

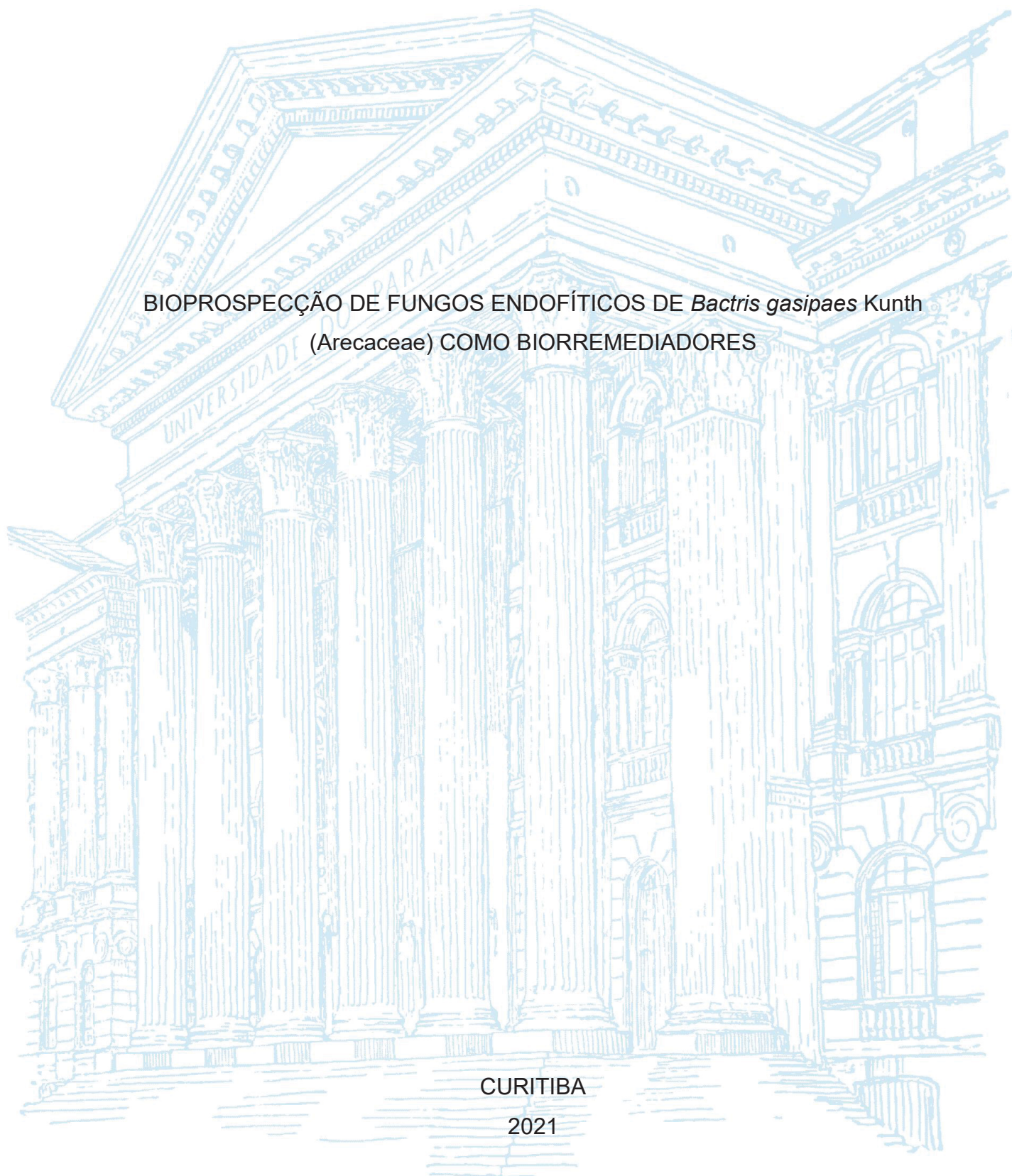
UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ

MARLON ROGER GERALDO

BIOPROSPECÇÃO DE FUNGOS ENDOFÍTICOS DE *Bactris gasipaes* Kunth  
(Arecaceae) COMO BIORREMEDIADORES

CURITIBA

2021



MARLON ROGER GERALDO

BIOPROSPECÇÃO DE FUNGOS ENDOFÍTICOS DE *Bactris gasipaes* Kunth  
(Arecaceae) COMO BIORREMEDIADORES

Dissertação apresentada ao curso de Pós-Graduação em Microbiologia, Parasitologia e Patologia, Setor de Ciências Biológicas, Universidade Federal do Paraná, como requisito parcial à obtenção do título de Mestre em Microbiologia, Parasitologia e Patologia.

Orientador(a): Prof(a). Dr(a). Vânia Aparecida Vicente

Coorientador(a): Prof(a). Dr(a). Renata Rodrigues Gomes

CURITIBA

2021

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

Geraldo, Marlon Roger  
Bioprospecção de fungos endofíticos de *Bactris gasipaes* Kunth  
(Arecaceae) como biorremediadores. / Marlon Roger Geraldo. – Curitiba,  
2021.  
103 p.: il.

Orientadora: Vânia Aparecida Vicente.  
Coorientadora: Renata Rodrigues Gomes.

Dissertação (mestrado) - Universidade Federal do Paraná, Setor de  
Ciências Biológicas. Programa de Pós-Graduação em Microbiologia,  
Parasitologia e Patologia.

1. Arecaceae. 2. Biorremediação. 3. Biodegradação ambiental. 4.  
Fungos. 5. Endófitos. 6. Diesel. I. Título. II. Vicente, Vânia Aparecida. III.  
Gomes, Renata Rodrigues, 1981-. IV. Universidade Federal do Paraná.  
Setor de Ciências Biológicas. Programa de Pós-Graduação em  
Microbiologia, Parasitologia e Patologia.

CDD (22. ed.) 584.5



MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO  
SETOR DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS  
UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ  
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO MICROBIOLOGIA,  
PARASITOLOGIA E PATOLOGIA - 40001016044P0

## TERMO DE APROVAÇÃO

Os membros da Banca Examinadora designada pelo Colegiado do Programa de Pós-Graduação em MICROBIOLOGIA, PARASITOLOGIA E PATOLOGIA da Universidade Federal do Paraná foram convocados para realizar a arguição da Dissertação de Mestrado de **MARLON ROGER GERALDO** intitulada: **Bioprospecção de fungos endofíticos de *Bactris gasipaes* Kunth (Arecaceae) como biorremediadores**, sob orientação da Profa. Dra. VANIA APARECIDA VICENTE, que após terem inquirido o aluno e realizada 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, 11 de Maio de 2021.

Assinatura Eletrônica

21/05/2021 21:34:37.0

VANIA APARECIDA VICENTE

Presidente da Banca Examinadora (UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ)

Assinatura Eletrônica

12/05/2021 14:58:25.0

IDA CHAPAVAL PIMENTEL

Avaliador Interno (UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ)

Assinatura Eletrônica

12/05/2021 13:42:02.0

GERMANA D'AVILA DOS SANTOS

Avaliador Externo (UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ)

Aos meus pais, Geni e Antonio.

