%) e em maior valor de k_{obs} (0,0779 d⁻¹) nos reatores que receberam como inóculo o consórcio de *A. niger* AN 400 e *Phanerochaete chrysosporium*, com um tempo de meia vida do poluente de 9 dias, o menor observado, sendo a maior, de 112 dias, para o *P. chrysosporium* na ausência de glicose, quando se obteve também o menor k_{obs} (0,0062 d⁻¹), indicando a necessidade da adição de cossustrato para facilitar a biodegradação do paraquat quando da ação de uma única espécie.

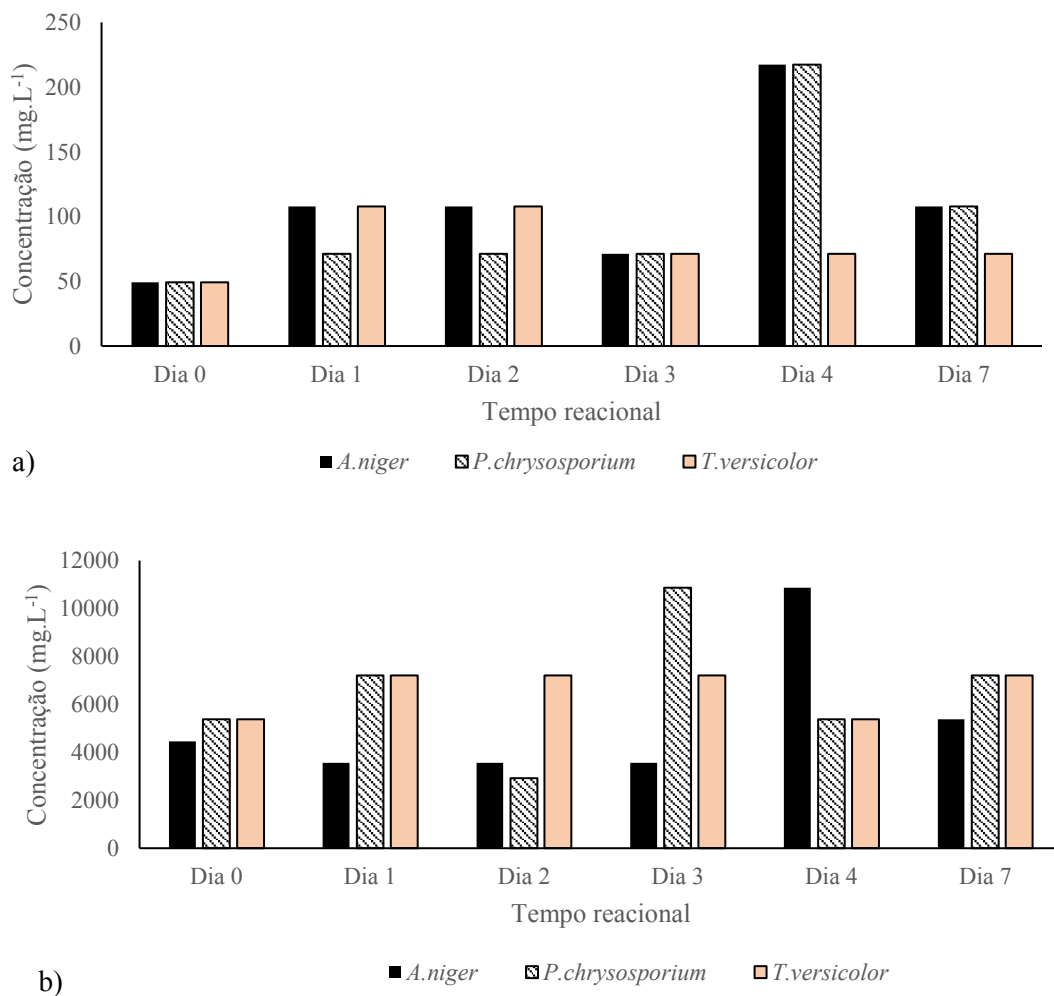
Em relação à matéria orgânica total, em termos de DQO, na Figura 8 é mostrada sua variação ao longo do tempo nos reatores que continham inóculo de forma isolada. Na Fase I, os fungos isolados não removeram matéria, no que todas as espécies contabilizaram 49,1 mg.L⁻¹ no dia zero do tempo reacional, com flutuações que alcançaram entre 71,1 mg.L⁻¹ a 107, 7 mg.L⁻¹ no final da batelada com sete dias. *A. niger* AN 400 e *P. chrysosporium* finalizaram com essa mesma concentração em torno de 107 mg.L⁻¹, porém quando foram

consorciados alcançaram 50% remoção da demanda química de oxigênio, que decresceu em termos de concentração de 144,28 mg.L⁻¹ para 71,1 mg.L⁻¹ no final do tempo reacional. Este consórcio foi o que melhor degradou o paraquat, com remoção de 42% na ausência da glicose.

Quanto à Fase II, fungos isolados não apresentaram remoção, sendo *P. chrysosporium* e *T. versicolor* os reatores que saíram de 5385,3 mg.L⁻¹ de DQO inicial para 7213,9 mg.L⁻¹ no último dia da batelada e *A. niger* AN 400 de 2460 mg.L⁻¹ para 5385,3 mg.L⁻¹.

O aumento nos valores de DQO, tanto nos reatores com e sem glicose refletem o crescimento de biomassa, uma vez que é possível observar valores maiores que o inicial, com um pico no 4º dia para *Aspergillus niger* AN 400.

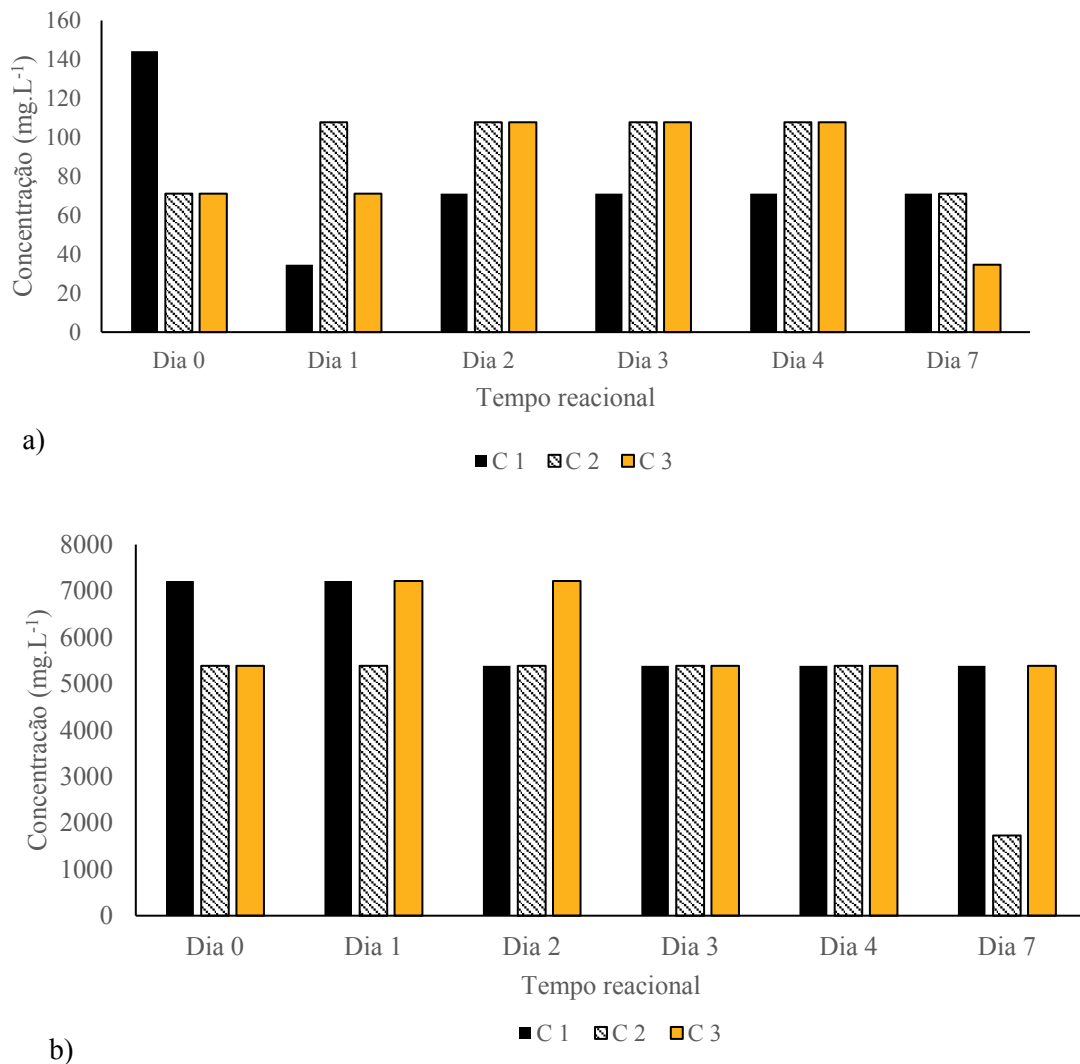
Figura 8 – Remoção de DQO em batelada com biomassa dispersa de fungos isolados a) sem glicose e b) com 5 g.L⁻¹ glicose.



