

UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ

FELIPE BARRETO GOMES

DESCOLORAÇÃO DE CORANTES DA INDÚSTRIA TÊXTIL
POR ISOLADOS ENDOFÍTICOS DE *CURVULARIA LUNATA*

CURITIBA

2019

FELIPE BARRETO GOMES

DESCOLORAÇÃO DE CORANTES DA INDÚSTRIA TÊXTIL
POR ISOLADOS ENDOFÍTICOS DE *CURVULARIA LUNATA*

Dissertação de Mestrado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Genética, Setor de Ciências Biológicas, Universidade Federal do Paraná, como requisito parcial à obtenção do título de Mestre em Genética.

Orientadora: Prof.^a Dr.^a Vanessa Merlo Kava

CURITIBA

2019

Universidade Federal do Paraná. Sistema de Bibliotecas.
Biblioteca de Ciências Biológicas.
(Giana Mara Seniski Silva – CRB/9 1406)

Gomes, Felipe Barreto
Descoloração de corantes da indústria têxtil por isolados endofíticos de
Curvularia lunata. / Felipe Barreto Gomes. – Curitiba, 2019.
46 p. : il.

Orientadora: Vanessa Merlo Kava

Dissertação (mestrado) - Universidade Federal do Paraná, Setor de
Ciências Biológicas. Programa de Pós-Graduação em Genética.

1. Biodegradação 2. Corantes I. Título II. Kava, Vanessa Merlo III. .
Universidade Federal do Paraná. Setor de Ciências Biológicas. Programa
de Pós-Graduação em Genética.

CDD (20. ed.) 667.3



MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO
SETOR DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS
UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO GENÉTICA -
40001016006P1

TERMO DE APROVAÇÃO

Os membros da Banca Examinadora designada pelo Colegiado do Programa de Pós-Graduação em GENÉTICA da Universidade Federal do Paraná foram convocados para realizar a arguição da Dissertação de Mestrado de **FELIPE BARRETO GOMES** intitulada **Descoloração de corantes da indústria têxtil por Isolados endofíticos de *Curvularia lunata***, após terem inquirido o aluno e realizado a avaliação do trabalho, são de parecer pela sua APROVAÇÃO no rito de defesa. A outorga do título de mestre está sujeita à homologação pelo colegiado, ao atendimento de todas as indicações e correções solicitadas pela banca e ao pleno atendimento das demandas regimentais do Programa de Pós-Graduação.

CURITIBA, 27 de Junho de 2019.

VANESSA MERLO KAVA

Presidente da Banca Examinadora (UFPR)

LYGIA VITORIA GALLI TERASAWA

Avaliador Interno (UFPR)

LISANDRA SANTOS FERREIRA MABA

Avaliador Externo (UFPR)

AGRADECIMENTOS

O presente trabalho é resultado de um processo que exigiu muita força de vontade e perseverança, e seu desenvolvimento até aqui só foi possível devido a diversas pessoas a quem agradeço.

À minha orientadora Prof.^a Dr.^a Vanessa Merlo Kava, pela oportunidade de a ter como minha orientadora e pelo valioso tempo e conhecimento dedicado a me auxiliar na concretização deste projeto;

À minha família, em especial meus pais, pelo suporte e estrutura oferecidos para que eu possa me dedicar aos estudos;

À minha namorada, Fernanda, pelo amor e companheirismo e, principalmente, paciência durante este período;

Aos meus amigos, pelos diversos momentos que compartilhamos durante esta jornada;

Aos meus companheiros de LabGeM, pelas dicas e trocas de conhecimento que muito me auxiliaram;

Ao Programa de Pós-Graduação em Genética, pela oportunidade de desenvolver este projeto;

Ao Laboratório de Biologia Adaptativa da UFPR e a Prof.^a Dr.^a Lucélia Donatti e orientados, pela disponibilização de equipamentos;

À CAPES, pelo auxílio financeiro.

RESUMO

A utilização intensiva de corantes pela indústria têxtil resulta na produção de grandes volumes de efluentes contaminados e coloridos. O despejo inadequado destes poluentes em corpos hídricos afeta a penetração da luz na água, prejudicando a atividade fotossintética e, conseqüentemente, todo o ambiente aquático. Além disso, muitos corantes utilizados pela indústria têxtil são considerados tóxicos, mutagênicos e carcinogênicos, causando riscos à saúde humana. Tratamentos físico-químicos tradicionais possuem um custo operacional elevado, o que torna a busca por tratamentos biológicos, com menor custo e gerando menos resíduos, uma alternativa desejável. Alguns fungos são capazes de realizar a descoloração de efluentes contaminados com corantes têxteis através de mecanismos de adsorção ou biodegradação através de ação enzimática. O gênero *Curvularia* é um fungo ascomiceto cujo potencial biotecnológico já foi explorado para inibição de patógenos, produção de compostos como fenol oxidases e descoloração de corantes da indústria têxtil. Os isolados de *C. lunata* LGMF987, LGMF996 e LGMF997 foram testados quanto a capacidade de descolorar os corantes azóicos da família Remazol Amarelo Reativo 107 (RY107), Azul Reativo 220 (RB220) e Vermelho Reativo 198 (RR198). Em um período de incubação de 5 dias a 28°C e 150 rpm no escuro em uma mistura de meio de saís contendo 0,1 g/L de corante, o isolado LGMF996 foi capaz de descolorar 87% do corante RB220, sugerindo uma capacidade de utilizar o próprio corante como fonte de nutrientes. Ainda, a descoloração foi testada na presença de diferentes fontes de carbono e nitrogênio, porém não houve uma melhora significativa na taxa de descoloração. O pré-tratamento da biomassa micelial, utilizando HCl 0,1M, NaOH 0,1M ou 1M, não resultou em melhora na eficiência do processo de remoção de cor. A linhagem LGMF996 se mostrou capaz de descolorar 75% do corante em apenas 24h de incubação, superando a taxa de 85% após o quarto dia. Em um sistema de descoloração sequencial, *C. lunata* LGMF996 manteve uma capacidade de descoloração acima de 60% durante cinco ciclos de 24h. Entretanto, o produto descolorado do corante RB220 apresentou a mesma toxicidade do corante, após teste de fitotoxicidade utilizando *Phaseolus vulgaris*. Desta forma, foi possível identificar o potencial descolorante de *C. lunata* LGMF996, porém para a implementação deste processo em escala industrial, ainda será necessária a inclusão de uma etapa para eliminação dos compostos tóxicos existentes no efluente.

Palavras-chave: biodegradação, corantes, *Curvularia*, descoloração.

ABSTRACT

The intensive use of dyes by the textile industry results in the production of large volumes of contaminated and colored effluents. The inadequate disposal of these pollutants in water bodies affects the penetration of light into the water, damaging the photosynthetic activity and, consequently, the entire aquatic environment. Besides, many dyes used by the textile industry are considered toxic, mutagenic, and carcinogenic, causing risks to human health. Traditional physical-chemical treatments have a high operating cost, which searches for biological treatments, with a lower cost and generating less waste, a desirable alternative. Some fungi are able to carry out the discoloration of effluents contaminated with textile dyes through mechanisms of adsorption or biodegradation through enzymatic action. The genus *Curvularia* is an ascomycete fungus whose biotechnological potential has already been explored for inhibition of pathogens, production of compounds such as phenol oxidases and discoloration of dyes from the textile industry. The isolates of *C. lunata* LGMF987, LGMF996, and LGMF997 were tested for the ability to decolorize the azo dyes of the Remazol family Yellow Reactive 107 (RY107), Reactive Blue 220 (RB220) and Reactive Red 198 (RR198). In a five day incubation period at 28 ° C and 150 rpm in the dark in a salt medium mixture containing 0.1 g/L of dye, *C. lunata* LGMF996 was able to decolorize 87% of the RB220 dye, suggesting an ability to use the dye itself as a source of nutrients. Also, discoloration was tested in the presence of different carbon and nitrogen sources, but there was no significant improvement in the discoloration rate. Pretreatment of the mycelial biomass using 0.1 M HCl, 0.1 M or 1 M NaOH did not increase the efficiency of the color removal process. LGMF996 was able to decolorize 75% of the dye in only 24 h of incubation, surpassing the rate of 85% after the fourth day. In a sequential discoloration system, *C. lunata* LGMF996 maintained a discoloration capacity above 60% during five cycles of 24 h. However, the bleached product of the RB220 dye showed the same dye toxicity after phytotoxicity testing using *Phaseolus vulgaris*. It was possible to identify the bleaching potential of *C. lunata* LGMF996, but for the implementation of this process in industrial scale, it will still be necessary to include a stage for the elimination of toxic compounds in the effluent.

Keywords: biodegradation, dyes, *Curvularia*, discoloration

LISTA DE FIGURAS

FIGURA 1 - ESTRUTURA QUÍMICA DE ALGUNS CORANTES AZÓICOS, GRUPO AZO DESTACADO	13
FIGURA 2 - CULTURAS EM DESCOLORAÇÃO MANTIDAS EM SHAKER A 28°C	22
FIGURA 3 - RESULTADO DA DESCOLORAÇÃO DO CORANTE RY107 PELO ISOLADO LGMF996 APÓS 5 DIAS DE CRESCIMENTO EM MS CONTENDO 0,1 g/L DE CORANTE	26
FIGURA 4 - PORCENTAGEM DE DESCOLORAÇÃO REALIZADA PELOS ISOLADOS DE <i>C. lunata</i> APÓS 5 DIAS DE CRESCIMENTO EM MS CONTENDO 0,1 g/L DO CORANTE RY107.....	27
FIGURA 5 - RESULTADO DA DESCOLORAÇÃO DO CORANTE RR198 PELO ISOLADO LGMF996 APÓS 5 DIAS DE CRESCIMENTO EM MS CONTENDO 0,1 g/L DE CORANTE	27
FIGURA 6 - PORCENTAGEM DE DESCOLORAÇÃO REALIZADA PELOS ISOLADOS DE <i>C. lunata</i> APÓS 5 DIAS DE CRESCIMENTO EM MS CONTENDO 0,1 g/L DO CORANTE RR198.....	28
FIGURA 7 - RESULTADO DA DESCOLORAÇÃO DO CORANTE RB220 PELO ISOLADO LGMF996 APÓS 5 DIAS DE CRESCIMENTO EM MS CONTENDO 0,1 g/L DE CORANTE	28
FIGURA 8 - PORCENTAGEM DE DESCOLORAÇÃO REALIZADA PELOS ISOLADOS DE <i>C. lunata</i> APÓS 5 DIAS DE CRESCIMENTO EM MS CONTENDO 0,1 g/L DO CORANTE RB220.....	29
FIGURA 9 - PORCENTAGEM DE DESCOLORAÇÃO DIÁRIA UTILIZANDO A LINHAGEM LGMF996 EM MS CONTENDO 0,1 g/L DO CORANTE RB220 APÓS PRÉ-TRATAMENTO COM HCl E NaOH	33
FIGURA 10 - PORCENTAGEM DE DESCOLORAÇÃO DIÁRIA UTILIZANDO A LINHAGEM LGMF996 EM MS CONTENDO 0,1 g/L DO CORANTE RB220 E MASSA MICELIAL SECA EM MILIGRAMAS	34
FIGURA 11 - ANÁLISE SEQUENCIAL DA DESCOLORAÇÃO DE <i>Curvularia lunata</i> LGMF996 EM MEIO DE SAIS CONTENDO 0,1 g/L DE RB220, DURANTE 5 CICLOS DE 24 HORAS	35