À minha irmã, Marlen.

Aos melhores amigos.

## AGRADECIMENTOS

À Deus pela sabedoria, discernimento e providência. Por me iluminar em toda a minha caminhada, permitindo encontrar pessoas maravilhosas.

Aos meus pais, Geni Francisca e Antonio Matias, pelo apoio e por me ajudar em todos os momentos durante minha vida e formação acadêmica.

À minha irmã, Marlen, pelas risadas, incentivo e amizade, sempre acreditando no meu potencial.

Às minhas melhores amigas, Cassiane, Islaine e Emily, por todo carinho, momentos de alegria e de lágrimas, que sempre confiaram em mim em todos estes anos de amizade.

Ao grupo de colegas e parceiros do LabMicro, de modo especial, à Gabriela, Morgana, Guilherme, Bruna, Izadora, Jason, Caroline, pela amizade, por toda a atenção, ajuda com os experimentos e pelos conselhos valiosos durante estes anos de mestrado.

Aos meus professores dos primeiros anos de escola, Margarida Luz e Célia Regina, que me ensinaram sobre as primeiras coisas sobre o mundo e me fizeram ver o meu verdadeiro potencial, beleza e talentos.

Às minhas professoras de Ciências e Biologia, Vera, Malvina, Ana Teresinha, Cíntia Mara e Maria Carolina, que me mostraram sobre a importância e a beleza da vida e da ciência.

Às minhas amigas da biblioteca, Sandra, Maria e Viviane, que me auxiliaram nas minhas pesquisas durante minha formação, além do carinho e apoio.

Aos meus professores da escola CAIC Cândido Portinari e do Colégio Estadual do Paraná, por compartilharem seu conhecimento e vivências.

À minha orientadora da graduação, Leila Teresinha Maranhão, por me auxiliar no início da minha profissão como pesquisador.

Às minhas orientadoras, Vânia Aparecida Vicente e Renata Rodrigues Gomes, por todo o conhecimento, carinho, oportunidades e apoio.

Aos professores da Universidade Federal do Paraná, do programa de Pós-Graduação em Microbiologia, Parasitologia e Patologia, por contribuir com a minha formação.

A CAPES pelo apoio financeiro.

Fico imensamente grato por todo amor, carinho e apoio! Muito obrigado!!!

*“Todo grande sonho começa com um sonhador. Lembre-se sempre, que você tem consigo a força, a paciência e a paixão para alcançar as estrelas e mudar o mundo.”*

*Harriet Tubman*

## RESUMO

A bioprospecção é definida como a localização, avaliação e exploração dos recursos naturais para fins comerciais. Existe grande diversidade de espécies microbianas, com potencial biotecnológico para aplicação na indústria farmacêutica e agrícola, assim como na biorremediação para descontaminação ambiental. No decorrer dos anos, milhões de barris de petroderivados são produzidos todo o ano. Os acidentes recorrentes com esse composto devido às atividades antrópicas, acarretam uma série de impactos ambientais negativos. Por isso, técnicas de tratamento são imprescindíveis para reverter o quadro de contaminação. A biorremediação caracteriza-se pela utilização de organismos vivos, como bactérias, fungos e plantas, que atenuam e reduzem a contaminação ambiental. Estes organismos são capazes de remover, imobilizar e degradar os poluentes em formas geralmente menos tóxicas ao ambiente. As plantas são fontes potenciais para isolamento de novos micro-organismos de interesse biotecnológico, como *Bactris gasipaes* Kunth (Arecaceae), planta nativa da Amazônia e de interesse comercial. O objetivo dessa pesquisa foi avaliar o potencial biorremediador de fungos endofíticos isolados de *B. gasipaes*. Para isso, foi realizado um *screening* dos isolados a partir do perfil enzimático (para as enzimas lacases e fenoloxidasas). Posteriormente, foi realizada a identificação molecular dos micro-organismos duplo-positivos. Também foram realizados testes de biodegradação, por meio do preparo de frascos de Erlenmeyer, contendo 50 mL de meio mineral e 2% de óleo diesel (v/v) como única fonte de carbono. Os resultados demonstraram que 4 linhagens fúngicas (CMRP 3596, 3920, 3923 e 3925) identificadas como *Hypoxyton investiens*, *Fusarium* sp. e *Trichoderma* sp. apresentaram potencial biorremediador, no qual foi observado a produção de biomassa e redução do pH. As espécies *Hypoxyton investiens* (CMRP 3596), *Trichoderma* sp. (CMRP 3925) e *Fusarium* sp. (CMRP 3920) apresentaram, respectivamente, maior produção de biomassa (6,382 g), eficiência para degradação (67,19%) e valor de pH (4,08) no intervalo de 14 dias em comparação às outras linhagens. Estes parâmetros estão relacionados ao processo de degradação de poluentes. Portanto, estes fungos endofíticos podem ser aplicados em técnicas biorremediadoras, promovendo a descontaminação ambiental.

**Palavras-chave:** Biorremediação. Fungos endofíticos. Óleo diesel. Pupunha. Contaminação ambiental.



## ABSTRACT

Bioprospecting is defined as the location, assessment and exploitation of natural resources for commercial purposes. There is a great diversity of microbial species, with biotechnological potential for application in the pharmaceutical and agricultural industry, as well as in bioremediation for environmental decontamination. Over the years, millions of barrels of oil products have been produced all year. Recurring accidents with this compound due to anthropic activities, cause a series of negative environmental impacts. Therefore, treatment techniques are essential to reverse the contamination. Bioremediation is characterized by the use of living organisms, such as bacteria, fungi and plants, which attenuate and reduce environmental contamination. These organisms are able to remove, immobilizing and degrading pollutants in compounds that are generally less toxic to the environment. Plants are potential sources for isolating new microorganisms of biotechnological interest, such as *Bactris gasipaes* Kunth (Arecaceae), plant native of the Amazon and of commercial interest. The objective of this research was to evaluate the bioremediation potential of endophytic fungi isolated from *B. gasipaes*. For that, a screening of the isolates was carried out from the enzymatic profile (for the enzymes laccases and phenoloxidases). Subsequently, the molecular identification of the double-positive microorganisms realized. Biodegradation tests were also carried out by preparing Erlenmeyer flasks, containing 50 mL of mineral medium and 2% diesel oil (v/v) as the sole carbon source. The results showed that 4 fungal strains (CMRP 3596, 3920, 3923 and 3925) identified as *Hypoxyton investiens*, *Fusarium* sp. and *Trichoderma* sp. have bioremediation potential, in which biomass production and pH reduction were observed. The *Hypoxyton investiens* (CMRP 3596), *Trichoderma* sp. (CMRP 3925) and *Fusarium* sp. (CMRP 3920) showed, respectively, higher biomass (6,382 g), degradation efficiency (67,19%) and pH value (4,08) within 14 days compared to other strains. These parameters are related to the pollutant degradation process. Thus, these endophytic fungi can be applied in bioremediation techniques, promoting environmental decontamination.