Fonte: Autora (2024)

Na Figura 9 são mostradas as variações da matéria orgânica total nos reatores que receberam inóculo consorciado. Nesses reatores, assim como nos reatores com inóculo isolado, não houve remoção de DQO, ainda que não tenha sido elevada.

Figura 9 – Remoção de DQO em batelada com biomassa dispersa de fungos consorciados a) sem glicose e b) com 5 g.L⁻¹ glicose.



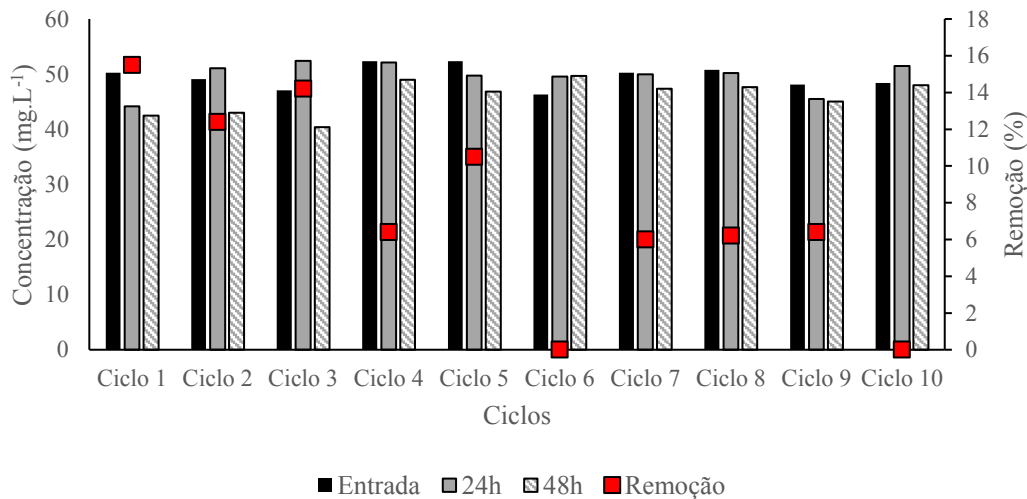
Fonte: Autora (2024)

Reatores em bateladas sequenciais e biomassa imobilizada

A imobilização de biomassa comumente é citada como mais vantajosa para microrganismos devido à oferta de maiores chances de desenvolvimento. Porém, embora *Aspergillus niger* AN 400 no ensaio em batelada com biomassa dispersa na presença de

glicose tenha alcançado eficiência de $37,3\% \pm 3$, seu desempenho no reator em bateladas sequenciais, onde teve sua biomassa imobilizada, não foi bom, pois ao longo dos ciclos não houve um padrão de remoção (Figura 10).

Figura 10 – Concentração de paraquat e remoção em reator com biomassa imobilizada de *A.niger* AN 400 com glicose.



Fonte: Autora (2024)

Verificou-se que os valores de remoção de paraquat nesse reator foram decrescentes com o passar dos ciclos, sendo a maior remoção de 15,5%, no primeiro ciclo, sendo que principalmente nos primeiros ciclos espera-se, em parte, influência da adsorção inicial do poluente ao micélio fúngico e no material suporte, já que tanto o micélio quanto a espuma de poliuretano são considerados bons adsorventes (SMITH; LEON, 1977; BARBOSA, 2016).

Nessa condição imposta, para uma mesma concentração inicial de 50 mg.L^{-1} , os fungos tiveram tempo menor para degradar o paraquat, de apenas 48 horas (2 dias), sendo que na batelada dispersa, o tempo de reação foi de 7 dias. Além disso, a carga aplicada de paraquat manteve-se praticamente constante a cada 48 horas ($4,17 \text{ mg.h}^{-1}$), exercendo efeito tóxico, o que deve ter ocasionado o mau desempenho do sistema.

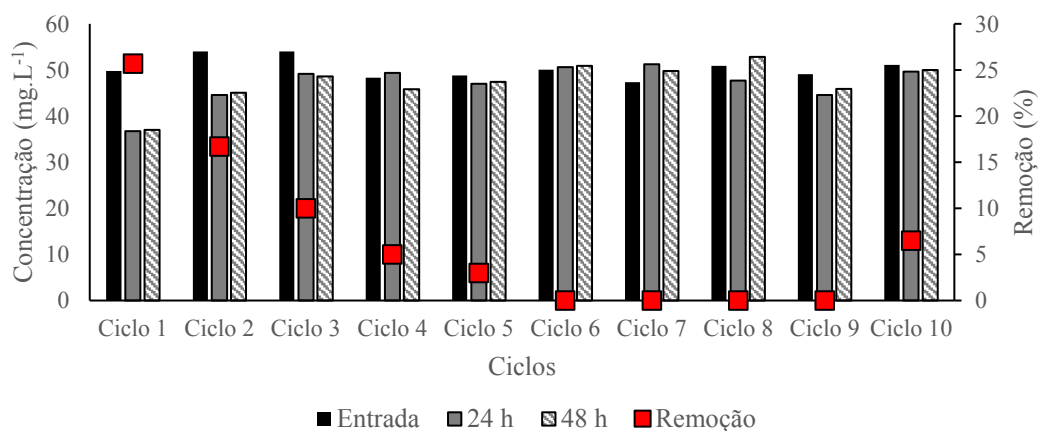
Assim, há necessidade de maior tempo de ciclo ou menor carga aplicada do herbicida. No trabalho de Ahmad (2020), foi observada que a degradação de endossulfan (10 mg.L^{-1}) em meio aquoso por *A. terreus*, *A. niger*, *A. flavus* e *P. chrysogenum* não foi muito notável nos três primeiros dias, mas com passar do tempo, houve aumento significativo de sua remoção, chegando a 59%, ao final de 35 dias.