LISTA DE QUADROS E TABELAS

QUADRO 1 - LEIS E RESOLUÇÕES FEDERAIS RELACIONADAS A PRÁTICAS AMBIENTAIS NA INDÚSTRIA TÊXTIL15

TABELA 1 - PORCENTAGEM DE DESCOLORAÇÃO UTILIZANDO A LINHAGEM LGMF996 APÓS 5 DIAS DE CRESCIMENTO EM DIFERENTES FONTES DE CARBONO E NITROGÊNIO CONTENDO 0,1 g/L DO CORANTE AZUL RB220 ... 30

TABELA 2 - UNIDADE DE DESCOLORAÇÃO MÉDIA UTILIZANDO O ISOLADO *C. lunata* LGMF996, APÓS 5 DIAS DE CULTIVO EM DIFERENTES FONTES DE CARBONO E NITROGÊNIO 31

LISTA DE ABREVIATURAS OU SIGLAS

AO7 – laranja ácido 7

BDA – meio agar batata dextrose

DAU – unidade descorante: μmol de substrato descorado por minuto

EMS – metano sulfonato de etila

Lac – lacase

LiP – lignina peroxidase

LMEs – enzimas modificadoras de lignina

MnP – manganês peroxidase

MS – meio de sais

nm – nanômetro

pH – potencial hidrogeniônico

p/v - peso por volume

RB220 – azul reativo 220

RB5 – preto reativo 5

RR198 – vermelho reativo 198

RY107 – amarelo reativo 107

SDS – dodecil sulfato de sódio

TDH – Tempo de Detenção Hidráulica

SUMÁRIO

INTRODUÇÃO	11
REVISÃO DE LITERATURA	12
Corantes Orgânicos Sintéticos e a Indústria Têxtil	12
Legislações sobre emissão de efluentes	14
Tratamento Biológicos de Efluentes Líquidos da Indústria Têxtil	15
O Gênero <i>Curvularia</i>	18
OBJETIVOS	19
Objetivo Geral	19
Objetivos Específicos	19
MATERIAL E MÉTODOS	20
Isolados fúngicos	20
Corantes têxteis	20
Meios de cultura e condições de cultivo de <i>Curvularia lunata</i>	21
Avaliação da capacidade descorante de <i>C. lunata</i>	22
Fontes de C e N	23
Análise de Biossorção	24
Avaliação da atividade descorante de <i>C. lunata</i>	24
Descoloração Diária	24
Descoloração Sequencial	24
Avaliação da Toxicidade do Produto Descorado	25
Análises Estatísticas	25
RESULTADOS E DISCUSSÃO	26
Seleção de Isolados e Corantes	26
Fontes de C e N	29
Análise de Biossorção	32
Ensaio de Descoloração	33
Descoloração Diária	33
Descoloração Sequencial	34
Avaliação de Toxicidade	35
CONCLUSÃO	36
REFERÊNCIAS	38
ANEXO 1	45

1 INTRODUÇÃO

Os resíduos de corantes utilizados, de forma intensiva, na indústria têxtil são abundantes em corpos hídricos, principalmente devido ao grande volume de efluentes gerados pelo setor têxtil (KATHERESAN *et al.*, 2018). Estima-se que a 10 a 15% dos corantes sintéticos utilizados na indústria têxtil sejam perdidos durante o processo de tingimento e de 2 a 20% sejam diretamente liberados em diferentes componentes ambientais (YANTO; TACHIBANA, 2014). Segundo Solís e colaboradores (2012), cerca de 280 mil toneladas de corantes têxteis são liberados em efluentes industriais ao redor do mundo a cada ano.

A biodegradação dos resíduos é um processo de tratamento de efluentes de alta eficiência e baixo custo operacional, visto que os organismos utilizados nesses processos podem ser cultivados utilizando fontes de carbono e nitrogênio de resíduos da agroindústria (NIEBISCH *et al.*, 2010).

Diversos microrganismos têm sido estudados na degradação de xenobíontes como corantes (AMIDA *et al.*, 2005). Dentre estes, fungos endofíticos se apresentam com uma vasta gama de aplicações biotecnológicas (FILLAT *et al.*, 2016), inclusive a descoloração e degradação de corantes (BULLA *et al.*, 2017).

O gênero *Curvularia* (Pleosporaceae) é composto por mais de 130 espécies, sendo que a maioria destas são saprófitas ou patogênicas de plantas ou solo, com algumas espécies sendo relacionadas a infecções em humanos e animais (CUNHA *et al.*, 2013). Pesquisas têm avaliado o potencial biotecnológico do gênero como inibidores de crescimento de patógenos (MONDOL *et al.*, 2017) e produção de fenol oxidases, importantes na degradação da lignina e compostos fenólicos tóxicos (SHARMA *et al.*, 2016).

Assim, a hipótese deste trabalho é de que linhagens endofíticas do fungo *Curvularia lunata*, obtidas de milho (*Zea mays*), apresentem potencial biotecnológico quanto a sua capacidade de descoloração de corantes utilizados pela indústria têxtil.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Corantes Orgânicos Sintéticos e a Indústria Têxtil

Desde que o primeiro corante sintético foi reportado, em 1856, o uso destes em indústrias cresceu de forma significativa (RAI *et al.*, 2005). Estima-se que mais de 100.000 corantes sintéticos estejam disponíveis comercialmente com uma produção anual estimada em 7×10^5 toneladas anuais (LIANG *et al.*, 2014; BRILLAS; MARTÍNEZ-HUITLE, 2015).

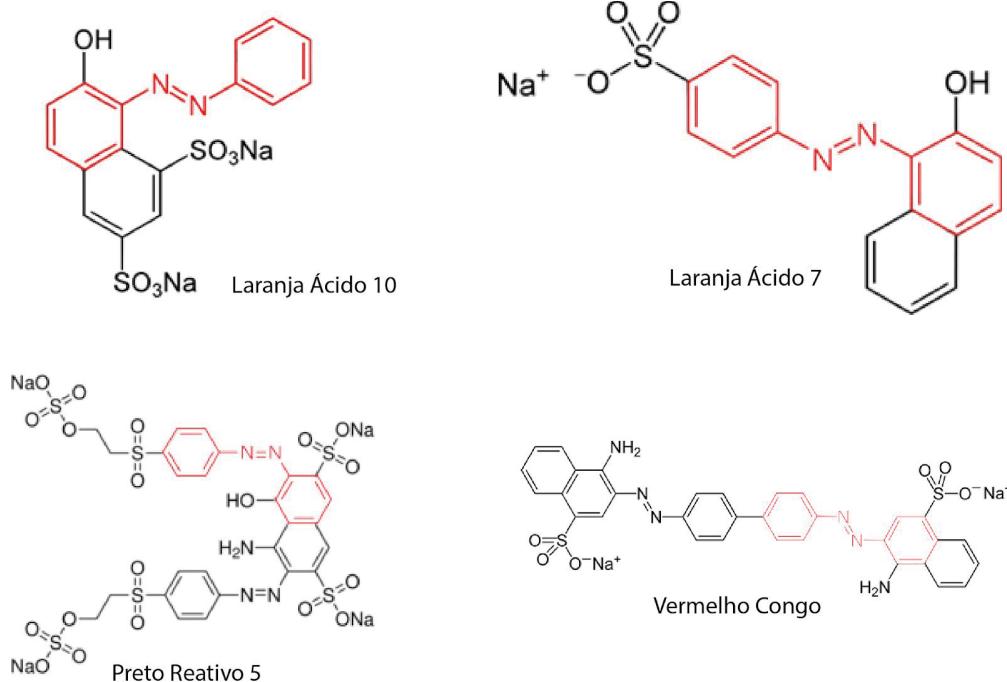
Corantes sintéticos são amplamente utilizados pelas indústrias têxteis, de papéis, cosméticos, farmacêutica e alimentícia (POPLI; PATEL, 2014; FOROONTANFAR *et al.*, 2016). O processo de tingimento da indústria têxtil consome grandes volumes de água e resulta na introdução de efluentes coloridos contendo grandes quantidades de corantes, compostos orgânicos e sais liberados em diferentes corpos hídricos (NIEBISCH *et al.*, 2014). Cerca de 10 a 15% dos corantes são liberados em efluentes durante o processo de coloração (YANTO; TACHIBANA, 2014), sendo que no caso de corantes reativos, até 50% da quantidade inicial podem ser perdidos (RAI *et al.*, 2005).

Os corantes podem ser classificados de acordo com a estrutura química ou de acordo com o método pelo qual ele é fixado à fibra têxtil (GUARATINI; ZANONI, 2000; POPLI; PATEL, 2014). Em sua estrutura química, corantes possuem o grupo cromóforo, responsável pela coloração do corante, e o grupo auxocromo, que podem doar ou retirar elétrons, causando ou intensificando a cor do grupamento cromóforo (POPLI; PATEL, 2014). Os principais grupos de corantes classificados pelo modo de fixação são: Reativos, Diretos, Azóicos, Ácidos, à Cuba, de Enxofre, Dispersivos, Pré-Metalizados e Branqueadores, sendo que a fixação do corante às fibras têxteis é geralmente feita em solução aquosa, podendo envolver quatro tipos de interações: ligações iônicas, de hidrogênio, de Van der Waals e covalentes (GUARATINI; ZANONI, 2000).

Os corantes azóicos, caracterizados pela presença de uma ou mais ligações azo ($R_1-N=N-R_2$) ligando anéis aromáticos (Figura 1), são o grupo mais utilizado na indústria têxtil, correspondendo a mais de 60% de todos os corantes produzidos

(POPLI; PATEL, 2014). Diferentes substituições no núcleo aromático fazem com que esse grupo tenha grande diversidade estrutural, resultando em compostos xenobióticos e recalcitrantes, de coloração intensa, alta solubilidade em água e resistência a degradação em condições naturais (KHAN *et al.*, 2013).

FIGURA 1 - ESTRUTURA QUÍMICA DE ALGUNS CORANTES AZÓICOS, GRUPO AZO DESTACADO



FONTE: Adaptado de Popli; Patel (2014)

O processo de tingimento pode ser dividido em três etapas principais: montagem, fixação e tratamento final (GUARATINI; ZANONI, 2000). A fixação do corante à fibra é resultado de diversas reações químicas e normalmente ocorre em diferentes etapas das fases de montagem e fixação. Ao final do processo de tintura, o excesso de corante é removido utilizando cerca de 100 litros de água para cada quilograma de material tingido (COUTO, 2009) e resultando em grandes efluentes contaminados, com alta coloração e grande complexidade de compostos e estruturas químicas, podendo conter de 10 a 200 mg/L de corantes, e que são liberados diretamente em diferentes corpos d'água ao redor do mundo (GUARATINI; ZANONI, 2000; CHENGALROYEN; DABBS, 2013; POPLI; PATEL, 2014).

O despejo inadequado de efluentes contaminados com corante, até mesmo com baixas concentrações no caso de corantes azóicos, em ecossistemas aquáticos resulta na alteração da cor de corpos hídricos, diminuindo a penetração da luz e afetando diretamente a atividade fotossintética, a concentração de oxigênio dissolvido e a qualidade da água (KHAN *et al.*, 2013). Além disso, corantes azóicos tem um impacto negativo na concentração de carbonos orgânicos totais, na demanda biológica de oxigênio e na demanda química de oxigênio (SARATALE *et al.*, 2011). Ainda, muitos corantes sintéticos são considerados tóxicos, mutagênicos e carcinogênicos, resultando em riscos à saúde humana (KHAN *et al.*, 2013; SARATALE *et al.*, 2011). Estes riscos estão intrinsecamente relacionados ao modo e ao tempo de exposição (i.e. ingestão oral, sensibilização da pele, sensibilização das vias respiratórias) (GUARATINI; ZANONI, 2000), com efeitos crônicos sendo associados com pessoas que trabalham com processamento têxtil (POPLI; PATEL, 2014). A ingestão acidental de corantes azóicos resulta na redução bioquímica destes pela microbiota gastrointestinal e na subsequente formação de aminas que agem como carcinogênicos e podem resultar na formação de tumores. Essas aminas ainda podem ser reduzidas em íons de carbono e nitrogênio, podendo levar à mutação de ácidos nucleicos e à formação de tumores (POPLI; PATEL, 2014).