**Keywords:** Bioremediation. Endophytic fungi. Diesel oil. Pupunha. Environmental contamination.

## LISTA DE FIGURAS

### CAPÍTULO I

FIGURA 1 – TÉCNICA DE EXTRAÇÃO DE VAPORES DO SOLO (SVE).....	23
FIGURA 2 – TÉCNICA DE AERAÇÃO ( <i>AIR SPARGING</i> ) .....	24
FIGURA 3 – TÉCNICA DE OXIDAÇÃO QUÍMICA .....	25
FIGURA 4 – TÉCNICA DE BIOVENTILAÇÃO ( <i>BIOVENTING</i> ).....	26
FIGURA 5 – TÉCNICA DE BIOESPARGIMENTO ( <i>BIOSPARGING</i> ).....	27
FIGURA 6 – TÉCNICA DE BIOPILHAS .....	29
FIGURA 7 – TÉCNICA DE TRATAMENTO DE TERRA ( <i>LANDFARMING</i> ).....	30
FIGURA 8 – TÉCNICA DE FITORREMEDIAÇÃO .....	32
FIGURA 9 – VIA DE BIODEGRADAÇÃO AERÓBICA DE HIDROCARBONETOS DE PETRÓLEO.....	38

### CAPÍTULO II

FIGURA 1 – ÁRVORE FILOGENÉTICA DO GÊNERO <i>Hypoxylon</i> spp. ....	65
FIGURA 2 – ÁRVORE FILOGENÉTICA DO GÊNERO <i>Fusarium</i> spp. ....	66
FIGURA 3 – ÁRVORE FILOGENÉTICA DO GÊNERO <i>Trichoderma</i> spp.....	67
FIGURA 4 – PRODUÇÃO DE BIOMASSA ÚMIDA (EM GRAMAS) DAS LINHAGENS FÚNGICAS SELECIONADAS NO PROCESSO DE BIORREMEDIAÇÃO DE ÓLEO DIESEL .....	69
FIGURA 5 – VALORES DE pH DO MEIO DURANTE O PROCESSO DE BIORREMEDIAÇÃO PELAS LINHAGENS FÚNGICAS SELECIONADAS .....	70
FIGURA 6 – CONCENTRAÇÃO DO INDICADOR 2,6-DICLOROFENOL INDOFENOL (DCPIP) DURANTE O PROCESSO DE BIORREMEDIAÇÃO DO ÓLEO DIESEL PELAS LINHAGENS FÚNGICAS SELECIONADAS .....	71

## LISTA DE TABELAS

### CAPÍTULO II

TABELA 1 – VALORES DE MÉDIA E DESVIO PADRÃO COM RELAÇÃO À PRODUÇÃO DE BIOMASSA PELOS FUNGOS ENDOFÍTICOS ISOLADOS DE <i>Bactris gasipaes</i> (ARECACEAE) O PROCESSO DE BIORREMDIAÇÃO DO ÓLEO DIESEL. ....	68
TABELA 2 – VALORES DE MÉDIA E DESVIO PADRÃO COM RELAÇÃO AO pH DO MEIO DURANTE O PROCESSO DE BIORREMDIAÇÃO DO ÓLEO DIESEL. ...	70

## LISTA DE ABREVIATURAS OU SIGLAS

- AS - *Air Sparging*
- ANP - Agência Nacional de Petróleo e Gás
- BDA - Batata Dextrose Ágar
- CIA - Clorofórmio álcool isoamílico
- CBS - Centraalbureau voor Schimmelcultures (Westerdijk Institute)
- CMRP - Coleções Microbiológicas da Rede Paranaense
- CTAB - Brometo de cetil-trimetilamônio
- DNA - Ácido Desoxirribonucleico
- DNTPs - Desóxirribonucleotídeos fosfatados
- DPE - Extração de Fase Dupla
- EF - Fator de alongação
- EPA - Environmental Protection Agency
- EPE - Empresa de Pesquisa Energética
- ex situ* - Fora do local
- et al. - Colaboradores
- GC - Cromatografia a gás
- HAPs - Hidrocarbonetos Aromáticos Policíclicos
- HTP - Hidrocarbonetos Totais de Petróleo
- In situ* - No local
- In vitro* - Fora do organismo vivo
- In vivo* - Testado no organismo vivo
- ITS - Internal transcribed spacer
- CMRP - Coleções Microbiológicas da Rede Paranaense
- L - Linnaeus
- LTTD - Dessorção Térmica de Baixa Temperatura
- Mn - Manganês
- OD - Óleo diesel
- ppm - partes por milhão
- PCP - Pentaclorofenol
- rpm - Rotações por minuto
- SVE - Extração de Vapores do Solo
- UFPR - Universidade Federal do Paraná

## LISTA DE SÍMBOLOS

%	- Porcentagem
mL	- Mililitros
mm	- Milímetros
min	- Minutos
g	- Gramas
pH	- Potencial hidrogeniônico
(v/v)	- Volume por volume
$10^3$	- Dez elevado ao cubo
°C	- Graus Celsius
sp	- Espécie não identificada daquele gênero
spp	- Mais de uma espécie do mesmo gênero
g/L	- Gramas por litro (concentração)
$K_2HPO_4$	- Fosfato de hidrogênio dipotássio
$KH_2PO_4$	- Fosfato de dihidrogênio de potássio
$NH_4Cl$	- Cloreto de amônio
$CH_2Cl_2$	- Diclorometano
$Na_2SO_4$	- Sulfato de sódio
$MgSO_4$	- Sulfato de magnésio
$MgCl_2$	- Cloreto de magnésio
$CaCl_2$	- Cloreto de cálcio
$FeCl_3$	- Cloreto de férrico
$NH_4NO_3$	- Nitrato de amônio
$H_2O$	- Água
$cm^2$	- Centímetros quadrados
$\mu L$	- Microlitros
ng/ $\mu L$	- Nanogramas por microlitros (concentração)
nm	- Nanômetros (comprimento de onda)