Por outro lado, observa-se que a concentração de pesticida à qual o microrganismo é submetido tem forte influência sobre seu crescimento. Concentrações mais elevadas do poluente inibem o crescimento microbiano, como descrito por Nguyen *et al.* (2023) que verificou a diminuição do número de células de *Pseudomonas putida* de 10^{11} UFC.mL⁻¹ para $21 \cdot 10^8$ UFC.mL⁻¹, respectivamente na ausência e na presença de 58 ppm de paraquat.

O mesmo declínio do processo foi observado no reator em bateladas sequenciais com biomassa imobilizada do consórcio *A. niger* AN 400 e *P. chrysosporium*, conforme Figura 11. A operação seguiu sem adição de glicose como cossustrato em face dos resultados do ensaio com os reatores em batelada e biomassa dispersa, porém, assim como o reator sequencial com *A. niger* AN 400, a maior remoção do paraquat ocorreu no primeiro ciclo (25,7%).

Por fim, não foram encontradas diferenças estatísticas significativas entre os grupos de reatores ($p > 0,05$) para os dois tempos (24 e 48 h).

Figura 11 – Concentração de paraquat e remoção em reator consórcio com biomassa imobilizada de *A. niger* AN 400 e *P. chrysosporium*.



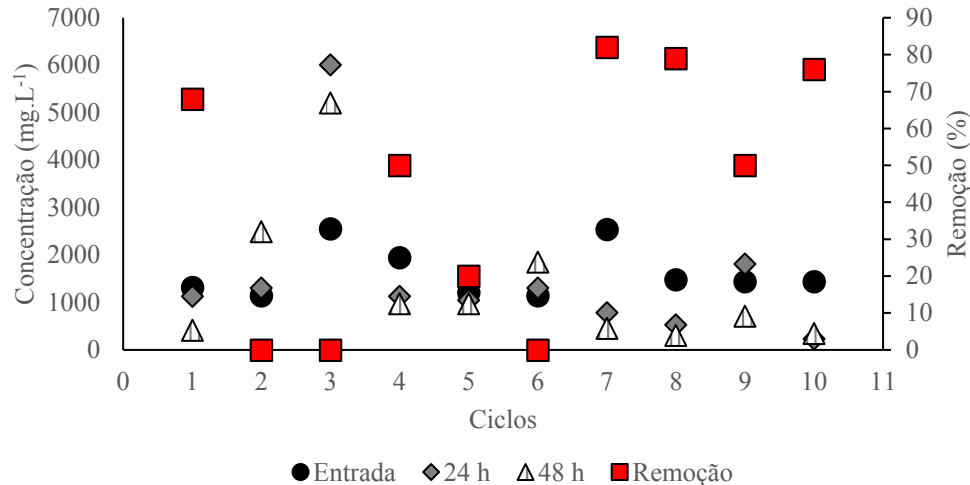
Fonte: Autora (2024)

Nas Figuras 12 e 13 é apresentado o comportamento dos reatores em bateladas sequenciais quanto à remoção de matéria orgânica, em termos de DQO, respectivamente, para o reator com biomassa imobilizada de *Aspergillus niger* AN 400 e biomassa imobilizada do consórcio *Aspergillus niger* AN 400 e *Phanerochaete chrysosporium*.

Observou-se que no reator contendo inóculo apenas de *Aspergillus niger* AN 400, a média da eficiência de remoção de DQO nos ciclos estudados foi de 42,5%, com remoção máxima de 82% no 7º ciclo (Figura 12) e sem remoção nos 2º, 3º e 6º ciclos. Já no reator com biomassa imobilizada do consórcio *A. niger* AN 400 e *Phanerochaete chrysosporium*, foi

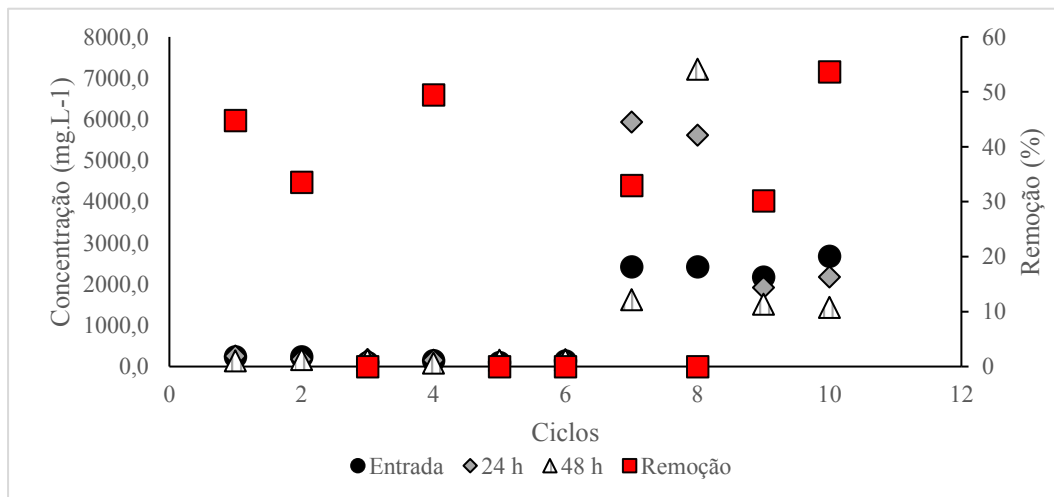
registrada neste reator remoção de DQO de 44,8%, no primeiro ciclo, sendo que não ocorreu remoção nos ciclos 3, 5, 6 e 8 (Figura 13).

Figura 12 - Variação da concentração de matéria orgânica da eficiência de sua remoção do meio no reator em bateladas sequenciais com biomassa imobilizada de *A. niger* AN 400.



Fonte: Autora (2024)

Figura 13 - Variação da concentração de matéria orgânica da eficiência de sua remoção do meio no reator em bateladas sequenciais com biomassa imobilizada de *A. niger* AN 400 e *Phanerochaete chrysosporium*.



Fonte: Autora (2024)

Curiosamente, o acompanhamento da atividade enzimática realizado durante esse período demonstrou que a mesma foi superior ao encontrado durante o ensaio com reatores em batelada e biomassa dispersa, principalmente no reator sequencial contendo apenas *A.*

niger AN 400, com atividade média de lacase de $0,018 \pm 0,01$ U.mL⁻¹ e $0,011 \pm 0,04$ U.mL⁻¹ de Mn peroxidase, no final do ciclo de operação (48 h). A atividade média de lacase e de Mn peroxidase foi de $0,01 \pm 0,02$ U.mL⁻¹ e $0,015 \pm 0,01$ U.mL⁻¹, respectivamente, no final do ciclo de 48 h, no reator que recebeu biomassa imobilizada do consórcio *Aspergillus niger* AN 400 e *Phanerochaete chrysosporium*.

A adaptação dos fungos a ambientes em condições adversas pode afetar o sistema enzimático e as vias metabólicas, com a inibição parcial da respiração mitocondrial (OLIVEIRA *et al.*, 2013), o que teria contribuído para a baixa atividade enzimática e ainda para a baixa eficiência de remoção de paraquat, uma vez que estão envolvidas na degradação de vários compostos aromáticos persistentes (CAMACHO-MORALES *et al.*, 2017).