2.2 Legislações sobre emissão de efluentes

Com o objetivo de minimizar os possíveis efeitos negativos à saúde e ao ambiente devido a utilização de corantes orgânicos sintéticos e divulgar informações à respeito do uso (ETAD, 2016), em 1974 foi criada uma organização internacional, a *Ecological and Toxicological Association of Dyes and Organic Pigments Manufacturers* (ETAD). Os riscos toxicológicos e ecológicos destas substâncias baseiam-se na avaliação quanto a grau de estrutura, solubilidade, possíveis interações, rota metabólica e avaliação da relação risco/custo/benefício (GUARATINI; ZANONI, 2000).

No Brasil, de acordo com a Confederação Nacional da Indústria (2012), a indústria têxtil está sujeita a sete Leis e Resoluções Federais relacionadas a práticas ambientais (QUADRO 1)

QUADRO 1 - LEIS E RESOLUÇÕES FEDERAIS RELACIONADAS A PRÁTICAS AMBIENTAIS NA INDÚSTRIA TÊXTIL

LEGISLAÇÃO	TEMA
Resolução Conama nº 357/2005	Classificação dos corpos de água; condições e padrões de lançamentos de efluentes
Lei Federal nº 6.938/1981	Política Nacional do Meio Ambiente, seus fins e mecanismos de formulação e aplicação
Lei Federal nº 10.165/2000	Implantação de taxas ligadas à Política Nacional do Meio Ambiente
Resolução Conama nº 313/2002	Destino de resíduos sólidos industriais
Lei Federal nº 9.984/2000	Política Nacional dos Recursos Hídricos e o Sistema de Gerenciamento
Lei Federal nº 4.771/65	Código Florestal
Resolução Conama nº 237/1997	Licenciamento ambiental incorporado aos instrumentos de gestão ambiental

FORNE: ADAPTADO DE CONFEDERAÇÃO NACIONAL DA INDÚSTRIA; ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DA INDÚSTRIA TÊXTIL E DE CONFECÇÃO (2012)

A descoloração de efluentes não está necessariamente ligada à diminuição da toxicidade, portanto, a avaliação da toxicidade aguda é de extrema importância. Testes de fitotoxicidade são comumente utilizados na literatura para verificar a efetividade dos tratamentos biológicos de efluentes têxteis através de testes utilizando organismos como *Triticum aestivum*, *Phaseolus mungo* e *Sorghum vulgare* (AYED *et al.*, 2010; KALYANI *et al.*, 2008; SARATALE *et al.*, 2010; SARATALE *et al.*, 2013; NOUREN *et al.*, 2017).

2.3 Tratamento Biológicos de Efluentes Líquidos da Indústria Têxtil

As imposições das legislações ambientais específicas, aliadas a grande diversidade e complexidade dos efluentes da indústria têxtil, têm resultado em uma busca por novas tecnologias, que sejam melhores e mais adequadas em questão de custo, tempo e eficiência (RAO, 2005; KARIGAR, 2011; ALMEIDA *et al.*, 2016). Atualmente existem diversos processos físico-químicos tradicionais que podem ser aplicados na descoloração de corantes, como adsorção, coagulação e floculação, oxidação e ozonização (POPLI; PATEL, 2014; ARSLAN *et al.*, 2016). A adsorção é

um dos processos de tratamento mais eficientes no tratamento de efluentes industriais devido à possibilidade de separar componentes químicos dissolvidos e não dissolvidos (ARSLAN *et al.*, 2016), geralmente utilizando carvão ativado (ALMEIDA *et al.*, 2016), porém resulta apenas na transferência dos poluentes e não em sua degradação, gerando um acúmulo de lodo ativado com grande quantidade de material adsorvido, o qual deve ser regenerado para que possa ser utilizado (SARATALE *et al.*, 2011; POPLI; PATEL, 2014). Entre os processos químicos, a oxidação pode ser utilizada no tratamento da água contendo corantes, por possuir elevado potencial para degradar, seja parcialmente ou totalmente, essas moléculas (ALMEIDA *et al.*, 2016), porém, processos químicos em geral são não seletivos (POPLI; PATEL, 2014). Além disso, processos de tratamento tradicionais costumam envolver custos elevados, tendo seu uso restrito em escalas operacionais (KHAN *et al.*, 2013).

Processos de tratamento biológicos apresentam diversas vantagens em relação a processos físicos ou químicos (NARESH *et al.*, 2013). Através de sua aplicação, é possível que ocorra a biodegradação dos corantes em CO₂ e H₂O, uma produção significativamente menor de lodo, além de requerer menor utilização de reagentes (NARESH *et al.*, 2013; POPLI; PATEL, 2014).

Diversos trabalhos têm sido realizados com o objetivo de isolar e selecionar microrganismos com capacidade de descoloração e degradação de diferentes corantes sintéticos e outros compostos recalcitrantes, como bactérias (SHYAMALA *et al.*, 2014; CHEN *et al.*, 2016; KUMAR *et al.*, 2017; SARIOGLU *et al.*, 2017) leveduras (AKSU; DÖNMEZ, 2003) e fungos basidiomicetos (ABADULLA, 2000; KAMIDA, 2005; MACHADO, 2006; NIEBISCH *et al.*, 2010; NIEBISCH *et al.*, 2014; BULLA *et al.*, 2017) e ascomicetos (HAO *et al.*, 2007; JIN *et al.*, 2007; BRUSCATO, 2011; MIRANDA *et al.*, 2013; ZHENG *et al.*, 2013; BENGHAZI, 2014; KABBOUT; TAHA, 2014; YANTO; TACHIBANA, 2014; NEOH *et al.*, 2015; FILLAT *et al.*, 2016; BULLA *et al.*, 2017; MARZALL-PEREIRA, 2017).

Fungos são de grande importância para a biotecnologia devido a atividades metabólicas como a produção de enzimas de degradação (BENNETT, 1998). A

descoloração de corantes pode ocorrer pela adsorção na massa microbiana ou através da biodegradação dos corantes (POPLI; PATEL, 2014).

Na adsorção, ocorre a captura dos corantes pela massa microbiana, viva ou morta, o que não é uma solução tão prática no tratamento de efluentes, pois resulta na dificuldade de direcionar a biomassa contendo os corantes adsorvidos (KUMAR *et al.*, 1998; POPLI; PATEL, 2014). Entretanto, esse processo pode ser vantajoso para o tratamento de efluentes tóxicos e efetivo em condições que não sejam favoráveis para o crescimento e manutenção dos microrganismos, através da adsorção pela biomassa morta (POPLI; PATEL, 2014).

A biodegradação é um processo pelo qual a estrutura química original do corante é quebrada, resultando na geração de aminas aromáticas e atingindo, algumas vezes, a mineralização completa dos poluentes (*i.e.* a conversão em CO₂, H₂O e alguns sais inorgânicos) (KHAN *et al.*, 2013; POPLI; PATEL, 2014).

Os fungos, em particular os fungos causadores da podridão branca (*White-rot fungi*), os quais produzem enzimas ligninolíticas extracelulares (LMEs), têm sido amplamente estudados quanto à sua eficiência na degradação de uma vasta gama de compostos como xenobiontes, lignina e corantes (JIN *et al.*, 2007; CHENGALROYEN; DABBS, 2013). A utilização de LMEs, como a lacase (Lac), a lignina peroxidase (LiP) e a manganês peroxidase (MnP), apresentam grande vantagem para a biodegradação por possuírem uma baixa especificidade estrutural e atuarem sobre compostos diversamente estruturados, como corantes sintéticos, hidrocarbonetos aromáticos e compostos clorados (JIN *et al.*, 2007; SARATALE *et al.*, 2011; CHENGALROYEN; DABBS, 2013). Os fungos da podridão branca não necessitam de um pré-condicionamento para poluentes específicos, pois a secreção enzimática depende da limitação de nutrientes (carbono e nitrogênio) e não da presença de determinado poluente (JIN *et al.*, 2007). O sistema enzimático extracelular permite que estes fungos tolerem altas concentrações de poluentes (JIN *et al.*, 2007). Em geral, pH mais ácidos (entre 4,0 e 5,0) favorecem a atividade das LMEs, sendo uma limitação para a utilização destas, visto que corantes têxteis apresentam altos pH (CHENGALROYEN; DABBS, 2013).

A lacase é uma enzima do tipo oxidase que está amplamente distribuída em diversas bactérias, fungos e plantas (ZHENG *et al.*, 2014; FOROONTANFAR *et al.*,

2016), sendo capazes de catalisar a oxidação um amplo espectro de substratos como fenóis e derivados, aminas aromáticas, benzopirenos e organofosforados sem a necessidade da presença de mediadores (DURAN; ESPOSITO, 2000; FOROONTANFAR *et al.*, 2016). Assim, existe um interesse crescente na aplicação biotecnológica desta enzima, principalmente para a transformação e imobilização de compostos xenobióticos (VISWANATH *et al.*, 2014; FOROONTANFAR *et al.*, 2016).

Além da lacase, a lignina peroxidase é outra enzima extracelular com possíveis aplicações biotecnológicas, sendo capaz de mineralizar uma variedade de compostos aromáticos recalcitrantes e oxidar compostos fenólicos e compostos aromáticos policíclicos (KARAM; NICELL, 1997). A LiP é uma enzima estável, o que é uma vantagem técnica e econômica para sua aplicação no tratamento de efluentes industriais (KARAM; NICELL, 1997).

A enzima manganês peroxidase é capaz de catalisar a reação de oxidação de compostos fenólicos mono-aromáticos e corantes aromáticos (KARAM; NICELL, 1997). Porém, a MnP depende da presença de altas concentrações de Mn(III) e certos tipos de soluções tampão, o que faz com que sua aplicação para o tratamento de efluentes seja questionável (KARAM; NICELL, 1997).

De acordo com Husain (2006), a adição de mediadores redox aumenta a variedade de substratos nos quais uma enzima pode ser efetiva e aumenta, também, a eficiência do processo de degradação de compostos recalcitrantes no tratamento de efluentes contendo corantes.

2.4 O Gênero *Curvularia*

Dentre os ascomicetos que podem ser explorados para utilização biotecnológica, está o gênero *Curvularia*, que possui 133 espécies listadas no *Index Fungorum* (MANAMGODA *et al.*, 2015). Espécies de *Curvularia* podem ser endofíticas (JENA; TAYUNG, 2013), epífitas (DIAZ; OYAMA, 2007), saprófitas (MANAMGODA *et al.*, 2012) e patógenas de um amplo espectro de hospedeiros, incluindo humanos (SCOTT; CARTER, 2014), sendo que a maior parte das espécies conhecidas são patógenos oportunistas e saprófitas, que podem ser encontradas em diferentes substratos e hospedeiros (MANAMGODA *et al.*, 2015).

Além de estudos clínicos (QURESHI *et al.*, 2006; CUNHA *et al.*, 2013; SHINDE *et al.*, 2015), o gênero *Curvularia* já teve seu potencial biotecnológico explorado, por exemplo, na inibição de crescimento de patógenos (MONDOL *et al.*, 2017), produção de fenol oxidases, importantes na degradação da lignina e compostos fenólicos tóxicos (SHARMA *et al.*, 2016) e bioemulsificação (PARASZKIEWICZ *et al.*, 2002).