## SUMÁRIO

<b>CAPÍTULO I: PANORAMA DA DISSERTAÇÃO.....</b>	<b>15</b>
<b>1 INTRODUÇÃO GERAL.....</b>	<b>16</b>
1.1 OBJETIVOS .....	18
1.1.1 Objetivo geral .....	18
1.1.2 Objetivos específicos.....	18
<b>2 REVISÃO DE LITERATURA.....</b>	<b>18</b>
2.1 O PETRÓLEO .....	18
2.1.1 Importância econômica.....	18
2.1.2 Impactos ambientais negativos da contaminação por petroderivados .....	19
2.2 PRINCIPAIS TÉCNICAS REMEDIADORAS PARA DESCONTAMINAÇÃO AMBIENTAL.....	22
2.2.1 Extração de Vapores no Solo (SVE).....	22
2.2.2 Técnica de aeração ( <i>Air Sparging</i> - AS) .....	23
2.2.3 Oxidação Química .....	24
2.2.4 Bioventilação ( <i>Bioventing</i> ) .....	26
2.2.5 Técnica de bioespargimento ( <i>Biosparging</i> ) .....	27
2.2.6 Biopilhas .....	28
2.2.7 Técnica de tratamento de terra ( <i>Landfarming</i> ) .....	29
2.2.8 Bioestimulação .....	30
2.2.9 Fitorremediação.....	31
2.2.10 Atenuação Natural (Monitorada).....	32
2.3 BIORREMEDIAÇÃO MICROBIANA .....	33
2.3.1 Fungos endofíticos: <i>Bactris gasipaes</i> (Arecaceae) como fonte para isolamento de fungos biorremediadores .....	40
<b>3 REFERÊNCIAS.....</b>	<b>42</b>
<b>CAPÍTULO II: POTENCIAL DE FUNGOS ENDOFÍTICOS PARA BIORREMEDIAÇÃO DE ÓLEO DIESEL.....</b>	<b>57</b>
<b>1 RESUMO .....</b>	<b>58</b>
<b>2 ABSTRACT .....</b>	<b>58</b>
<b>3 INTRODUÇÃO .....</b>	<b>59</b>
<b>4 MATERIAL E MÉTODOS.....</b>	<b>60</b>
4.1 ISOLADOS FÚNGICOS .....	60

4.2	<i>SCREENING</i> DOS ISOLADOS FÚNGICOS .....	61
4.2.1	Atividade de lacases.....	61
4.2.2	Atividade de fenoxidases .....	61
4.3	IDENTIFICAÇÃO MOLECULAR.....	61
4.3.1	Extração de DNA.....	61
4.3.2	Sequenciamento e análise filogenética .....	62
4.4	TESTES DE BIODEGRADAÇÃO DAS LINHAGENS FÚNGICAS <i>IN VITRO</i> .....	63
4.5	ANÁLISES ESTATÍSTICAS.....	63
<b>5</b>	<b>RESULTADOS</b> .....	<b>64</b>
<b>6</b>	<b>DISCUSSÃO</b> .....	<b>72</b>
<b>7</b>	<b>CONCLUSÃO</b> .....	<b>75</b>
	<b>REFERÊNCIAS</b> .....	<b>75</b>
	<b>CAPÍTULO III: CONSIDERAÇÕES FINAIS</b> .....	<b>81</b>
	<b>CONCLUSÕES FINAIS E PERSPECTIVAS</b> .....	<b>82</b>
	<b>REFERÊNCIAS GERAIS</b> .....	<b>84</b>
	<b>ANEXOS</b> .....	<b>103</b>

## **CAPÍTULO I: PANORAMA DA DISSERTAÇÃO**



## 1 INTRODUÇÃO GERAL

A bioprospecção se define como a localização, avaliação e exploração dos recursos naturais de maneira legal, para fins comerciais, por exemplo, micro-organismos com potencial biotecnológico (na indústria agrícola e farmacêutica) ou para remoção de diferentes poluentes no ambiente (biorremediação). Os fungos endofíticos, que residem no interior de plantas sem causar danos ao tecido vegetal, mostram a capacidade de produzir vários metabólitos secundários bioativos. Considerando a diversidade de plantas, é possível o isolamento de um ou mais espécies de endófitos. Dessa forma, novos micro-organismos de interesse biotecnológico são descobertos, assim como novos compostos (STROBEL; DAISY, 2003; SURYANARAYANAN et al., 2009).

Os fungos compõem um grupo diverso e bem adaptado, no qual se evidencia alto potencial biotecnológico. Com relação à questão ambiental, os fungos são capazes de produzir enzimas para a degradação de hidrocarbonetos aromáticos policíclicos (HAPs) e diversos estudos demonstram sua aplicação na biorremediação. Estes organismos também estão relacionados com a biodiversidade, sobrevivência, propagação e produtividade de plantas, bem como contribuem para disponibilidade de nutrientes no solo. A biorremediação, à vista disso, é uma solução sustentável e de baixo custo. Existem vários estudos que apresentam a capacidade de fungos para biorremediação. As espécies do gênero *Exophiala* são descritas como potenciais biodegradadoras de hidrocarbonetos, assim como *Cladophialophora immunda*, no qual utiliza o tolueno como fonte de carbono e energia (BLASI et al., 2017; CECI et al., 2018; DELLARETTI, 2014; ISOLA et al., 2013; SEYEDMOUSAVI et al., 2011; YAKOP; TAHA; SHIVANAND, 2019; ZHANG et al., 2018).

Os fungos do gênero *Aspergillus*, *Trichoderma*, *Fusarium*, *Rhizopus*, *Penicillium*, *Cladosporium*, *Pleurotus*, entre outros, também tem demonstrado potencial para degradação de diferentes poluentes, como pesticidas e petróleo (ISLAM, 2017; KUNWAR; RAJITHASRI, 2014; ROMERO-SILVA et al., 2019). A interação entre micro-organismos do solo e plantas, para funcionamento dos ecossistemas, dinâmica e produtividade, tem despertado o interesse científico, considerando a grande diversidade de micro-organismos (MELO; AZEVEDO, 2008).

Neste contexto, as espécies microbianas têm uma extensa aplicação: na área agrícola, da saúde e da biorremediação.

De acordo com a Agência Nacional do Petróleo (ANP, 2019) foram produzidos 655.370.476 barris de derivados de petróleo em 2018, sendo que 66.188.961 barris de petroderivados foram produzidos no estado do Paraná. Apesar disso, podem ocorrer acidentes devido às atividades antrópicas relacionadas com a extração, refinamento, transporte e armazenamento do petróleo. Conseqüentemente, se evidencia diversos impactos ambientais, resultado da contaminação hídrica e do solo, esses efeitos tóxicos podem ser observados nos organismos, devido à interação de diferentes contaminantes com os componentes celulares (ANAND; KUMARI; SINHA, 2019; CECI et al., 2018; MOHAMMADI-SICHANI et al., 2017).

Existem diferentes técnicas de tratamento, como as físicas e químicas. Porém, se tem dificuldades para eliminação de hidrocarbonetos em virtude da baixa solubilidade e características hidrofóbicas. A biorremediação, uma técnica biológica de tratamento, baseada na utilização de plantas e micro-organismos para reduzir a contaminação ambiental vem recebendo destaque. Muitos estudos estão sendo realizados na área de biodegradação de hidrocarbonetos de petróleo, os micro-organismos mostram-se eficazes e detêm potencial biorremediador. A capacidade de degradação pelos micro-organismos está associada com a produção de enzimas, resultando do processo de degradação compostos geralmente menos tóxicos ao ambiente (dióxido de carbono e água). Além disso, neste processo devem ser considerados fatores bióticos e abióticos, como: nutrientes, diversidade de micro-organismos, disponibilidade dos contaminantes e condições físicas do ambiente (pH, temperatura e umidade) (AL-HAWASH et al., 2018; HUJSLOVÁ et al., 2019; KARIGAR; RAO, 2011; MOHAMMADI-SICHANI et al., 2017).