A lacase é uma polifenoloxidase, produzida amplamente por diferentes fungos e de muita aplicação na descontaminação de ambientes poluídos com compostos aromáticos, e a Mn peroxidase é uma glicoproteína (fenol oxidase), potente na degradação de lignina e compostos relacionados (OLIVEIRA, 2008).

Hussain *et al.* (2007) observaram remoção de endossulfan (100 mg.L^{-1}) por *Aspergillus terricola*, *Aspergillus terreus* e *Chaetosartorya stromatoide*, após 12 dias de incubação a 30 °C em solo com pH entre 3 e 4,5, a partir de pH inicial de 4, reportando ainda que até o 3º dia os fungos estiveram na fase *lag* de crescimento. Os autores mencionaram que a degradação do endossulfan sofreu desalogenação, resultando posteriormente em ácidos orgânicos e inorgânicos que teriam diminuído drasticamente o pH do meio, sendo mediada por enzimas oxidativas.

Nesta pesquisa, o pH médio do efluente dos ciclos operacionais foi de 6,5 e 6,0, respectivamente para o reator com biomassa imobilizada de *Aspergillus niger* AN 400 e de *Aspergillus niger* AN 400 e *Phanerochaete chrysosporium*, sendo que o pH médio afluente foi de $7,1 \pm 0,3$ e $6,3 \pm 0,6$ respectivamente. Esses valores de pH não são ótimos para a obtenção da máxima atividade enzimática de lacase e de Mn peroxidase. Segundo observações de Vignali *et al.* (2018), Mn peroxidase e lacase exibem máxima atividade a pH 6 e 4, respectivamente, ficando o efluente final fora desses valores, ainda que o meio se caracterize como ácido.

O ensaio de adsorção realizado com a espuma de poliuretano suporte revelou que a capacidade deste material de adsorver o paraquat foi de $0,000808 \text{ g/g}$, sendo que ao longo dos ciclos operacionais dos reatores foram aplicadas e removidas as massas do herbicida conforme apresentado na Tabela 3.

Tabela 3 - Eficiência média de remoção nos reatores em batelada sequencial com biomassa imobilizada de *Aspergillus niger* AN 400 e *Aspergillus niger* AN 400 + *Phanerochaete chrysosporium*.

Reator	Massa aplicada (g)	Eficiência média de remoção (%)	Massa removida (g)
<i>Aspergillus niger</i> AN 400	1593,68	8,75	128,28
<i>Aspergillus niger</i> AN 400 + <i>Phanerochaete chrysosporium</i>	2013,20	6,00	119,96

Fonte: Autora (2024)

Observou-se que embora a massa retida nos reatores tenha sido baixa, ainda assim, a remoção pode ser atribuída em maior parte pela ação dos fungos, uma vez que para os 15 g de espuma presentes como suporte em cada reator, a massa retida por grama de espuma resultou em 0,0086 g/g e 0,0080 g/g, respectivamente, nos reatores com inóculo de *A. niger* AN 400 e inóculo consorciado, sendo esses valores cerca de 16 e 15 vezes superior à capacidade de adsorção da espuma de adsorver o herbicida.

CONCLUSÃO

Os dados do ensaio em batelada com biomassa dispersa indicaram que a remoção do paraquat do meio pelos fungos foi favorecida pela adição de glicose (5 g.L⁻¹) como cossustrato nos reatores com inóculo isolado, destacando-se a espécie *Aspergillus niger* AN 400 que obteve a maior eficiência de remoção do meio, de 37,3%, seguida de *Phanerochaete chrysosporium*, com 25,5%, para a concentração inicial estudada. *Trametes versicolor* não foi eficiente na descontaminação do meio contendo paraquat nas condições testadas neste estudo.

Porém, a aplicação dos fungos de forma consorciada dispensou a adição de glicose, sendo que foi possível a obtenção de maior eficiência de remoção do paraquat (42%) nos reatores que continham inóculo do consórcio *Aspergillus niger* AN 400 + *Phanerochaete*

chryso sporium, o que demonstra sua grande viabilidade no processo de biorremediação do paraquat, uma vez que não requer a adição de cossustrato.

Para aplicação de reatores em bateladas com biomassa imobilizada, o tempo reacional de cada ciclo de 48 horas não foi suficiente para que os fungos pudessem utilizar o poluente e a repetição de ciclos sucessivos com aplicação da mesma carga de paraquat manteve os microrganismos sob efeito tóxico que resultou na falência do processo, sendo necessário novos estudos com aplicação de maiores tempos de reações para as condições propostas neste estudo.

REFERÊNCIAS

- AOAC - ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTRY. Official Methods 969.09: Paraquat in pesticide formulations (spectrophotometric method), official methods of analysis of AOAC International. 17^a ed. Arlington, USA, 2000.
- AHMAD, K. S. Remedial potential of bacterial and fungal strains (*Bacillus subtilis*, *Aspergillus niger*, *Aspergillus flavus* and *Penicillium chrysogenum*) against organochlorine insecticide Endosulfan. **Folia Microbiologica**, v. 65, n. 5, p. 801–810, 2020.
- APHA- ASSOCIATIO, AMERICAN PUBLIC HEALTH. **Standard methods for the examination of water and wastewater**. 21. ed. Washington: American Health Association, 2005.
- BARBOSA, B.C.A. Micodegradação de metil paration e atrazina em matriz aquosa sintética utilizando *Aspergillllus niger* AN 400. 125f. Tese (Doutorado). Universidade Federal do Ceará, Centro de Tecnologia, Programa de Pós Graduação em Engenharia Civil: Saneamento Ambiental, Fortaleza, 2016.
- CAMACHO-MORALES, R.L.; GUILLÉN-NAVARRO, K.; SÁNCHEZ, J.E. Degradation of the herbicide paraquat by macromycetes isolated from southeastern Mexico. 3 **Biotech** v. 7, n. 324, p. 1–10, 2017.
- DACCÒ, C.; GIROMETTA, C.; ASEMOLoyE, M. D.; CARPANI, G.; PICCO, A. M.; TOSI, S. Key fungal degradation patterns, enzymes and their applications for the removal of aliphatic hydrocarbons in polluted soils: a review. **International Biodeterioration and Biodegradation**, v. 147, 2020.
- GRIFFIN, D. H. Fungal physiology. 2 nd ed. 458 p. Wiley-Liss, New York, 1994.
- HAMAD, M.T.M.H. 2020. Biodegradation of diazinon by fungal strain *Aspergillus niger* MK640786 using response surface methodology. **Environmental Technology and Innovation**, v.18, 2020.

- HUSSAIN, S.; ARSHAD, M.; SALEEM, M.; ZAHIR, Z. A. Screening of soil fungi for in vitro degradation of endosulfan. **World Journal of Microbiology and Biotechnology**, v. 23, p. 939-945, 2007.
- LIRA, R. K. S.; ORLANDA, J. F. F. Biodegradação do inseticida carbofuran por *Syncephalastrum racemosum*. **Research, Society and Development**, v. 9, n. 7, 2020.
- NGUYEN, C.T.; TUNGTAKANPOUNG D.; TRA, V.T.; KAJITVICHYANUKUL, P. Kinetic, isotherm and mechanism in paraquat removal by adsorption process using corn cob biochar produced from different pyrolysis conditionS. **Case Studies in Chemical and Environmental Engineering**, v. 6, 2022.
- OLIVEIRA, P. L. Purificação e caracterização bioquímica de manganês peroxidase de *Bacillus pumilus* e *Paenibacillus* sp. e sua atuação na remoção da cor do efluente da indústria papaleira. Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual de Campinas. Faculdade de Engenharia de Alimentos, Campinas - SP, 2008.
- OLIVEIRA, M. V.; OLIVEIRA, A. C. F.; SHIDA, C. S.; OLIVEIRA, R. C.; NUNES, L. R. **Fungal genetics and Biology**, v. 60, p. 101-109, 2013.
- SMITH, S.N.; LYON, A.J.E. Effect of paraquat on fine structure of *Aspergillus niger* and *mucor hiemalis*. Notes and brief articles. Transactions of the British Mycological Society, v. 69, n. 3, p. 504-506, 1977.
- VIGNALI, E.; TONIN, F.; POLLEGIONI, L.; ROSINI, E. Characterization and use of a bacterial lignin peroxidase with an improved manganese-oxidative activity. **Applied Microbiology and Biotechnology**, v. 102, p. 10579-10588, 2018.