Neoh e colaboradores (2015) exploraram a eficiência da linhagem *Curvularia clavata* NZ2 na degradação dos corantes azóicos Preto Reativo 5 (RB5), Laranja Ácido 7 (AO7) e Vermelho Congo na presença e na ausência de fontes de carbono e nitrogênio, e relataram a capacidade da linhagem de *C. clavata* na degradação dos corantes, principalmente através da ação enzimática. O potencial de biodegradação de corantes por *Curvularia lunata* foi avaliado por Miranda *et al.* (2013), analisando a capacidade de biodegradação de efluentes têxteis em biorreatores, tanto em condições aeróbicas quanto anaeróbicas. A linhagem *C. lunata* URM 6179 se mostrou efetiva na descoloração do corante e na diminuição da toxicidade do efluente.

3 OBJETIVOS

3.1 Objetivo Geral

Investigar a capacidade de descoloração de corantes azóicos da indústria têxtil da família Remazol por isolados endofíticos de milho de *Curvularia lunata*.

3.2 Objetivos Específicos

1. Selecionar a melhor linhagem de *C. lunata* capaz de descolorar corantes da indústria têxtil por meio de ensaios de descoloração;
2. Avaliar o efeito de diferentes fontes de carbono e nitrogênio no meio de cultivo na capacidade de descoloração por meio de ensaios de descoloração;

3. Verificar a capacidade de descoloração de corantes através de ação enzimática e adsorção por meio de ensaios de descoloração;
4. Determinar a capacidade de *C. lunata* na descoloração de corantes de forma contínua por meio de ensaios de descoloração;
5. Aferir a toxicidade do produto descolorado por meio de bioensaio com feijão (*P. vulgaris*).

4 MATERIAL E MÉTODOS

4.1 Isolados fúngicos

Os isolados de *Curvularia lunata* LGMF987, LGMF996 e LGMF997 pertencem à coleção de microrganismos do Laboratório de Genética de Microrganismos (LabGeM) da UFPR.

O isolado LGMF987 foi extraída de *Zea mays* L. na Estação Experimental da Monsanto em Palotina, PR e os isolados LGMF996 e LGMF997 foram extraídas de *Z. mays* pertencentes à Empresa “Semília Genética e Melhoramento LTDA.”, atualmente denominada “Vertika Agropecuária LTDA.” plantadas na região de Bateias, Campo Largo, PR (FERREIRA, 2010).

Estudos prévios realizados pela equipe do LabGeM, identificaram que isolados desta espécie apresentaram potencial de descoloração de corantes da indústria têxtil (BURGEL, 2017).

4.2 Corantes têxteis

Os corantes azóicos da família Remazol utilizados foram Azul Reativo 220 (RB220), Vermelho Reativo 198 (RR198) e Amarelo Reativo 107 (RY107), gentilmente cedidos pela empresa Dystar (São Paulo, Brasil)

4.3 Meios de cultura e condições de cultivo de *Curvularia lunata*

As linhagens foram crescidas em BDA pH 5,8 e mantidos a 28°C no escuro. Os experimentos de descoloração foram conduzidos a 150 rpm, 28°C no escuro.

Meio Batata – Dextrose - Ágar (BDA)

Batata descascada e cortada 200 g

Dextrose 20 g

Ágar 15 g

Água destilada q.s.p. 1000 mL

As batatas foram cozidas em 500 mL de água destilada durante 20 minutos. Foi filtrado com uma peneira, e adicionada dextrose ao caldo e completou-se com água destilada para 1000 mL. O pH foi ajustado adicionando-se NaOH 1M e/ou HCl 1M conforme a necessidade e logo depois acrescentado o ágar.

Meio de Sais (MS)

KCl	0,5g
KH ₂ PO ₄	1,5g
MgSO ₄	0,5g
FeSO ₄	0,01g
ZnSO ₄	0,01g
dH ₂ O	1000mL

Após serem pesados, os ingredientes foram adicionados a 1L de água destilada. O pH foi ajustado adicionando-se NaOH 1M e/ou HCl 1M conforme a necessidade.

4.4 Avaliação da capacidade descorante de *C. lunata*

Para a seleção de uma linhagem que possua maior capacidade de descoloração, discos de micélio de 5 mm das linhagens de *C. lunata* crescidas por 7 dias em BDA pH 5,8 foram separados do meio de cultura com o auxílio de pinça e bisturi e incubados em frascos contendo 5 mL de meio de sais (MS) contendo 0,1 g/L de corante. Os frascos foram mantidos no escuro a 28 °C, 150 rpm durante 5 dias. Frascos contendo o corante sem o inóculo foram utilizados como controle (Figura 2).

FIGURA 2 - CULTURAS EM DESCOLORAÇÃO MANTIDAS EM SHAKER A 28°C



Fonte: O autor (2019)

Após o quinto dia, 1,5 mL da cultura foi centrifugada a 4000 rpm durante 15 minutos e o sobrenadante foi avaliado por espectrofotometria, sendo os picos de absorbância das ligações azo para os corantes iguais a 600 nm, 520 nm e 420 nm para os corantes RB220, RR198 e RY107, respectivamente (MARZALL-PEREIRA, 2017).

A porcentagem de descoloração foi determinada através da fórmula 1:

$$(1) \text{ Descoloração (\%)} = [(A_{\text{controle}} - A_{\text{cultura}}) / A_{\text{controle}}] \times 100$$

Onde A_{cultura} é a absorvância em determinado comprimento de onda da amostra contendo a fração líquida e A_{controle} é a amostra contendo apenas o corante.

O corante que apresentou os melhores resultados de descoloração e a linhagem com melhor desempenho foram selecionados para os testes subsequentes.

4.5 Fontes de C e N

Diferentes fontes e concentrações de carbono e nitrogênio foram testadas para avaliar o efeito do carbono e do nitrogênio na capacidade de descoloração de *C. lunata*. As fontes de carbono testadas foram glicose, amido, frutose, sacarose, lactose na concentração de 1% (p/v). As fontes de nitrogênio testadas foram nitrato de sódio, peptona, uréia, nitrato de cálcio na concentração de 0,6% (p/v). Foram também testadas condições na ausência da fonte de carbono ou nitrogênio e comparadas com a ausência de ambas as fontes previamente testada.

Os testes e as análises foram realizados conforme descrito na seção 4.3.

O micélio obtido foi utilizado para determinação de biomassa seca, através de secagem em estufa a 50 °C em papéis filtros durante 24h.

A unidade de descoloração (DAU), que relaciona a diminuição da absorvância do corante após incubação, por biomassa e tempo, e é uma variável unitária calculada de acordo com a fórmula 2 (MARZALL-PEREIRA et al., 2017):

$$(2) \text{ DAU} = [(A_{\text{controle}} - A_{\text{cultura}})/0,001] / T \times M$$

Sendo T o tempo em horas e M a massa micelial seca em mg.

Todas as condições foram testadas em triplicatas.

A condição que resultou no melhor resultado foi selecionada para os testes subsequentes.

4.6 Análise de Biossorção

Discos de 5 mm de micélio de *C. lunata* crescidos em BDA pH 5,8 durante 7 dias foram incubados em 0,1 M de HCl, 0,1 M de NaOH ou 1 M de NaOH durante 1h. A biomassa tratada foi então lavada em água destilada e incubada em 5 mL de MS contendo 0,1 g/L de corante durante 5 dias (PATEL; SURESH, 2008, adaptado).

A percentagem média de descoloração foi determinada conforme descrito na seção 4.3.

4.7 Avaliação da atividade descorante de *C. lunata*

Os ensaios de descoloração foram realizados em MS contendo 0,1 g/L de corante.

4.7.1 Descoloração Diária

Para verificar o número de dias em que é atingido o máximo de descoloração do corante, um disco de micélio de 5 mm de *C. lunata* foi inoculado por frasco contendo 5 mL de MS com corante (0,1 g/L). O tratamento foi realizado durante 10 dias, sendo que a cada dia uma amostra foi retirada para verificar a descoloração e a massa seca. A percentagem média de descoloração foi determinada conforme descrito na seção 4.3 e a biomassa seca foi quantificada.

4.7.2 Descoloração Sequencial

Em frascos contendo 10 mL de MS e corante na concentração de 0,1 g/L foram inoculados dois discos de micélio de 5 mm de *C. lunata*. O tratamento foi realizado em 5 ciclos com 24h de intervalo entre eles e, a cada ciclo, metade do volume foi retirado e o mesmo volume de meio de cultura com corante foi adicionado ao sistema (NEOH *et al.*, 2015). A percentagem média de descoloração foi determinada conforme descrito na seção 4.3.

4.8 Avaliação da Toxicidade do Produto Descorado

O produto descorado obtido do corante RB220 foi avaliado por meio de um teste de fitotoxicidade utilizando *Phaseolus vulgaris* (NEOH *et al.*, 2015). Foram desinfestadas superficialmente sementes com massa entre 0,25 g e 0,30 g, conforme protocolos de Pereira *et al.*, 1993 e Araújo *et al.* (2001) (ANEXO 1). Foram preparados em copos plásticos com algodão esterilizado e em cada copo foram posicionadas 5 sementes de *P. vulgaris*, sendo incubados em temperatura ambiente durante 120 h e umedecidas diariamente com 1 mL de água destilada (controle), 1 mL de MS com 0,1 g/L de corante RB220 ou 1 mL do produto descorado, obtido de uma cultura de 5 mL de MS inoculado com 1 disco de micélio de 5 mm, a 28°C e 150 rpm após 5 dias. O teste só foi considerado válido quando germinação do controle foi superior a 90%.

O índice de germinação (IG) foi calculado de acordo com a fórmula (3)

$$(3) \text{ IG} = (\text{Sg} \times \text{Cr}) / (\text{Sc} \times \text{Rc}) \times 100$$

Onde Sg é o número médio de sementes germinadas nas amostras, Cr é o comprimento médio das raízes da amostra, Sc é o número médio de sementes germinadas no controle e Rc é comprimento médio das raízes do controle.

Amostras cujo índice de germinação (IG) varia entre 50 e 80% são considerados moderadamente tóxicos e valores acima de 80% são considerados não-tóxicos (Zucconi *et al.* 1985).

4.9 Análises Estatísticas

As análises estatísticas foram realizadas utilizando os softwares Bioestat 5.3 (AYRES *et al.*, 2007) e GraphPad Prism versão 8.1.2. Os dados foram submetidos ao teste de Shapiro Wilk e Lilliefors para verificação de normalidade. Quando dados normais, foi seguida análise de variância (ANOVA) e teste de comparação de

médias (teste de Tukey). Para variáveis não normais, o teste de Kruskal-Wallis com o teste post-hoc de Dunn foi aplicado.

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 Seleção de Isolados e Corantes

Os três isolados de *C. lunata* utilizados, LGMF987, LGMF996 e LGMF997 foram capazes de descorar os corantes testados. Após o quinto dia de incubação em meio de sais contendo corante reativo, as culturas utilizando o corante RB220 apresentaram o melhor resultado de descoloração, com uma média de $63,26 \pm 25,07\%$, com os três isolados analisados juntos, diferindo significativamente da taxa de descoloração dos corantes RY107 e RR198 ($p < 0,001$), sendo que não ocorreu uma diferença significativa entres os corantes amarelo e vermelho.