O descobrimento de novas espécies microbianas para aplicação nas técnicas biorremediadores é fundamental. As plantas mostram-se potenciais fontes para isolamento de novos micro-organismos, como *Bactris gasipaes* (pupunheira), planta nativa da Amazônia e de interesse comercial (frutos, caule e folhas) (CHISTÉ et al., 2021; MESQUITA et al., 2019). Portanto, a aplicação destes micro-organismos biorremediadores, permite a descontaminação ambiental, redução dos vários impactos negativos, assim como, melhora a qualidade e saúde dos ecossistemas.

A hipótese desta pesquisa afirma que espécies de fungos endofíticos isolados de *B. gasipaes*, apresentam potencial biorremediador para descontaminação ambiental. A presente pesquisa visa contribuir com novas informações sobre o potencial de fungos endofíticos para a biorremediação, possibilitando sua aplicação para a descontaminação ambiental, tratamento de efluentes industriais e de outras substâncias tóxicas.

## 1.1 OBJETIVOS

### 1.1.1 Objetivo geral

Avaliar o potencial biorremediador de fungos endofíticos isolados de *Bactris gasipaes*, Arecaceae, para degradação do óleo diesel.

### 1.1.2 Objetivos específicos

- Selecionar as linhagens fúngicas com base no perfil enzimático;
- Avaliar a degradação de óleo diesel pelas linhagens fúngicas de *B. gasipaes* selecionadas;
- Analisar e identificar molecularmente os isolados mais promissores para degradação;

## 2 REVISÃO DE LITERATURA

### 2.1 O PETRÓLEO

#### 2.1.1 Importância econômica

De acordo com dados da Empresa de Pesquisa Energética (EPE) (2020) a matriz energética brasileira é composta por 53,9% de fontes não renováveis e 46,1% de fontes renováveis. O petróleo e seus derivados apresentam maior utilização e representam 34,4% da matriz energética nacional com relação ao ano de 2019, e cerca de 144.303. 10<sup>3</sup> toneladas foram produzidas. O petróleo é constituído principalmente por hidrocarbonetos e poucas quantidades de outros compostos

orgânicos, que contém enxofre, oxigênio, nitrogênio e alguns metais. É um composto de baixa densidade, viscoso e suas características variam de acordo com o local de onde é extraído (GLUYAS; SWARBRICK, 2004).

Os produtos derivados do petróleo são exemplificados pelos combustíveis, como a gasolina e o óleo diesel; lubrificantes; plásticos; gás liquefeito de petróleo; tecidos; cosméticos; entre outros (GERALDO; MARANHO, 2020). As maiores porcentagens do consumo de energia foram de 32,7% e 30,4%, respectivamente, referente aos setores de transportes e industrial. No setor de transportes a utilização de petroderivados foi mais representativa, principalmente do óleo diesel (41,9%) e da gasolina (25,3%). Além disso, foi observado o aumento da produção do petróleo no Brasil, de 2018 para 2019, equivalente a  $198. 10^3$  bbl/dia (7,6%) (EPE, 2020).

Além disso, verifica-se que o crescimento demográfico, urbanização e industrialização no decorrer dos anos, está diretamente associado ao aumento do consumo de energia e da produção de petróleo (TOLMASQUIM; GUERREIRO; GORINI, 2007). À vista disso, a importância do petróleo e seus derivados é notável, nos diferentes setores (transporte, industrial, residencial, agropecuária, entre outros), com relação aos aspectos econômicos e sociais.

### 2.1.2 Impactos ambientais negativos da contaminação por petroderivados

O petróleo e seus derivados, entretanto, apresentam em sua constituição substâncias nocivas ao ambiente. Em consequência disso se observa a contaminação hídrica e do solo, associada a uma série de impactos ambientais negativos (GERALDO; MARANHO, 2020). Existem vários estudos que demonstram o desequilíbrio ecológico ocasionado pela poluição, como a morte de diversos organismos, alterações no seu ciclo de vida, toxicidade, entre outros. Segundo Xianagang et al. (2020), compostos hidrocarbonados são classificados como substâncias neuro tóxicas e cancerígenas. A perfuração, transporte e uso inadequados destes compostos ocasionam a contaminação do solo. Dessa forma, a microbiota e o funcionamento do solo são afetados. Turner e Renegar (2017) verificaram a toxicidade de hidrocarbonetos para os recifes de corais, nos quais se observa efeitos variados que podem ou não resultar na morte dos organismos. Devido a contaminação por petróleo de diferentes fontes, como regiões urbanas costeiras e rotas marítimas.

O estudo de Sun et al. (2020) demonstrou os efeitos de hidrocarbonetos de petróleo e de micro plásticos, separadamente e de forma combinada, para *Tegillarca granosa* (molusco de sangue). Os autores verificaram alterações moleculares e fisiológicas neste molusco, que resultam na imunotoxicidade causada por estes poluentes. Exemplificado pela redução da atividade fagocítica e da viabilidade celular de hemócitos (células do sistema circulatório de invertebrados), além das variações na expressão de genes do sistema imunológico. Errington et al. (2018) afirmam que as atividades antrópicas são resultado da contaminação do solo por petróleo nas regiões polares. Nos quais estudos em ilhas subantárticas demonstraram maior sensibilidade e toxicidade pelos organismos, como minhocas e gramíneas, devido a contaminação de óleo diesel no solo. Izdebska-Mucha e Trzcinski (2008) verificaram alterações físicas em solos argilosos coletados no nordeste da Polônia contaminados por óleo diesel. Nos quais foram observadas alterações no empacotamento das partículas de argila, assim como na redução de microagregados argilosos e da porosidade do solo.

O estudo de D'Costa et al. (2017) comprovou os efeitos genotóxicos e a presença de hidrocarbonetos de petróleo totais e metais traço nas populações de peixe-gato do mar (*Arius arius*). A poluição ambiental e a genotoxicidade foram positivamente associadas, no qual foi observado maiores concentrações de poluentes nos tecidos dos peixes coletados no local poluído. Oyibo et al. (2018) também analisaram os hidrocarbonetos de petróleo totais, hidrocarbonetos aromáticos policíclicos e metais pesados em peixes. Os autores verificaram altas concentrações de poluentes como hexadecano, tetradecano, tetracosano, acenafteno, naftaleno, metilnaftaleno e metais pesados como ferro, zinco e cobre, nos organismos aquáticos. Evidencia-se, portanto, a bioacumulação destes poluentes, que são potencialmente prejudiciais à saúde humana em virtude do consumo dos mesmos. Gospodarek et al. (2018) averiguaram o bioacúmulo de fenantreno e antraceno na biomassa úmida de *Porcellio scaber* (piolho áspero comum) em solo poluído com óleo diesel.