6 CONCLUSÃO GERAL

A partir dos resultados descrito no trabalho concluiu-se que um consórcio fúngico pode ser promissor para aplicação de processos de biorremediação, contudo sua eficiência deve ser atribuída a concentração do poluente que se pretende degradar, as condições de estresse ambiental a que o microrganismo está submetido ou a aplicação de fontes de carbono que podem incrementar a remoção, por exemplo. Quando se avalia a contribuição individual de cada espécie, esta pode ser muito diferente quando os microrganismos são consorciados pois fatores de inibição de uma espécie sobre a outra influenciam fortemente a viabilidade ou não dessa co-cultura. Neste trabalho *A. niger* AN 400 destacou-se pelo crescimento em placas até mesmo na maior concentração de paraquat, mas sua eficiência em remoção na batelada agitada com biomassa dispersa foi melhor na presença do cossustrato, enquanto a batelada com biomassa imobilizada foi mais discreta em termos de remoção.

Apesar da espécie *P. chrysosporium* ter sido menos eficiente em termos de remoção que *A. niger* AN 400, com 25,5% de remoção do pesticida em batelada agitada também na presença de cossustrato, ambas espécies podem ser promissoras, porém ainda há uma necessidade de buscar novos tratamentos alternativos que visem maior remoção do herbicida paraquat. Dentre alternativas são sugeridas: acompanhar outros tempos de reação em reator sequencial, variar a concentração de cossustrato, investigar como concentração de nutrientes ou inóculos interferem na atividade enzimática e, principalmente, testar concentrações de pesticida de forma gradual para reduzir efeito tóxico aos microrganismos a serem utilizados.

A avaliação de reatores biológicos com um efluente *in natura* também poderá nortear adaptações que fortaleçam a hipótese aqui apresentada de que consórcios fúngicos podem potencializar a degradação de pesticida, como foi observado na melhor condição, sem glicose, no consórcio *Aspergillus niger* AN 400 e *Phanerochaete chrysosporium*, atingindo 42 % de remoção.

REFERÊNCIAS

- AHMAD, K. S. Remedial potential of bacterial and fungal strains (*Bacillus subtilis*, *Aspergillus niger*, *Aspergillus flavus* and *Penicillium chrysogenum*) against organochlorine insecticide Endosulfan. **Folia Microbiologica**, v. 65, n. 5, p. 801–810, 2020.
- ALBERT, S.; CHAUHAN, D.; PANDYA, B.; PADHIAR, A. Screening of *Trichoderma* spp. as potential fungal partner in co-culturing with white rot fungi for efficient bio-pulping. **Global Journal of Biotechnology and Biochemistry**, v. 6, n. 3, p. 95–101, 2011.
- ALBRECHT, A. J. P.; THOMAZINI, G.; ALBRECHT, L. P.; PIRES, A.; LORENZETTI, J. B.; DANILUSSI, M.T.Y.; SILVA, A. F. M.; ADEGAS, F. S. *Conyza Sumatrensis* resistant to paraquat, glyphosate and chlorimuron: Confirmation and monitoring the first case of multiple resistance in Paraguay. **Agriculture**, v. 10, n. 12, p. 1–11, 2020.
- ALBRECHT, A.J. P., ALBRECHT, L.P.; SILVA, A. F. M. Agronomic implications of paraquat ban in Brazil. **Advances in Weed Science**, v. 40, p. 1–13, 2022.
- ALDAS-VARGAS, A., VAN DER VOOREN, T., RIJNAARTS, H. H. M.; SUTTON, N. B. Biostimulation is a valuable tool to assess pesticide biodegradation capacity of groundwater microorganisms. **Chemosphere**, v. 280, 2021.
- ANASONYE, F.; WINQUIST, E.; ROSANEN, M.; KONTRO, J.; BJORKLOF, K.; VASILYEVA, G.; JORGENSEN, K. S.; STEFFEN, K.T.; TUOMELA, M. Bioremediation of TNT contaminated soil with fungi under laboratory and pilot scale conditions. **International Biodeterioration and Biodegradation**, v. 105, p. 7–12, 2015.
- AOAC - ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTRY. Official Methods 969.09: Paraquat in pesticide formulations (spectrophotometric method), official methods of analysis of AOAC International. 17^a ed. Arlington, USA, 2000.
- APHA- ASSOCIATIO, AMERICAN PUBLIC HEALTH. **Standard methods for the examination of water and wastewater**. 21. ed. Washington: American Health Association, 2005.
- ASWATHI, A.; PANDEY, A.; SUKUMARAN, R. K. Rapid degradation of the organophosphate pesticide – Chlorpyrifos by a novel strain of *Pseudomonas nitroreducens* AR-3. **Bioresource Technology**, v. 292, 2019.
- BANO, S.; BURHAN, Z.; NADIR, M.; AHMED, A.; RASOOL, S. G.; SIDDIQUI, P. J. A.; RASHEED, M. Removal efficiency of marine filamentous Cyanobacteria for Pyrethroids and their effects on the biochemical parameters and growth. [Algal Res. 60 (2021) 102546]. **Algal Research**, v. 61, 2022.
- BARBERIS, C. L.; CARRANZ, C. S.; MAGNOLI, K.; BENITO, N.; MAGNOLI, C. E. Development and removal ability of non-toxigenic *Aspergillus* section Flavi in presence of atrazine, chlorpyrifos and endosulfan. **Revista Argentina de Microbiologia**, v. 51, n. 1, p. 3–11, 2019.
- BARBOSA, B.C.A. Micodegradação de metil paration e atrazina em matriz aquosa sintética utilizando *Aspergillus niger* AN 400. 125f. Tese (Doutorado). Universidade Federal do

Ceará, Centro de Tecnologia, Programa de Pós Graduação em Engenharia Civil: Saneamento Ambiental, Fortaleza, 2016.

BARRETO, J. A. R.; ANAGUANO, A. H. Evaluación del crecimiento y compatibilidad de hongos de la podredumbre blanca. **Ciencia en Desarrollo**, v. 5, n. 2, p. 197–205, 2014.

BHALERAO, T. S. Bioremediation of endosulfan-contaminated soil by using bioaugmentation treatment of fungal inoculant *Aspergillus niger*. **Turkish Journal of Biology**, v. 36, n. 5, 2012.

BHATT, P.; BHATT, K.; SHARMA, A.; ZHANG, W.; MISHRA, S.; CHEN, S. Biotechnological basis of microbial consortia for the removal of pesticides from the environment. **Critical Reviews in Biotechnology**, v. 41, n. 3, p. 317–338, 2021.