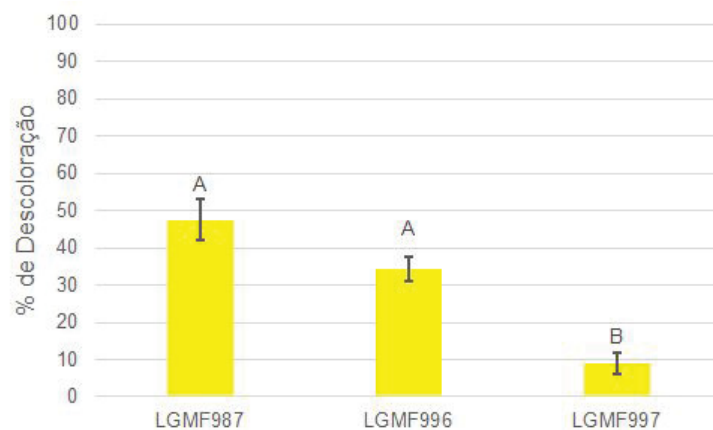
Os isolados LGMF987 e LGMF996 (Figura 3) obtiveram os melhores resultados de descoloração do corante RY107 ($47,56 \pm 5,38\%$ e $34,42 \pm 3,34\%$, respectivamente), diferindo significativamente da taxa de descoloração da linhagem LGMF997 ($p < 0,001$) (Figura 4).

FIGURA 3 - RESULTADO DA DESCOLORAÇÃO DO CORANTE RY107 PELO ISOLADO LGMF996 APÓS 5 DIAS DE CRESCIMENTO EM MS CONTENDO 0,1 g/L DE CORANTE



Fonte: O autor (2019)

FIGURA 4 - PORCENTAGEM DE DESCOLORAÇÃO REALIZADA PELOS ISOLADOS DE *C. lunata* APÓS 5 DIAS DE CRESCIMENTO EM MS CONTENDO 0,1 g/L DO CORANTE AMARELO RY107

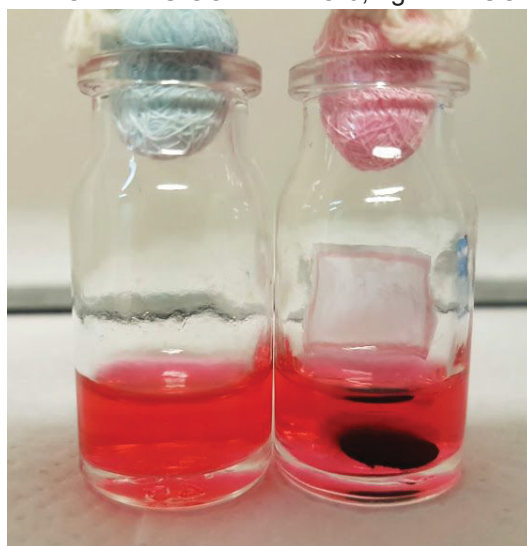


NOTA: Teste de Kruskal-Wallis com teste post-hoc de Dunn, significativo ao nível de 1 % de probabilidade ($p < 0,01$).

FONTE: O autor (2019)

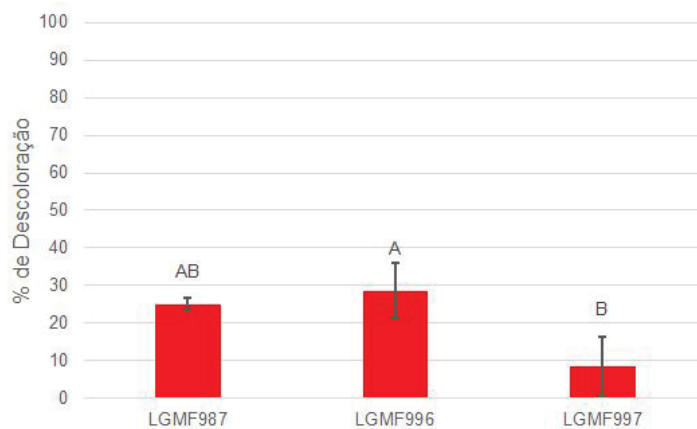
Nos ensaios com o corante RR198, a porcentagem de descoloração variou entre $8 \pm 7,98\%$ e $28 \pm 7,41\%$. Os isolados LGMF996 e LGMF997 (Figura 5) diferiram significativamente entre si ($p < 0,01$) (Figura 6).

FIGURA 5 - RESULTADO DA DESCOLORAÇÃO DO CORANTE RR198 PELO ISOLADO LGMF997 APÓS 5 DIAS DE CRESCIMENTO EM MS CONTENDO 0,1 g/L DE CORANTE



Fonte: O autor (2019)

FIGURA 6 - PORCENTAGEM DE DESCOLORAÇÃO REALIZADA PELOS ISOLADOS DE *C. lunata* APÓS 5 DIAS DE CRESCIMENTO EM MS CONTENDO 0,1 g/L DO CORANTE VERMELHO RR198



NOTA: Teste de Kruskal-Wallis com teste post-hoc de Dunn, significativo ao nível de 1 % de probabilidade ($p < 0,01$).

FONTE: O autor (2019)

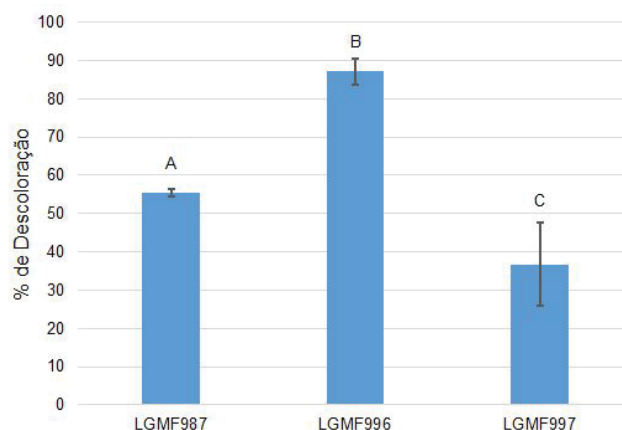
Já para o corante RB220, houve uma diferença significativa entre a taxa de descoloração entre as três linhagens utilizadas ($p < 0,01$), sendo que a linhagem LGMF996 (Figura 7) resultou nas melhores porcentagens (Figura 8).

FIGURA 7 - RESULTADO DA DESCOLORAÇÃO DO CORANTE RB220 PELO ISOLADO LGMF996 APÓS 5 DIAS DE CRESCIMENTO EM MS CONTENDO 0,1 g/L DE CORANTE



Fonte: O autor (2019)

FIGURA 8 - PORCENTAGEM DE DESCOLORAÇÃO REALIZADA PELOS ISOLADOS DE *C. lunata* APÓS CINCO DIAS DE CRESCIMENTO EM MS CONTENDO 0,1 g/L DO CORANTE AZUL RB220



NOTA: Teste de Tukey, significativo ao nível de 1 % de probabilidade ($p < 0,01$).

FONTE: O autor (2019)

A variação na descoloração dos diferentes corantes por um mesmo isolado pode ocorrer devido à influência das estruturas químicas que limitam a eficiência do processo (Chivukula; Renganathan, 1995). De acordo com Husain (2006), corantes do grupo azo, como os corantes RB220, RR198 e RY107, possuem grande variação em cores e estruturas, sendo, de forma geral, resistentes a degradação aeróbica.

A capacidade do isolado LGMF996 descolorar $87,12 \pm 3,4\%$ do corante RB220 em um meio sem adição de fontes de carbono e nitrogênio sugere que *C. lunata* é capaz de utilizar o corante como fonte única de nutrientes no processo de descoloração. Em condições sem adição de carbono e nitrogênio, *Curvularia clavata* foi capaz de descolorar os corantes AO7 ($44 \pm 3\%$), Vermelho Congo ($76 \pm 1,5\%$) e RB5 ($96,2 \pm 1,8\%$) numa concentração de 100 ppm, quando mantida a 150 rpm e temperatura ambiente durante 24h (NEOH *et al.*, 2015).

5.2 Fontes de C e N

O isolado LGMF996 foi testado em 30 diferentes combinações de fontes de carbono (amido, frutose, lactose, glicose e sacarose) e nitrogênio (nitrato de cálcio, nitrato de sódio, peptona e uréia) ou na ausência de uma das fontes. As combinações utilizando uréia e peptona foram descartadas da análise por

resultarem na alteração da coloração do meio, totalizando 17 combinações analisadas, além do MS.

Com exceção da utilização de frutose como fonte de carbono sem suplementação de nitrogênio e NaNO_3 sem adição de carbono, todas as combinações avaliadas resultaram em uma descoloração superior a 85% (TABELA 1). Não foram observadas diferenças significativas entre as combinações utilizadas ($p > 0,05$). Como não houve diferença significativa entre as melhores condições com adição de fontes de carbono e nitrogênio em relação a utilização do meio de sais, a mistura sem adição de fontes adicionais de carbono e nitrogênio foi selecionada para os testes subsequentes.

TABELA 1 - PORCENTAGEM DE DESCOLORAÇÃO UTILIZANDO A LINHAGEM LGMF996 APÓS 5 DIAS DE CRESCIMENTO EM DIFERENTES FONTES DE CARBONO E NITROGÊNIO CONTENDO 0,1 g/L DO CORANTE AZUL RB220

Fonte de Carbono	Fonte de Nitrogênio	Descoloração Média
Frutose	Nitrato de Cálcio	87.291 ± 6.274
	Nitrato de Sódio	87.942 ± 3.843
	Sem adição de Nitrogênio	80.033 ± 5.949
Amido	Nitrato de Cálcio	89.907 ± 6.085
	Nitrato de Sódio	90.891 ± 5.094
	Sem adição de Nitrogênio	88.992 ± 9.955
Lactose	Nitrato de Cálcio	89.967 ± 4.026
	Nitrato de Sódio	90.390 ± 5.336
	Sem adição de Nitrogênio	90.591 ± 2.548
Sacarose	Nitrato de Cálcio	88.648 ± 5.086
	Nitrato de Sódio	85.634 ± 8.154
	Sem adição de Nitrogênio	91.008 ± 1.919
Glicose	Nitrato de Cálcio	85.557 ± 4.417
	Nitrato de Sódio	89.915 ± 3.661
	Sem adição de Nitrogênio	91.022 ± 3.418
Sem adição de Carbono	Nitrato de Cálcio	88.054 ± 3.053
	Nitrato de Sódio	79.899 ± 7.156
	Sem adição de Nitrogênio	87.118 ± 3.400

NOTA: Teste de Kruskal-Wallis com teste post-hoc de Dunn, significativo ao nível de 5% de probabilidade ($p < 0,05$).

FONTE: O autor (2019)

A variação nas fontes de carbono e nitrogênio, ou ainda a ausência de uma ou ambas as fontes de nutrientes pode resultar em diferentes resultados na descoloração de corantes utilizando uma mesma linhagem (FU; VIRARAGHAVAN, 2001). Utilizando *Curvularia clavata* NZ2 em meio contendo frutose (0,6% p/v) e peptona (0,3% p/v) como fontes de carbono e nitrogênio, Neoh *et al.* (2015)

reportaram uma descoloração superior a 90% dos corantes Vermelho Congo e RB5 na diluição de 100 ppm, na presença de ambas as fontes de nutrientes, e 75% e 88%, respectivamente, na ausência de uma fonte de nitrogênio, quando mantidos a 150 rpm durante 24h em temperatura ambiente.

Já que a descoloração de corantes pode ocorrer tanto devido à adsorção pelo micélio ou por ação enzimática (POPLI; PATEL, 2014), a biomassa produzida pode ter influência no processo. Assim, é necessário verificar a relação entre produção de biomassa e a descoloração do corante azóico através da unidade de descoloração (DAU) (TABELA 2). Como o DAU relaciona a biomassa produzida, a taxa de descoloração e o tempo de incubação, valores maiores de DAU podem indicar maior eficiência no processo de descoloração. A utilização de amido como fonte de carbono, lactose, sacarose e glicose sem adição de N, glicose com NaNO_3 ou sem adição de fontes de nitrogênio e as três combinações sem adição de fontes de carbono resultaram nos melhores resultados de descoloração por miligrama de micélio ($p < 0,05$) para o isolado LGFM996 com o corante RB220, sendo que o DAU para a utilização de amido sem adição de nitrogênio e nitrato de sódio sem adição de carbono resultaram em um DAU superior a 4 (Tabela 2). Utilizando *N. brasiliensis* em MS suplementado com glicose (1 g/L) com 0,1 g/L do corante RB220, Marzall-Pereira (2017) obteve um valor de DAU igual a 0,95 após 24h de incubação.