Cherr et al. (2017) relataram os efeitos de hidrocarbonetos aromáticos policíclicos (HAPs) derivados de petróleo sobre o desenvolvimento embrionário de peixes teleósteos. Os autores observaram que os HAPs alteram a sinalização nos estágios iniciais de clivagem relacionada com a formação do eixo dorsal-ventral. Também evidenciaram o efeito cardiotoxico dos HAPs, no qual foi observado

desenvolvimento anormal do coração, edema cardíaco e arritmia nos embriões de peixes.

O estudo de Koleva-Valkova et al. (2020) apresentou o efeito de petroderivados em *Hordeum vulgare* L. (cevada), no qual os autores observaram redução em todos os parâmetros de crescimento, como área foliar, comprimento, peso fresco e seco das folhas e raízes, em comparação ao controle (sem a contaminação do solo por petroderivados). Silva et al. (1997) verificaram a contaminação por petróleo nos ecossistemas aquáticos da costa brasileira, foi observado modificações na comunidade de plantas no manguezal, como malformação de folhas e frutos, redução da serrapilheira e aumento do número de raízes aéreas. Também foi percebido o acúmulo de hidrocarbonetos aromáticos policíclicos em bivalves, indicando contaminação recente neste ecossistema. Os estudos conduzidos por Borowik et al. (2019) mostraram os efeitos tóxicos do óleo diesel (OD) e petróleo em *Elymus elongatus* (grama de trigo alta), no qual o OD foi consideravelmente mais tóxico. Foi observada a redução dos taxa bacterianos e a estimulação da atividade enzimática do solo ocasionado pela contaminação de óleo diesel. Em contrapartida, a presença do petróleo no solo limitou a atividade enzimática e reduziu a diversidade em apenas alguns táxons bacterianos.

Os aspectos ecológicos, físicos e químicos do local, assim como o desenvolvimento dos organismos (plantas e animais), são influenciados negativamente devido à contaminação ambiental. Segundo Arellano et al. (2017), a poluição por petróleo reduz a diversidade e riqueza das espécies de plantas da floresta tropical amazônica, com relação às áreas não contaminadas. Os autores também relataram a diminuição do teor da clorofila das folhas em consequência da contaminação. De acordo com Wei et al. (2020) a poluição por óleo interfere nas propriedades físicas (como a condutividade hidráulica), na disponibilidade e infiltração de água. Consequentemente, a redução da liberação de água no solo interfere diretamente no crescimento de plantas. Nos estudos realizados por Wyszowski et al. (2020) também foi verificado os efeitos da poluição por óleo diesel no solo, no qual ocorreu a redução do teor de macronutrientes nas partes aéreas em *Avena sativa* L. (aveia-comum).

A contaminação hídrica e do solo por hidrocarbonetos de petróleo relaciona-se com sua ampla utilização nos diversos setores, como industrial e agrícola. Consequentemente, se observam alterações na bioquímica e das propriedades

físico-químicas do solo. O petróleo, além disso, reduz o crescimento e desenvolvimento de plantas; impossibilita a entrada de oxigênio nos ambientes marinhos e; é responsável por danos à saúde humana por causa da inalação, ingestão ou contato com a pele, como nefrotoxicidade e neurotoxicidade (AHMED; FAKHURUDDIN, 2018). Os estudos de David et al. (2019) evidenciaram a relação da poluição ambiental por petróleo e da redução da plasticidade cerebral de crianças que vivem em áreas poluídas no estado de Rivers, Nigéria. Foi observado diversos transtornos, como ansiedade, déficit de atenção, humor, espectro de autismo, entre outros, refletindo diretamente na sociabilidade e desempenho acadêmico. Sintomas como dores de cabeça, náuseas, doenças respiratórias, tonturas, erupções cutâneas e irritações, foram observadas nas crianças expostas à poluição por petróleo.

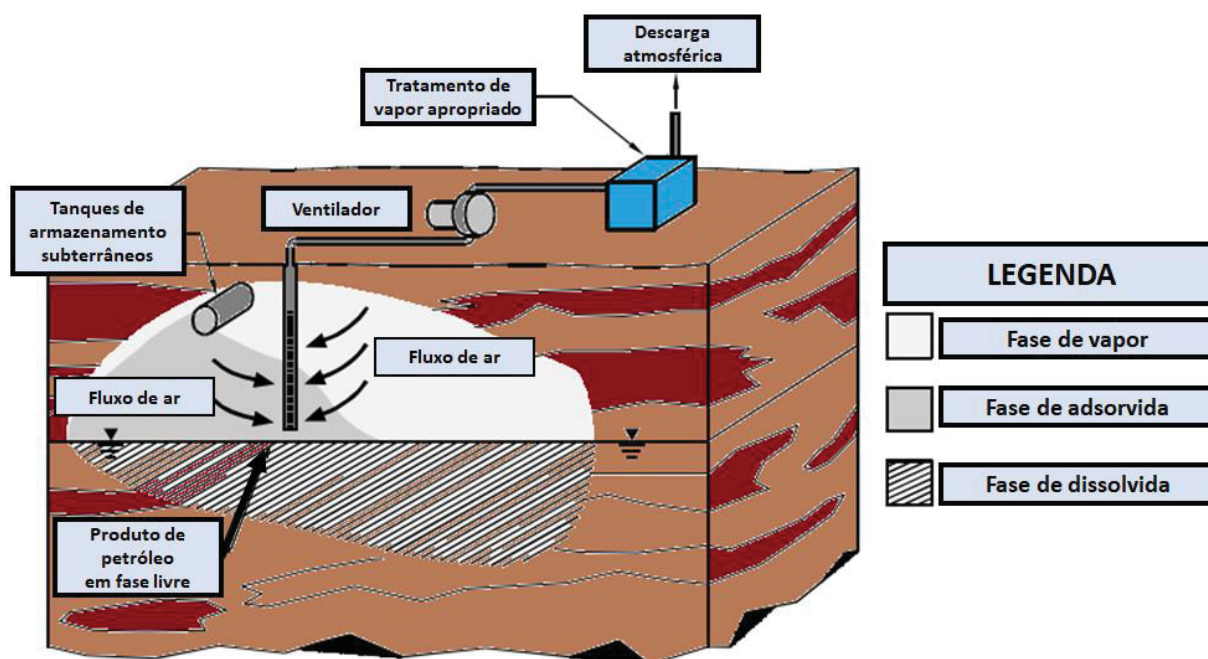
## 2.2 PRINCIPAIS TÉCNICAS REMEDIADORAS PARA DESCONTAMINAÇÃO AMBIENTAL

Para atenuar e reduzir os impactos negativos resultantes da contaminação ambiental, técnicas remediadoras mostram-se fundamentais e devem ser utilizadas de acordo com o quadro de contaminação, tipo do contaminante e das condições ambientais. Estas técnicas podem ser aplicadas no próprio local de contaminação (*in situ*) ou o tratamento de contaminantes é realizado em outro local (*ex situ*), no qual a remoção dos contaminantes se faz necessária (CARNEIRO; GARIGLIO, 2010).