BILAL, M.; IQBAL, H. M. N.; BARCELÓ, D. Persistence of pesticides-based contaminants in the environment and their effective degradation using laccase-assisted biocatalytic systems. **Science of the Total Environment**, v. 695, 2019.

BIROLI, W. G.; SILVA, B. F.; RODRIGUES-FILHO, E. Biodegradation of the fungicide Pyraclostrobin by bacteria from orange cultivation plots. **Science of the Total Environment**, v. 746, 2020.

BOSE, S.; KUMAR, P. S.; VO, D.V.N.; RAJAMOHAN, N.; SARAVANAN, R. Microbial degradation of recalcitrant pesticides: a review. **Environmental Chemistry Letters**, v. 19, n. 4, p. 3209–3228, 2021.

BRICEÑO, G.; SCHALCHLI, H.; MUTIS, A.; BENIMELI, C. S.; PALMA, G.; TORTELLA, G. R.; DIEZ, M.C. Use of pure and mixed culture of diazinon-degrading *Streptomyces* to remove other organophosphorus pesticides. **International Biodeterioration and Biodegradation**, v. 114, p. 193-201, 2016.

CAMACHO-MORALES, R.L.; GUILLÉN-NAVARRO, K.; SÁNCHEZ, J.E. Degradation of the herbicide paraquat by macromycetes isolated from southeastern Mexico. **3 Biotech** v. 7, n. 324, p. 1–10, 2017.

CAMARGO, E. R.; ZAPIOLA, M. L.; AVILA, L. A.; GARCIA, M. A.; PLAZA, G.; GAZZIERO, D.; HOYOS, V. Current situation regarding herbicide regulation and public perception in South America. **Weed Science**, v. 68, p. 232–239, 2020.

CHAUDHARY, P.; XU, M.; AHAMAD, L.; CHAUDHARY, A.; KUMAR, G.; ADELEKE, B. S.; VERMA, K. K.; HU, D. M.; SIRIC, I.; KUMAR, P.; POPESCU, S. M.; FAYSSAL, S. A. Application of synthetic consortia for improvement of soil fertility, pollution remediation, and agricultural productivity: a review. **Agronomy**, v. 13, n. 3, 2023.

CHENG, Z.; LI, C.; KENNES, C.; YE, J.; CHEN, D.; ZHANG, S.; CHEN, J.; YU, J. Improved biodegradation potential of chlorobenzene by a mixed fungal-bacterial consortium. **International Biodeterioration & Biodegradation**, v. 123, p. 276-285, 2017.

CONDE-AVILA, V.; ORTEGA-MARTÍNEZ, L. D.; LOERA, O.; KASSIS, E. G. E.; DÁVILA, J. G.; VALENZUELA, C. M. Pesticides degradation by immobilised microorganisms. **International Journal of Environmental Analytical Chemistry**, v. 101, n. 15, p. 2975–3005, 2021.

- DACCÒ, C.; GIROMETTA, C.; ASEMOLYOYE, M. D.; CARPANI, G.; PICCO, A. M.; TOSI, S. Key fungal degradation patterns, enzymes and their applications for the removal of aliphatic hydrocarbons in polluted soils: a review. **International Biodeterioration and Biodegradation**, v. 147, 2020.
- DAR, M.A.; KAUSHIK, G.; VILLARREAL-CHIU, J. F. Pollution status and bioremediation of chlorpyrifos in environmental matrices by the application of bacterial communities: a review. **Journal of Environmental Management**, v. 239, p. 124–136, 2019.
- DHIMAN, N.; JASROTIA, T.; SHARMA, P.; NEGI, S.; HAUDHARY, S.; KUMAR, R.; MAHNASHI, M. H.; UMAR, A.; KUMAR, R. Immobilization interaction between xenobiotic and *Bjerkandera adusta* for the biodegradation of atrazine. **Chemosphere**, v. 257, 2020.
- DIAS, L.A.; GEBLER, L.; NIEMEYER, J. C.; ITAKO, A. T. Destination of pesticide residues on biobeds: State of the art and future perspectives in Latin America. **Chemosphere**, v. 248, 2020.
- DOOLOTKELDIEVA, T.; KONURBAEVA, M.; BOBUSHEVA, S. Microbial communities in pesticide-contaminated soils in Kyrgyzstan and bioremediation possibilities. **Environmental Science and Pollution Research**, v. 25, n. 32, p. 31848–31862, 2018.
- DURASAMY, K.; MUTHUSAMY, S.; BALAKRISHNAN, S. An eco-friendly detoxification of chlorpyrifos by *Bacillus cereus* MCAS02 isolate from agricultural soil, Namakkal, Tamil Nadu, India. **Biocatalysis and Agricultural Biotechnology**, v.13, 2018.
- EL-DEBAIKY, S. A. Antagonistic studies and hyphal interactions of the new antagonist *Aspergillus piperis* against some phytopathogenic fungi in vitro in comparison with *Trichoderma harzianum*. **Microbial Pathogenesis**, v. 113, p. 135-143, 2017.
- FENG, D.; MALLERET, L.; CHIAVASSA, G.; BOUTIN, O.; SORIC, A. Biodegradation capabilities of acclimated activated sludge towards glyphosate: Experimental study and kinetic modeling. **Biochemical Engineering Journal**, v. 161, 107643, 2020.
- FIRDOUS, S.; IQBAL, S.; ANWAR, S. Optimization and modeling of glyphosate biodegradation by a novel *Comamonas odontotermitis* P2 through response surface methodology. **Pedosphere**, v. 30, n.5, p. 618–627, 2020.
- GAUR, N.; NARASIMHULU, K.; Y, P. Recent advances in the bio-remediation of persistent organic pollutants and its effect on environment. **Journal of Cleaner Production**, v. 198, p. 1602–1631, 2018.
- GEED, S. R.; KUREEL, M. K.; SHUKLA, A. K.; SINGH, R. S.; RAI, B. N. Biodegradation of malathion and evaluation of kinetic parameters using three bacterial species. **Resource-Efficient Technologies**, v. 2, 2016.
- GEED, S.R.; SHRIRAME, B.S.; SINGH, R. S.; RAI, B. N. Assessment of pesticides removal using two-stage Integrated Aerobic Treatment Plant (IATP) by *Bacillus* sp. isolated from agricultural field. **Bioresource Technology**, v. 242, p. 45-54, 2017.

GÓNGORA-ECHEVERRÍA, V. R.; GARCÍA-ESCALANTE, R.; ROJAS-HERRERA, R.; GIÁCOMAN-VALLEJOS, G.; PONCE-CABALLERO, C. Pesticide bioremediation in liquid media using a microbial consortium and bacteria-pure strains isolated from a biomixture used in agricultural areas. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 200, 2020.

GONZÁLEZ, C.; WU, Y.; ZULETA-CORREA, A.; JARAMILLO, G.; VASCO-CORREA, J. Biomass to value-added products using microbial consortia with white-rot fungi. **Bioresource Technology Reports**, v. 16, 2021.

GRIFFIN, D. H. Fungal physiology. 2 nd ed. 458 p. Wiley-Liss, New York, 1994.

HAMAD, M.T.M.H. 2020. Biodegradation of diazinon by fungal strain *Aspergillus niger* MK640786 using response surface methodology. **Environmental Technology and Innovation**, v.18, 2020.

HUANG, Y.; ZHAN, H.; BHATT, P.; CHEN, S. Paraquat degradation from contaminated environments: Current achievements and perspectives. **Frontiers in Microbiology**, v. 10, p. 1–9, 2019.