TABELA 2 - UNIDADE DE DESCOLORAÇÃO MÉDIA UTILIZANDO O ISOLADO *C. lunata* LGMF996, APÓS 5 DIAS DE CULTIVO EM DIFERENTES FONTES DE CARBONO E NITROGÊNIO

Fonte de Carbono	Fonte de Nitrogênio	Descoloração Média	
Frutose	Nitrato de Cálcio	0.358 ± 0.081	B
	Nitrato de Sódio	0.369 ± 0.094	B
	Sem adição de Nitrogênio	0.891 ± 0.241	B
Amido	Nitrato de Cálcio	0.336 ± 0.085	B
	Nitrato de Sódio	0.373 ± 0.103	B
	Sem adição de Nitrogênio	4.328 ± 2.477	A
Lactose	Nitrato de Cálcio	0.512 ± 0.218	B
	Nitrato de Sódio	0.607 ± 0.178	B
	Sem adição de Nitrogênio	1.527 ± 0.762	A
Sacarose	Nitrato de Cálcio	0.516 ± 0.269	B
	Nitrato de Sódio	0.621 ± 0.188	B
	Sem adição de Nitrogênio	2.267 ± 1.249	AB
Glicose	Nitrato de Cálcio	0.658 ± 0.505	B
	Nitrato de Sódio	0.648 ± 0.370	AB
	Sem adição de Nitrogênio	1.731 ± 0.281	A
Sem adição de Carbono	Nitrato de Cálcio	4.084 ± 2.013	A
	Nitrato de Sódio	3.635 ± 1.765	A
	Sem adição de Nitrogênio	1.953 ± 0.642	A

NOTA: Teste de Kruskal-Wallis com teste post-hoc de Dunn, significativo ao nível de 5% de probabilidade ($p < 0,05$).

FONTE: O autor (2019)

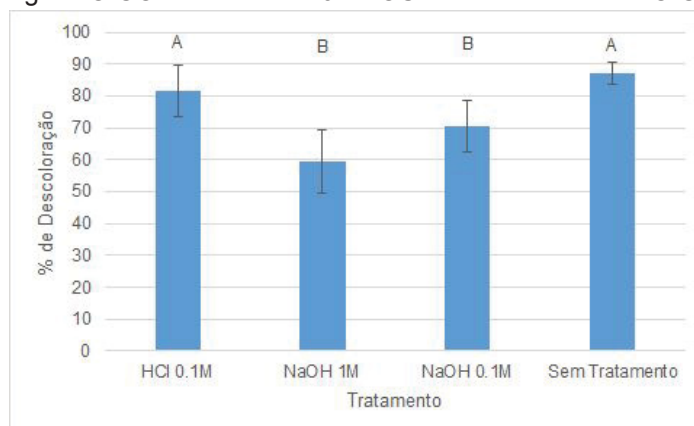
De acordo com Solís *et al.* (2012), amido é frequentemente utilizado pela indústria têxtil como um aditivo na finalização do processo de tingimento, portanto, o alto valor de DAU obtido por *C. lunata* na presença de amido como fonte de carbono pode ser uma vantagem para sua aplicação no tratamento de efluentes líquidos da indústria têxtil.

5.3 Análise de Biossorção

De acordo com Aksu (2005), a eficiência de biossorção pela biomassa fúngica pode ser aumentada através de pré-tratamentos como a exposição a químicos como formaldeído, NaOH, CaCl₂ e ácidos. Entretanto, quando tratado com HCl 0,1M ou NaOH nas concentrações 0,1 M e 1M, não houve uma melhora no processo de descoloração da mistura contendo corante RB220 (0,1 g/L), havendo uma diminuição na eficiência do processo quando pré-tratado com NaOH (Figura 9).

Utilizando 0,02 g de biomassa *Aspergillus foetidus* pré-tratada com HCl ou NaOH durante 1h e então incubada por 3 h em 100 mL de uma solução contendo 0,1 g/L do corante reativo Preto Reativo 5 (RB5), Patel e Suresh (2008) relataram um aumento da eficiência do processo de descoloração ao utilizar NaOH 0,1M com 97% de remoção da cor contra 67%, 69% e 70% com NaOH 1M, biomassa não tratada e HCl 0,1M, respectivamente. A aglomeração da biomassa e uma consequente diminuição do número de sítios de ligação para as moléculas do corante são apontadas como uma possível causa para a diminuição da eficiência do processo (PATEL; SURESH, 2008).

FIGURA 9 - PORCENTAGEM DE DESCOLORAÇÃO DIÁRIA UTILIZANDO A LINHAGEM LGMF996 EM MS CONTENDO 0,1 g/L DO CORANTE RB220 APÓS PRÉ-TRATAMENTO COM HCl E NaOH



NOTA: Teste de análise de variância (ANOVA) e teste de Tukey, significativo ao nível de 5% de probabilidade ($p < 0,05$).

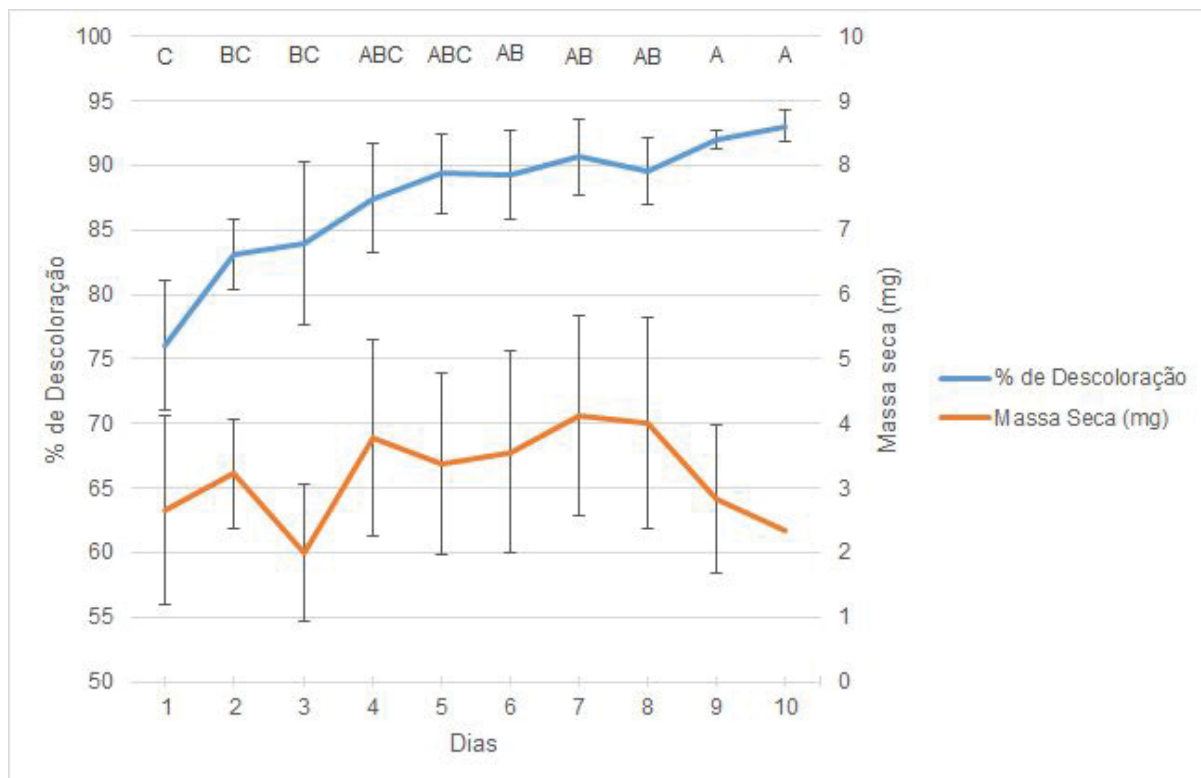
Fonte: O autor (2019)

5.4 Ensaios de Descoloração

5.4.1 Descoloração Diária

Após 24h de incubação, a linhagem LGMF996 descorou $76 \pm 5,08\%$ do corante RB220, atingindo uma porcentagem de descoloração superior a 85% a partir de quatro dias de tratamento (Figura 10). Foi observada um aumento gradual na descoloração a cada dia, com os três primeiros dias diferindo significativamente da descoloração obtida no nono e no décimo dia ($p > 0,05$). A partir do quarto dia, não houve aumento significativo na descoloração do corante RB220 (0,1 g/L). A biomassa micelial seca não diferiu ($p > 0,05$), indicando que não há uma relação entre a quantidade de biomassa de *C. lunata* e a descoloração do corante RB220.

FIGURA 10 - PORCENTAGEM DE DESCOLORAÇÃO DIÁRIA UTILIZANDO A LINHAGEM LGMF996 EM MS CONTENDO 0,1 g/L DO CORANTE RB220 E MASSA MICELIAL SECA EM MILIGRAMAS



NOTA: Teste de Kruskal-Wallis com teste post-hoc de Dunn, significativo ao nível de 5% de probabilidade ($p < 0,05$). Teste de ANOVA: massa micelial seca não apresenta diferença significativa ($p > 0,05$).

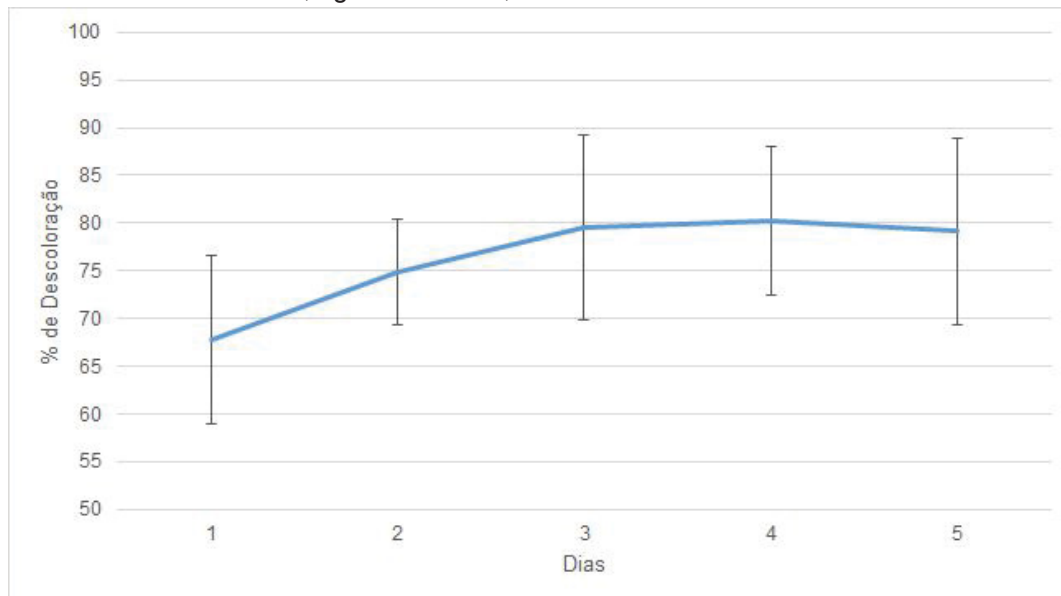
Fonte: O autor (2019)

5.4.2 Descoloração Sequencial

Quando mantido em uma condição de ciclos de exposição ao corante RB220, o isolado LGMF996 foi capaz de descolorir $67,75\% \pm 8,82\%$ do corante durante o primeiro tempo de detenção hidráulica (TDH; 24h) e se manteve estável entre 74% e 81% de descoloração durante os quatro ciclos seguintes, sem apresentar diferenças significativas ($p > 0,05$) (Figura 11). Os resultados obtidos indicam a capacidade de reaproveitamento da massa micelial do isolado LGMF996 em mais de um processo de descoloração de corantes têxteis. Apesar dos valores atingidos serem um pouco inferiores com esta metodologia, o tempo de retenção é baixo em relação a alguns trabalhos na literatura. Wang *et al.* (2013) obtiveram uma descoloração de 95% do corante RB5 utilizando *Bacillus* sp. YZU1, porém com um TDH de 120h, já Neoh *et al.* (2015), utilizando *C. clavata* obtiveram uma

descoloração de 95% de RB5 nas primeiras 24h de detenção, com valores variando entre 81 e 91% nos quatro ciclos seguintes.