### 2.2.1 Extração de Vapores no Solo (SVE)

A extração de vapores no solo (Figura 1) também denominada de ventilação do solo ou extração a vácuo, é uma técnica de remediação *in situ*. A sua utilização permite a redução de compostos voláteis que compõem o petróleo, que ficam adsorvidos no solo na zona não saturada (região do solo com a presença de ar atmosférico, água, vapor de água, no espaço entre as partículas). O princípio da técnica baseia-se na aplicação de vácuo no solo, causando um gradiente de pressão negativa, conseqüentemente ocorre a movimentação dos vapores até o local de extração. Esta técnica é mais eficaz para tratamento de solos contaminados com compostos voláteis e semivoláteis (ANDRADE; AUGUSTO; JARDIM, 2010; EPA, 1994).

FIGURA 1 - TÉCNICA DE EXTRAÇÃO DE VAPORES DO SOLO (SVE).



FONTE: adaptado de EPA, 1994.

O estudo de Labianca et al. (2020) demonstrou que a aplicação da técnica de extração de vapores do solo (SVE) reduz compostos orgânicos voláteis de petróleo, com eficácia de 73% após 4 anos de tratamento. Al-Maamari et al. (2009) verificaram que a aplicação da SVE em conjunto com outras técnicas, permite a remediação de hidrocarbonetos totais de petróleo (HTP) de óleo diesel. Os autores evidenciaram a redução de 25-50 ppm para 0,5 ppm de HTP no lençol freático. Park et al. (2005) observaram que a utilização da SVE com aplicação de ar quente, promove a redução de 95% de HTP de solo contaminado por óleo diesel. Yang et al. (2017) evidenciaram taxas de remoção de 89,8%, 71,3% e 29,7% para, respectivamente, benzeno, tolueno e etilbenzeno, com a aplicação da SVE. Yu et al. (2019) também verificaram a remoção de 93,4% de poluentes (n-alcanos) com o emprego desta técnica.

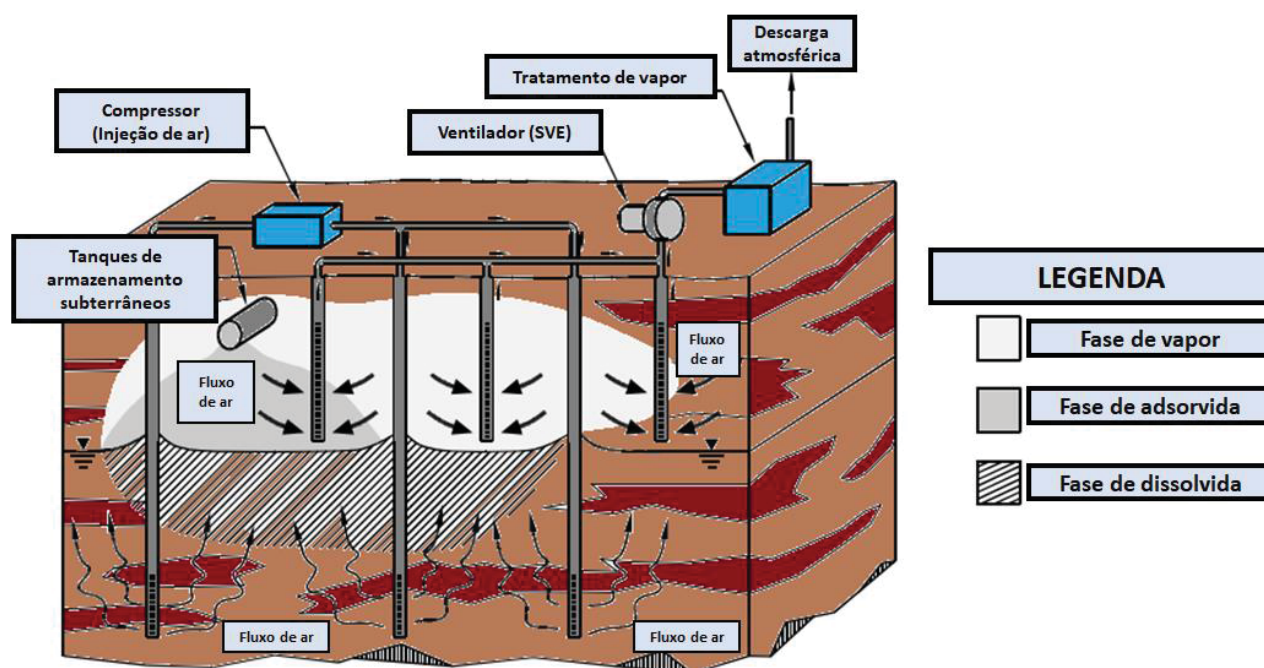
### 2.2.2 Técnica de aeração (*Air Sparging* - AS)

A técnica de aeração (Figura 2), também chamada de decapagem de ar *in situ* ou volatilização *in situ*, é utilizada para o tratamento do lençol freático



contaminado com compostos voláteis presentes na constituição do petróleo. Nesta técnica é realizada a aplicação de ar sem contaminantes na subsuperfície da zona saturada do solo. Dessa forma, é possível a mudança de fase dos hidrocarbonetos do estado dissolvido para a fase de vapor. Além disso, esta técnica pode ser utilizada juntamente com a SVE. A técnica de aeração é recomendada para tratamento de compostos leves da gasolina, como benzeno, etilbenzeno, tolueno e xileno (EPA, 1994).

FIGURA 2 – TÉCNICA DE AERAÇÃO (AIR SPARGING).



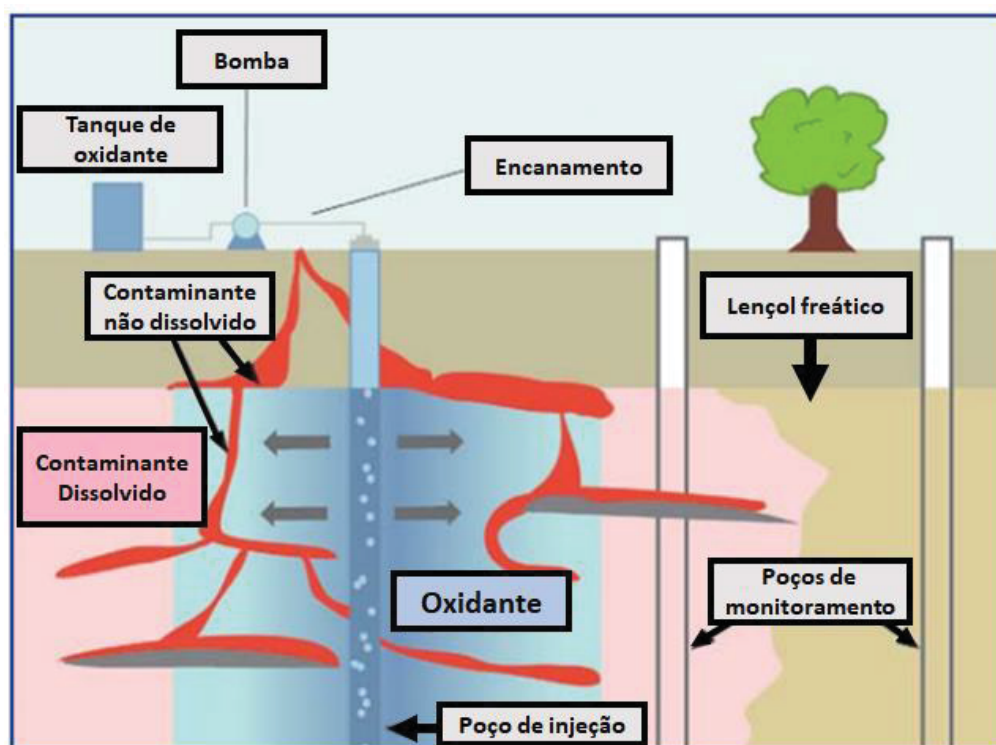
FONTE: adaptado de EPA, 1994.