HUANG, Y.; ZHANG, W.; PANG, S.; CHEN, J.; BHATT, P.; MISHRA, S.; CHEN, S. Insights into the microbial degradation and catalytic mechanisms of chlorpyrifos. **Environmental Research**, v. 194, 2021.

HUSSAIN, S.; ARSHAD, M.; SALEEM, M.; ZAHIR, Z. A. Screening of soil fungi for in vitro degradation of endosulfan. **World Journal of Microbiology and Biotechnology**, v. 23, p. 939-945, 2007.

IJOMA, G. N., TEKERE, M. Potential microbial applications of co-cultures involving ligninolytic fungi in the bioremediation of recalcitrant xenobiotic compounds. **International Journal of Environmental Science and Technology**, v. 14, n.8, p. 1787–1806, 2017.

JAFARINEJAD, S. Recent advances in determination of herbicide paraquat in environmental waters and its removal from aqueous solutions : a review. **International Research Journal of Applied and Basic Science**, v. 9, n. 10, p. 1758–1774, 2015.

JIMÉNEZ, S.; VELÁSQUEZ, C.; MEJÍA, F.; ARIAS, M.; HORMAZA, A. Comparative studies of pure cultures and a consortium of white-rot fungi to degrade a binary mixture of dyes by solid-state fermentation and performance at different scales. **International Biodeterioration and Biodegradation**, v. 145, 2019.

JOVIČIĆ-PETROVIĆ, J.; JEREMIC, S.; VUČKOVIĆ, I.; VOJNOVIĆ, S.; BULAJIĆ, A.; RAIČEVIĆ, V.; NIKODINOVIĆ-RUNIĆ, J. *Aspergillus piperis* a/5 from plum-distilling waste compost produces a complex of antifungal metabolites active against the phytopathogen *Pythium aphanidermatum*. **Archives of Biological Sciences**, v. 68, n. 2, 2016.

KIM, Y.M.; AHN, C. K.; WOO, S. H.; JUNG, G. Y.; PARK, J. M. Synergic degradation of phenanthrene by consortia of newly isolated bacterial strains. **Journal of Biotechnology**, v. 144, n. 4, p. 293–298, 2009.

KORKMAZ, V., YILDIRIM, N., ERGUVEN, G. O., DURMUS, B., NUHOGLU, Y. The bioremediation of glyphosate in soil media by some newly isolated bacteria: The COD, TOC removal efficiency and mortality assessment for *Daphnia magna*. **Environmental Technology and Innovation**, v. 22, 2021.

KUMAR, A.; YADAV, A. N.; MONDAL, R.; KOUR, D.; SUBRAHMANYAM, G.; SHABNAM, A. A.; KHAN, S. A.; YADAV, K. K.; SHARMA, G. K.; CABRAL-PINTO, M.; FAGODIYA, R. K.; GUPTA, D. K.; HOTA, S.; MALYAN, S. K. Myco-remediation: A mechanistic understanding of contaminants alleviation from natural environment and future prospect. **Chemosphere**, v. 284, 2021.

KUMAR, M.; YADAV, A. N.; SAXENA, R.; PAUL, D.; TOMAR, R. S. Biodiversity of pesticides degrading microbial communities and their environmental impact. **Biocatalysis and Agricultural Biotechnology**, v. 31, 2021.

KUMARI, M.; GHOSH, P.; SWATI; THAKUR, I. S. Development of artificial consortia of microalgae and bacteria for efficient biodegradation and detoxification of lindane. **Bioresource Technology Reports**, v. 10, 2020.

LI, X.; LI, Y.; ZHAO, X.; ZHANG, X.; ZHAO, Q.; WANG, X.; LI, Y. Restructured fungal community diversity and biological interactions promote metolachlor biodegradation in soil microbial fuel cells. **Chemosphere**, v. 221, p. 735–749, 2019.

LI, Y.; GE, X. Z.; WANG, X. Y.; GAO, R. The invention discloses a compound bacterial agent used to degrade paraquat and a preparation method. Patent No CN 106520618 A. Beijing: **National Intellectual Property Administration**, China, 2017.

LIRA, R. K. S.; ORLANDA, J. F. F. Biodegradação do inseticida carbofuran por *Syncephalastrum racemosum*. **Research, Society and Development**, v. 9, n. 7, 2020.

MALLA, M.A.; DUBEY, A.; RAJ, A.; KUMAR, A.; UPADHYAY, N.; YADAV, S. Emerging frontiers in microbe-mediated pesticide remediation: Unveiling role of omics and in silico approaches in engineered environment. **Environmental Pollution**, v. 299, 2022.

MAQBOOL, Z.; HUSSAIN, S.; IMRAN, M.; MAHMOOD, F.; SHAHZAD, T.; AHMED, Z.; AZEEM, F.; MUZAMMIL, S. Perspectives of using fungi as bioresource for bioremediation of pesticides in the environment: a critical review. **Environmental Science and Pollution Research**, v. 23, n.17, p.16904–16925, 2016.

MARICAN, A.; DURÁN-LARA, E. F. A review on pesticide removal through different processes. **Environmental Science and Pollution Research**, v. 25, n. 3, p. 2051–2064, 2018.

MARTINS, T. Herbicida paraquat: conceitos, modo de ação e doenças relacionadas. **Seminário: Ciências Biológicas e da Saúde**, v. 34, n. 2, p. 175-186, 2013.

MOHAPATRA, D; RATH, S. K.; MOHAPATRA, P. K. Soil fungi for bioremediation of pesticide toxicants: A perspective. **Geomicrobiology Journal**, v. 39, n. 3-5, p. 352-372, 2021.

MONTAGNER, C. C.; VIDAL, C.; ACAYABA, R. D. Contaminantes emergentes em matrizes aquáticas do Brasil: Cenário atual e aspectos analíticos, ecotoxicológicos e regulatórios. **Química Nova**, v. 40, n. 9, p. 1094–1110, 2017.

MORILLO, E.; VILLAVERDE, J. Advanced technologies for the remediation of pesticide-contaminated soils. **Science of the Total Environment**, v. 586, p. 576–597, 2017.

NGUYEN, C.T.; TUNGTAKANPOUNG D.; TRA, V.T.; KAJITVICHYANUKUL, P. Kinetic, isotherm and mechanism in paraquat removal by adsorption process using corn cob biochar produced from different pyrolysis conditions. **Case Studies in Chemical and Environmental Engineering**, v. 6, 2022.

OLIVEIRA, M. V.; OLIVEIRA, A. C. F.; SHIDA, C. S.; OLIVEIRA, R. C.; NUNES, L. R. **Fungal genetics and Biology**, v. 60, p. 101-109, 2013.

OLIVEIRA, P. L. Purificação e caracterização bioquímica de manganês peroxidase de *Bacillus pumilus* e *Paenibacillus* sp. e sua atuação na remoção da cor do efluente da indústria papelreira. Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual de Campinas. Faculdade de Engenharia de Alimentos, Campinas - SP, 2008.

PADMAPERUMA, G.; KAPOORE, R.V.; GILMOUR, D.J.; VAIDYANATHAN, S. Microbial consortia: A critical look at microalgae co-cultures for enhanced biomanufacturing. **Critical Reviews in Biotechnology**, v. 38, n. 5, p. 690–703, 2018.

PARTE, S. G.; MOEKAR, A. D.; KHARAT, A. S. Microbial degradation of pesticide: a review. **African Journal of Microbiology Research**. v.11, n. 24, p. 992-1012, 2017.