FIGURA 11 - ANÁLISE SEQUENCIAL DA DESCOLORAÇÃO DE *Curvularia lunata* LGMF996 EM MEIO DE SAIS CONTENDO 0,1 g/L DE RB220, DURANTE 5 CICLOS DE 24 HORAS



NOTA: Teste de Kruskal-Wallis com teste post-hoc de Dunn, significativo ao nível de 5% de probabilidade ($p < 0,05$).

FONTE: O autor (2019)

5.4.3 Avaliação de Toxicidade

A avaliação de fitotoxicidade do corante RB220 descorado *C. lunata* LGMF996 resultou em um IG de 13,9% antes do tratamento e de 6,9% após o tratamento, indicando alta toxicidade do corante. Em um estudo utilizando para o tratamento biológico de efluentes da indústria têxtil, Anastasi *et al.* (2011) também relatou um aumento da toxicidade no produto descorado. Já Neoh *et al.* (2015), relataram uma diminuição da toxicidade do corante RB5 descorado após tratamento com *C. clavata*, de um índice considerado tóxico para moderadamente tóxico.

Os efluentes líquidos e coloridos resultantes da indústria têxtil são geralmente tóxicos devido a utilização de corantes sintéticos considerados mutagênicos e carcinogênicos. Além disso, de acordo com Saavedra *et al.* (2006), é possível que novos metabólitos sejam formados durante processos de tratamento dos efluentes,

sendo então necessário a avaliação de fitotoxicidade da descoloração de corantes azóicos.

Os resultados obtidos reforçam a necessidade de estudos de descoloração utilizando tratamentos biológicos serem alinhados com avaliação da toxicidade do produto resultante.

6 CONCLUSÃO

Os isolados endofíticos de *C. lunata* se mostraram capazes de descolorar efetivamente o corante Azul Reativo 220. O isolado LGMF996 foi capaz de descolorar $87,12 \pm 3,4\%$ de uma mistura contendo 0,1 g/L de corante sem a adição de fontes de carbono e nitrogênio.

A utilização de glicose, amido, frutose, sacarose, lactose na concentração de 1% (p/v) como fontes de carbono e nitrato de cálcio e nitrato de sódio na concentração de 0,6% (p/v) não resultaram em diferenças significativas entre si e da mistura sem adição de fontes de carbono e nitrogênio na descoloração do corante RB220.

A unidade de descoloração (DAU) indicou uma maior eficiência no processo de descoloração do azo corante RB220 com a utilização de amido, lactose, glicose ou sacarose sem adição de nitrogênio, glicose suplementada com NaNO_3 e sem adição de fontes de nitrogênio e carbono.

O pré-tratamento da biomassa micelial com HCl ou NaOH não apresentou melhoras significativas na remoção da cor, havendo diminuição da eficiência nos tratamentos utilizando hidróxido de sódio.

O isolado LGMF996 apresentou uma rápida eficiência na descoloração do corante RB220, tendo descolorado mais de 75% do corante em apenas 24h de retenção, atingindo 85% de descoloração a partir 96h de tratamento. A ausência de variação na biomassa seca resultante indica não haver uma relação direta entre formação de biomassa e capacidade descoloração em *C. lunata* LGMF996.

Ainda, *C. lunata* LGMF996 foi capaz de manter uma média superior a 67% de descoloração em um sistema de ciclos de adição de corante, indicando um potencial de reaproveitamento da massa micelial.

O produto descorado resultante não apresentou diminuição da toxicidade, resultando em um índice de germinação de 6,9%, enquanto a mistura contendo o corante RB220 0,1 g/L sem tratamento resultou em um índice de 13,9%, sendo ambos os valores são considerados muito tóxicos em testes com *P. vulgaris*.

REFERÊNCIAS

ABADULLA, E. *et al.* Decolorization and detoxification of textile dyes with a laccase from *Trametes hirsuta*. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 66, n. 8, p. 3357–3362. 2000.

ABNT - ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS. **NBR 15411**: Ecotoxicologia aquática - Determinação do efeito inibitório de amostras de água sobre a emissão de luz de *Vibrio fischeri* (ensaio de bactéria luminescente). 2006.

ABNT - ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS. **NBR 12713**: Ecotoxicologia aquática - Toxicidade aguda - Método de ensaio com *Daphnia* spp (Crustacea, Cladocera). 2016

AKSU, Z. Application of biosorption for the removal of organic pollutants: a review. **Process Biochem.** 40, 997–1026. 2005.

AKSU, Z.; DÖNMEZ, G. A comparative study on the biosorption characteristics of some yeasts for Remazol Blue reactive dye. **Chemosphere**, v. 50, n. 8, p. 1075–1083. 2003.

ALMEIDA, E.J.R. *et al.* **A indústria têxtil no Brasil**: Uma revisão dos seus impactos ambientais e possíveis tratamentos para os seus efluentes. 2016

ANASTASI, A. *et al.* Decolourisation and detoxification in the fungal treatment of textile wastewaters from dyeing processes. **New biotechnology**, v. 29, n. 1, p. 38-45, 2011.

ARSLAN, S. *et al.* A Review of State-of-the-Art Technologies in Dye-Containing Wastewater Treatment–The Textile Industry Case. **Textile Wastewater Treatment**. InTech, 2016.

AYED, L *et al.* Biodegradation and decolorization of triphenylmethane dyes by *Staphylococcus epidermidis*. **Desalination**, v. 260, n. 1-3, p. 137-146, 2010.

AYRES, M. *et al.* Bioestat Versão 5.3. **Sociedade Civil Mamirauá, MCT-CNPq, Belém, Pará, Brasil**, 2007.

BENGHAZI, L. *et al.* Production of the *Phanerochaete flavidio-alba* laccase in *Aspergillus niger* for synthetic dyes decolorization and biotransformation. **World Journal of Microbiology and Biotechnology**, v. 30, n. 1, p. 201-211, 2014.

BENNETT, J.W. Mycotechnology: the role of fungi in biotechnology. **J. Biotechnol.**, v. 66, p. 101-107. 1998.

BRASIL. Ministério do Meio Ambiente. **CONAMA n. 357**. Resolução n. 357 de 17 de março de 2005. 2005.

BRASIL. Ministério do Meio Ambiente. **CONAMA n. 430**. Resolução n. 430 de 13 de maio de 2011. 2011.

BRILLAS, E.; MARTÍNEZ-HUITLE, C.A. Decontamination of wastewaters containing synthetic organic dyes by electrochemical methods: an updated review. **Appl. Catal. B: Environ.** v. 166–167, p. 603–643. 2015.

BRUSCATO, E. **Potencial Biotecnológico de Fungos Endofíticos na Descoloração de Corantes da Indústria Têxtil Potencial Biotecnológico de Fungos Endofíticos na Descoloração de Corantes da Indústria Têxtil**. Dissertação (Mestrado em Genética) - Setor de Ciências Biológicas, Universidade Federal do Paraná, Curitiba. 2011.

BULLA, L.M.C. *et al.* Activity of the endophytic fungi *Phlebia* sp. and *Paecilomyces formosus* in decolourisation and the reduction of reactive dyes cytotoxicity in fish erythrocytes. **Environmental Monitoring and Assessment**, v. 189, n. 2, p. 88. 2017.

BURGEL, G. **Descoloração Do Corante Têxtil Remazol Azul Reativo 220 pelo Fungo Endofítico *Curvularia lunata***. 30 f. Trabalho de Graduação (Bacharelado em Ciências Biológicas) – Setor de Ciências Biológicas, Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2017.

CARITÁ, R.; MARIN-MORALES, M.A. Induction of chromosome aberrations in the *Allium cepa* test system caused by the exposure of seeds to industrial effluents contaminated with azo dyes. **Chemosphere**, v. 72, n. 5, p. 722-725, 2008.

CHEN, B. *et al.* Influence of textile dye and decolorized metabolites on microbial fuel cell-assisted bioremediation. **Bioresource technology**, v. 200, p. 1033-1038. 2016.

CHENGALROYEN, M.D.; DABBS, E.R. The microbial degradation of azo dyes: minireview. **World Journal of Microbiology and Biotechnology**, v. 29, n. 3, p. 389-399, 2013.

CHENGALROYEN, M.D.; DABBS, E.R. The microbial degradation of azo dyes: minireview. **World Journal of Microbiology and Biotechnology**, v. 29, n. 3, p. 389-399, 2013.

CHIVUKULA, M.; RENGANATHAN, V. Phenolic azo dye oxidation by laccase from *Pyricularia oryzae*. **Appl. Environ. Microbiol.**, v. 61, n. 12, p. 4374-4377, 1995.

CNI – CONFEDERAÇÃO NACIONAL DA INDÚSTRIA; ABIT – ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DA INDÚSTRIA TÊXTEL E DE CONFECÇÃO. **Têxtil e confecção: inovar, desenvolver e sustentar** (Cadernos setoriais Rio+20). CNI e ABIT. Brasília, 2012.

COUTO, S.R. Dye removal by immobilised fungi. **Biotechnology advances**, v. 27, n. 3, p. 227-235, 2009.

CUNHA, K.C. da *et al.* In vitro antifungal susceptibility and molecular identity of 99 clinical isolates of the opportunistic fungal genus *Curvularia*. **Diagnostic Microbiology and Infectious Disease**. v. 76, p. 168–174. 2013.

DIAZ, I.A.; OYAMA, K. Conservation genetics of an endemic and endangered epiphytic *Laelia speciosa* (Orchidaceae). **American Journal of Botany** v. 94, n. 2, p. 184–193. 2007

DURÁN, N.; ESPOSITO, E. Potential applications of oxidative enzymes and phenoloxidase-like compounds in wastewater and soil treatment: a review. **Appl. Catal. B Environ.** v. 28, p. 83–99. 2000

ETAD - *Ecological and Toxicological Association of Dyes and Organic Pigments Manufacturers*. **Code of Ethics**. 2016. Disponível em: <<http://etad.com/en/about-etad/code-of-ethics.html>>. Acesso em 13 mar. 2018

FERREIRA, L.S. **Caracterização de isolados de *Curvularia* spp. Endofíticos de milho (*Zea mays* L.) por parâmetros morfológicos e moleculares**. Dissertação (Mestrado em Genética) - Setor de Ciências Biológicas, Universidade Federal do Paraná, Curitiba. 2010.

FILLAT, Ú. *et al.* Screening of eucalyptus wood endophytes for laccase activity. **Process Biochemistry**. 2016.

FOROOTANFAR, H. *et al.* Studies on the laccase-mediated decolorization, kinetic, and microtoxicity of some synthetic azo dyes. **Journal of Environmental Health Science and Engineering**, v. 14, n. 1, p. 7, 2016.

FU, Y.; VIRARAGHAVAN, T. Fungal decolorization of dye wastewaters: A review. **Bioresource Technology**, v. 79, n. 3, p. 251–262, 2001.

GUARATINI, C.C.I.; ZANONI, V.B. Corantes Têxteis. **Química Nova**, v. 23, n. 1, p. 71–78. 2000.

HAMMER, Ø. *et al.* PAST: Paleontological statistics software package for education and data analysis. **Palaeontologia Electronica**, v. 4, n. 1. 2001. Disponível em: http://palaeo-electronica.org/2001_1/past/issue1_01.htm. Acesso em 19 jul. 2018

HAO, J. *et al.* Production of laccase by a newly isolated deuteromycete fungus *Pestalotiopsis* sp. and its decolorization of azo dye. **Journal of industrial microbiology & biotechnology**, v. 34, n. 3, p. 233, 2007.

HUSAIN, Q. Potential Applications of the Oxidoreductive Enzymes in the Decolorization and Detoxification of Textile and Other Synthetic Dyes from Polluted Water: A Review. **Crit. Rev. Biotechnol.** 26, 201–221. 2006.

JENA, S.K.; TAYUNG, K. Endophytic fungal communities associated with two ethno-medicinal plants of Similipal Biosphere Reserve, India and their antimicrobial prospective. **Journal of Applied Pharmaceutical Science** v. 3. 2013.

JIN, X. *et al.* Decolourisation of a Dye Industry Effluent by *Aspergillus fumigatus* XC6. **Appl. Microbiol. Biotechnol.**, v. 74, p. 239-243. 2007.

KABBOUT, R.; TAHA, S. Biodecolorization of textile dye effluent by biosorption on fungal biomass materials. **Physics Procedia**, v. 55, p. 437-444. 2014.

KALYANI, D. C. *et al.* Biodegradation of reactive textile dye Red BLI by an isolated bacterium *Pseudomonas* sp. SUK1. **Bioresource Technology**, v. 99, n. 11, p. 4635-4641, 2008.

KAMIDA, H. *et al.* Biodegradação de efluente têxtil por *Pleurotus sajor-caju*. **Química Nova**, v. 28, n. 4, p. 629–632. 2005.

KARAM, J.; NICELL, J. Potential applications of enzymes in waste treatment. **Journal of Chemical Technology and Biotechnology**, v. 69, n. 2, p. 141–153. 1997.

KARIGAR, C.S.; RAO, S.S. Role of microbial enzymes in the bioremediation of pollutants: a review. **Enzyme Research**. p. 1–11. 2011.

KATHERESAN, V. *et al.* Efficiency of various recent wastewater dye removal methods: A review. **Journal of environmental chemical engineering**. 2018.

KHAN, R. *et al.* Microbial decolorization and degradation of synthetic dyes: a review. **Rev Environ Sci. Biotechnol.** v. 12, p. 75–97. 2013.

KHANDARE, R.V.; GOVINDWAR, S.P. Phytoremediation of textile dyes and effluents: Current scenario and future prospects. **Biotechnology Advances**. 2015

KUMAR, M.N.V.R. *et al.* Trends in color removal from textile mill effluents. **Colorage**, v. 40, p. 25-34, 1998.

KUMAR, S.A. *et al.* Bioremediation and Detoxification of a Textile Azo Dye-Evans Blue by Bacterial Strain AKIP-2. **Int. J. Curr. Microbiol. App. Sci**, v. 6, n. 4, p. 2687-2694. 2017.

LEME, D.M.; MARIN-MORALES, M.A. *Allium cepa* test in environmental monitoring: a review on its application. **Mutation Research/Reviews in Mutation Research**, v. 682, n. 1, p. 71-81, 2009.

LIANG, C. *et al.* Treatment of highly concentrated wastewater containing multiple synthetic dyes by a combined process of coagulation/flocculation and nanofiltration. **Journal of Membrane Science**, v. 469, p. 306-315, 2014.

MACHADO, K.M.G *et al.* Biodegradation of reactive textile dyes by basidiomycetous fungi from Brazilian ecosystems. **Brazilian journal of microbiology**, v. 37, n. 4, p. 481-487. 2006.

MANAMGODA, D.S. *et al.* Two new *Curvularia* species from northern Thailand. **Sydowia**, v. 64, n. 2, p. 255-266, 2012.

MANAMGODA, D.S. *et al.* A taxonomic and phylogenetic re-appraisal of the genus *Curvularia* (Pleosporaceae): human and plant pathogens. **Phytotaxa**, v. 212, n. 3, p. 175-198, 2015.

MARZALL-PEREIRA, M. **Descoloração de Corantes Têxteis por Novas Espécies e Linhagens Mutantes de *Neopestalotiopsis* e Secreção Proteica de *Neofusicoccum* sp.** Dissertação (Mestrado em Genética) - Setor de Ciências Biológicas, Universidade Federal do Paraná, Curitiba. 2017.

MIRANDA, R.C. *et al.* Biotreatment of textile effluent in static bioreactor by *Curvularia lunata* URM 6179 and *Phanerochaete chrysosporium* URM 6181. **Bioresource Technology**. v. 142, p. 36. 2013.

MONDOL, M.A. *et al.* Metabolites from the endophytic fungus *Curvularia* sp. M12 act as motility inhibitors against *Phytophthora capsici* zoospores. **J Nat Prod**. v. 80, p. 347-355. 2017.

NARESH, B. *et al.* Recent Biological Technologies for Textile Effluent Treatment. **Int. Res. J. Biol. Sci.** 2, 77–82. 2013

NEOH, C.H. *et al.* Biodecolorization of recalcitrant dye as the sole source of nutrition using *Curvularia clavata* NZ2 and decolorization ability of its crude enzymes. **Environ Sci Pollut Res Int**. v. 22, p. 11669–11678. 2015.

NIEBISCH, C. H. **Biodegradação do Corante Têxtil Remazol Azul por *Lentinus crinitus*, *Lepista sordida* e *Hydnopolyporus fimbriatus*.** Dissertação (Mestrado em Ciências - Bioquímica) - Setor de Ciências Biológicas, Universidade Federal do Paraná, Curitiba. 2009.

NIEBISCH, C.H. *et al.* Decolorization and biodegradation of reactive blue 220 textile dye by *Lentinus crinitus* extracellular extract. **Journal of Hazardous Materials**. v. 180, n. 1–3, p. 316–322. 2010

NIEBISCH, C.H. *et al.* Assessment of *Heteroporus biennis* secretion extracts for decolorization of textile dyes. **International Biodeterioration & Biodegradation**, v. 88, p. 20-28. 2014.

NOUREN, S. *et al.* By-product identification and phytotoxicity of biodegraded Direct Yellow 4 dye. **Chemosphere**, v. 169, p. 474-484, 2017.

PATEL, R.; SURESH, S. Kinetic and equilibrium studies on the biosorption of reactive black 5 dye by *Aspergillus foetidus*. **Bioresource Technology**, v. 99, n. 1, p. 51-58, 2008.

PARANÁ. Conselho Estadual do Meio Ambiente. **CEMA 081/2010**. Resolução n. 081 de 16 de outubro de 2010.

PARASZKIEWICZ, K. *et al.* Emulsifier production by steroid transforming filamentous fungus *Curvularia lunata*: growth and product characterization. **Journal of Biotechnology**. v. 92, no. 3, p. 287-294. 2002.

POPLI, S.; PATEL, U.D. Destruction of azo dyes by anaerobic–aerobic sequential biological treatment: a review. **International Journal of Environmental Science and Technology**. v. 2, p. 405–420. 2014.

QURESHI, S. *et al.* *Curvularia* dermatomycosis in a jersey heifer: a case report. **Pakistan Veterinary Journal**, v. 26, n. 3, p. 149-150, 2006.

RAI, H.S. *et al.* Removal of Dyes from the Effluent of Textile and Dyestuff Manufacturing Industry: A Review of Emerging Techniques with Reference to Biological Treatment. **Crit. Rev. Environ. Sci. Technol.**, v. 35, p. 219-238. 2005.

SAAVEDRA, M. *et al.* Enzyme activities and chemical changes in wet olive cake after treatment with *Pleurotus ostreatus* or *Eisenia fetida*. **Biodegradation**, v. 17, p. 93–102. 2006.

SARATALE, R. G. *et al.* Decolorization and biodegradation of reactive dyes and dye wastewater by a developed bacterial consortium. **Biodegradation**, v. 21, n. 6, p. 999-1015, 2010.

SARATALE, R.G. *et al.* Bacterial decolorization and degradation of azo dyes: A review. **Journal of the Taiwan Institute of Chemical Engineers**. v. 42, n. 1, p. 138–157. 2011.

SARATALE, R. G. *et al.* Decolorization and detoxification of sulfonated azo dye CI Remazol Red and textile effluent by isolated *Lysinibacillus* sp. RGS. **Journal of bioscience and bioengineering**, v. 115, n. 6, p. 658-667, 2013.

SARIOGLU, O.F. *et al.* Bacteria encapsulated electrospun nanofibrous webs for remediation of methylene blue dye in water. **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces**, v. 152, p. 245-251. 2017.

SCOTT, E.M.; CARTER, R.T. Canine keratomycosis in 11 dogs: A case series (2000–2011). **Journal of the American Animal Hospital Association** v. 50, n. 2, p. 112–118. 2014

SHARMA, R. *et al.* Diversity and Distribution of Phenol Oxidase Producing Fungi from Soda Lake and Description of *Curvularia lonarensis* sp. nov. **Frontiers in microbiology**, v. 7. 2016.

SHINDE, R.S. *et al.* A rare case of mycetoma due to *Curvularia*. **Journal of laboratory physicians**, v. 7, n. 1, p. 55, 2015.

SHYAMALA, A. *et al.* Bioremediation of Methyl Orange, a synthetic textile azo dye by a halotolerant bacterial strain. **Int. J. Curr. Res. Aca. Rev**, v. 2, n. 8, p. 373-381. 2014.

SOLÍS, M. *et al.* Microbial decolouration of azo dyes: a review. **Process Biochemistry**, v. 47, n. 12, p. 1723-1748, 2012.

SUDHAKAR, R. *et al.* Mitotic abnormalities induced by silk dyeing industry effluents in the cells of *Allium cepa*. **Cytologia**, v. 66, n. 3, p. 235-2

VISWANATH, B. *et al.* Fungal laccases and their applications in bioremediation. **Enzyme research**, v. 2014, 2014.

WANG, X *et al.* Fate and transformation of naphthylamine sulfonic azo dye Reactive Black 5 during wastewater treatment process. **Environmental Science and Pollution Research**, v. 21, n. 8, p. 5713-5723, 2014.

YANTO, D.H.Y.; TACHIBANA, S. Enhanced biodegradation of asphalt in the presence of Tween surfactants, Mn^{2+} and H_2O_2 by *Pestalotiopsis* sp. in liquid medium and soil. **Chemosphere**, v. 103, p. 105–113. 2014.

ZHENG, M. *et al.* Decolorization of Alizarin Red and other synthetic dyes by a recombinant laccase from *Pichia pastoris*. **Biotechnology letters**, v. 36, n. 1, p. 39-45, 2014.

ZUCCONI, F. *et al.* Phytotoxins during the stabilization of organic matter. **Composting of agricultural and other wastes/edited by JKR Gasser**, 1985.

ANEXO 1 - DESINFESTAÇÃO COM HIPOCLORITO DE SÓDIO (PEREIRA *et al.*, 1993; ARAÚJO *et al.*, 2001)

- Lavar as amostras em água corrente para a retirada de resíduos de poeira e solo
- Pesar as amostras
- Colocar imerso em álcool 70% por 1 min
- Colocar imerso em hipoclorito de sódio 2 - 4% Cl - ativo por 3-4 min
- Colocar imerso em álcool 70% por 30 s
- Enxaguar duas vezes em água destilada e esterilizada