PILEGGI, M.; PILEGGI, S. A. V.; SADOWSKY, M. J. Herbicide bioremediation: from strains to bacterial communities. **Heliyon**, v. 6, n. 12, 2020.

PRUDNIKOVA, S.; STRELTSOVA, N.; VOLOVA, T. The effect of the pesticide delivery method on the microbial community of field soil. **Environmental Science and Pollution Research**, v. 28, n. 7, p. 8681–8697, 2021.

PURNOMO, A. S.; SARIWATI, A.; KAMEI, I. Synergistic interaction of a consortium of the brown-rot fungus *Fomitopsis pinicola* and the bacterium *Ralstonia pickettii* for DDT biodegradation. **Heliyon**, v. 6, n. 6, 2020.

QIAN, X.; CHEN, L.; SUI, Y.; CHEN, C.; ZHANG, W.; ZHOU, J.; DONG, W.; JIANG, M.; XIN, F.; OCHSENREITHER, K. Biotechnological potential and applications of microbial consortia. **Biotechnology Advances**, v. 40, 2020.

RAFFA, C. M.; CHIAMPO, F. Bioremediation of agricultural soils polluted with pesticides: a review. **Bioengineering**, v.8, n. 7, 2021.

RONG, X.; ZHAO, G.; FEIN, J. B.; YU, Q.; HUANG, Q. Role of interfacial reactions in biodegradation: A case study in a montmorillonite, *Pseudomonas* sp. Z1 and methyl parathion ternary system. **Journal of Hazardous Materials**, v. 365, p. 245–251, 2019.

ROSERO-CHASOY, G.; RODRÍGUEZ-JASSO, R.M.; AGUILAR, C.N.; BUITRÓN, G.; CHAIREZ, I.; RUIZ, H. A. Microbial co-culturing strategies for the production high value compounds, a reliable framework towards sustainable biorefinery implementation – an overview. **Bioresource Technology**, v. 321, 2021.

SALEH, I. A.; ZOUARI, N.; AL-GHOUTI, M. A. Removal of pesticides from water and wastewater: Chemical, physical and biological treatment approaches. **Environmental Technology and Innovation**, v. 19, 2020.

SANTINO, M. B. C.; SCIESSERE, L.; BIANCHINI JÚNIOR, I. As atividades das enzimas

- na decomposição da matéria orgânica particulada em ambientes aquáticos continentais evolução dos estudos sobre enzimas em ambientes aquáticos. **Oecologia Brasiliensis**, v. 12, n. 1, p. 30–41, 2008.
- SARKER, A.; NANDI, R.; KIM, J. E.; ISLAM, T. Remediation of chemical pesticides from contaminated sites through potential microorganisms and their functional enzymes: Prospects and challenges. **Environmental Technology and Innovation**, v. 23, 2021.
- SHARMA, A.; KUMAR, V.; SHAHZAD, B.; TANVEER, M.; SIDHU, G.P.S.; HANDA, N.; KOHLI, S.K.; YADAV, P.; BALI, A.S.; PARIHAR, R.D.; DAR, O.I.; SINGH, K.; JASROTIA, S.; BAKSHI, P.; RAMAKRISHNAN, M.; KUMAR, S.; BHARDWAJ, R.; THUKRA, A. K. Worldwide pesticide usage and its impacts on ecosystem. **SN Applied Sciences**, v. 1, n. 11, p. 1–16, 2019.
- SILAMBARASAN, S.; ABRAHAM, J. Mycoremediation of endosulfan and its metabolites in aqueous medium and soil by *Botryosphaeria Laricina* JAS6 and *Aspergillus Tamaritii* JAS9. **PLoS ONE** v. 8, n.10, p. 1–10, 2013.
- SMITH, S.N.; LYON, A.J.E. Effect of paraquat on fine structure of *Aspergillus niger* and *mucor hiemalis*. Notes and brief articles. Transactions of the British Mycological Society, v. 69, n. 3, p. 504-506, 1977.
- SOARES, P. R. S.; BIROLI, W. G.; FERREIRA, I. M.; PORTO, A. L. M. Biodegradation pathway of the organophosphate pesticides chlorpyrifos, methyl parathion and profenofos by the marine-derived fungus *Aspergillus sydowii* CBMAI 935 and its potential for methylation reactions of phenolic compounds. **Marine Pollution Bulletin**, v. 166, 2021.
- SUÁREZ-ESTRELLA, F.; VARGAS-GARCÍA, V.; LÓPEZ, M. J.; CAPEL, C.; MORENO, J. Antagonistic activity of bacteria and fungi from horticultural compost against *Fusarium oxysporum* f. sp. *melonis*. **Crop Protection**, v. 26, n. 1, p. 46-53, 2007.
- SUPREETH, M.; RAJU, N.S. Biotransformation of chlorpyrifos and endosulfan by bacteria and fungi. **Applied Microbiology and Biotechnology**, v. 101, n. 15, p. 5961–5971, 2017.
- UNIYAL, S.; SHARMA, R. K.; KONDAKAL, V. New insights into the biodegradation of chlorpyrifos by a novel bacterial consortium: Process optimization using general factorial experimental design. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 209, 2021.
- VAGI, M. C.; PETSAS, A. S. Recent advances on the removal of priority organochlorine and organophosphorus biorecalcitrant pesticides defined by Directive 2013/39/ EU from environmental matrices by using advanced oxidation processes: an overview (2007–2018). **Journal of Environmental Chemical Engineering**, v. 8, 2020.
- VÁZQUEZ, M. B.; MORENO, M. V.; AMODEO, M. R.; BIANCHINOTTI, M. V. Effects of glyphosate on soil fungal communities: A field study. **Revista Argentina de Microbiología**, v. 53, n. 4, p. 349-358, 2021.
- VIGNALI, E.; TONIN, F.; POLLEGIONI, L.; ROSINI, E. Characterization and use of a bacterial lignin peroxidase with an improved manganese-oxidative activity. **Applied Microbiology and Biotechnology**, v. 102, p. 10579-10588, 2018.

VILLAVERDE, J.; RUBIO-BELLIDO, M.; LARA-MORENO, A.; MERCHAN, F.; MORILO, E. Combined use of microbial consortia isolated from diferente agricultural soils and cyclodextrin as a bioremediation technique for herbicide contaminated soils. **Chemosphere**, v. 193, p. 118-125, 2018.

WOŁEJKO, E.; JABŁOŃSKA-TRYPUĆ, A.; WYDRO, U.; BUTAREWICZ, A.; ŁOZOWICKA, B. Soil biological activity as an indicator of soil pollution with pesticides – A review. **Applied Soil Ecology**, v. 147, 2020.

YANTO, D. H. Y., TACHIBANA, S. Potential of fungal co-culturing for accelerated biodegradation of petroleum hydrocarbons in soil. **Journal of Hazardous Materials**, v. 278, p. 454–463, 2014.

YUAN, X.; ZHANG, X.; CHEN, X.; KONG, D.; LIU, X.; SHEN, S. Synergistic degradation of crude oil by indigenous bacterial consortium and exogenous fungus *Scedosporium boydii*. **Bioresource Technology**, v. 264, p. 190–197, 2018

ZABOROWSKA, M.; WYSZKOWSKA, J.; KUCHARSKI, J. Biochemical activity of soil contaminated with BPS, bioaugmented with a mould fungi consortium and a bacteria consortium. **Environmental Science and Pollution Research**, v. 26, n. 36, p. 37054–37069, 2019.