O estudo de Yao et al. (2020) mostrou a remoção de benzeno com a aplicação da técnica de aeração (*air sparging*), controlado pela distribuição do fluxo de ar em aquíferos. Neriah e Paster (2019) evidenciaram que com a aplicação de ar pulsado ocorre a remediação mais eficaz do tolueno presente na água, com duração de 5 minutos da pulsação do ar. Abdellah et al. (2018) aplicaram a técnica de  $\text{TiO}_2/\text{UV}$  aprimorado por aplicação de ar (*air sparging*), no qual os autores relataram a descoloração completa de azul de metileno a uma concentração de 10 ppm. O estudo de Al-Maamari et al. (2009) também averiguou a remoção de poluentes (benzeno e HTP) com a aplicação da técnica de aeração e SVE.

### 2.2.3 Oxidação Química

A técnica de oxidação química (Figura 3) é utilizada para decomposição de contaminantes do petróleo *in situ*, no qual a redução destes é evidenciada em um curto intervalo de tempo. Nesta técnica realiza-se a aplicação de oxidantes que interagem com os contaminantes da subsuperfície. Em consequência disso, estes oxidantes químicos convertem compostos orgânicos em dióxido de carbono e água, geralmente com redução irreversível destes contaminantes presentes no solo e no lençol freático (EPA, 2004; EPA, 2012).

FIGURA 3 – TÉCNICA DE OXIDAÇÃO QUÍMICA.



FONTE: adaptado de EPA, 2012.

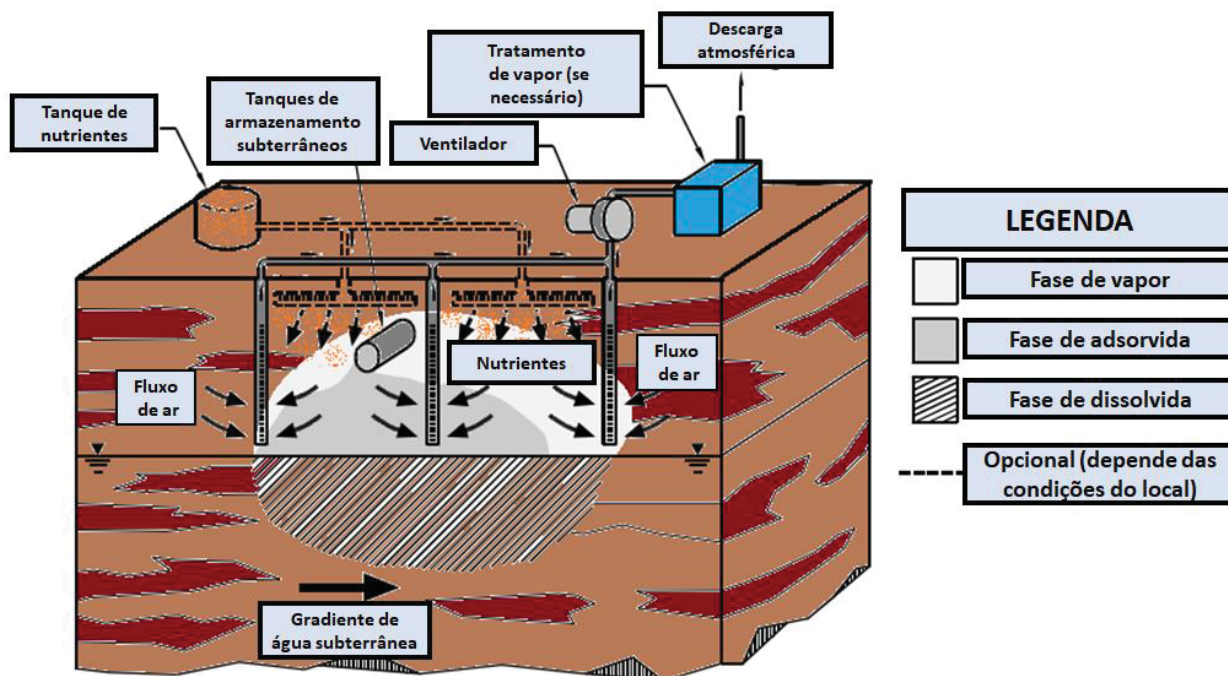
A técnica é aconselhada para o tratamento de pequenas áreas, devido à concentração da massa de petróleo. O estudo de Zhang et al. (2020a) demonstrou a degradação de hidrocarbonetos totais de petróleo com a aplicação da técnica de oxidação química, com a utilização de ativadores BC-nVZI e nZVI. Xu et al. (2011) observaram a remoção de 29% de óleo isolante de cabo no solo contaminado com a aplicação de permanganato. Usman et al. (2012) observaram a degradação de hidrocarbonetos no solo de 80% e 90%, respectivamente, com a aplicação de magnetita catalisada como Fenton e persulfato ativado. Apul et al. (2016) relataram

redução de 20 a 90% de HTP no solo com a utilização da técnica de oxidação química, utilizando percarbonato de sódio, peróxido de hidrogênio, persulfato de sódio, dióxido de cloro, permanganato de sódio e ozônio. Chen et al. (2015) também evidenciaram a remoção de 48% a 93% de óleo diesel no solo com aplicação de persulfato, permanganato e peróxido de hidrogênio, após 120 dias.

#### 2.2.4 Bioventilação (*Bioventing*)

A técnica de bioventilação (Figura 4) é aplicada *in situ*, no qual ocorre a aplicação de ar ou oxigênio na zona não saturada do solo. Dessa forma, microorganismos autóctones são estimulados e realizam a biodegradação de compostos orgânicos adsorvidos no solo. É possível a adição de nutrientes para estimular a atividade microbiana. Esta técnica mostra-se eficaz para o tratamento de áreas contaminadas por petroderivados, como gasolina, querosene e óleo diesel (EPA, 1994).

FIGURA 4 – TÉCNICA DE BIOVENTILAÇÃO (*BIOVENTING*).



FONTE: adaptado de EPA, 1994.

O estudo de Frutos et al. (2010) mostrou a redução de 93% de fenantreno no solo com a aplicação da técnica de bioventilação, após 7 meses de tratamento.

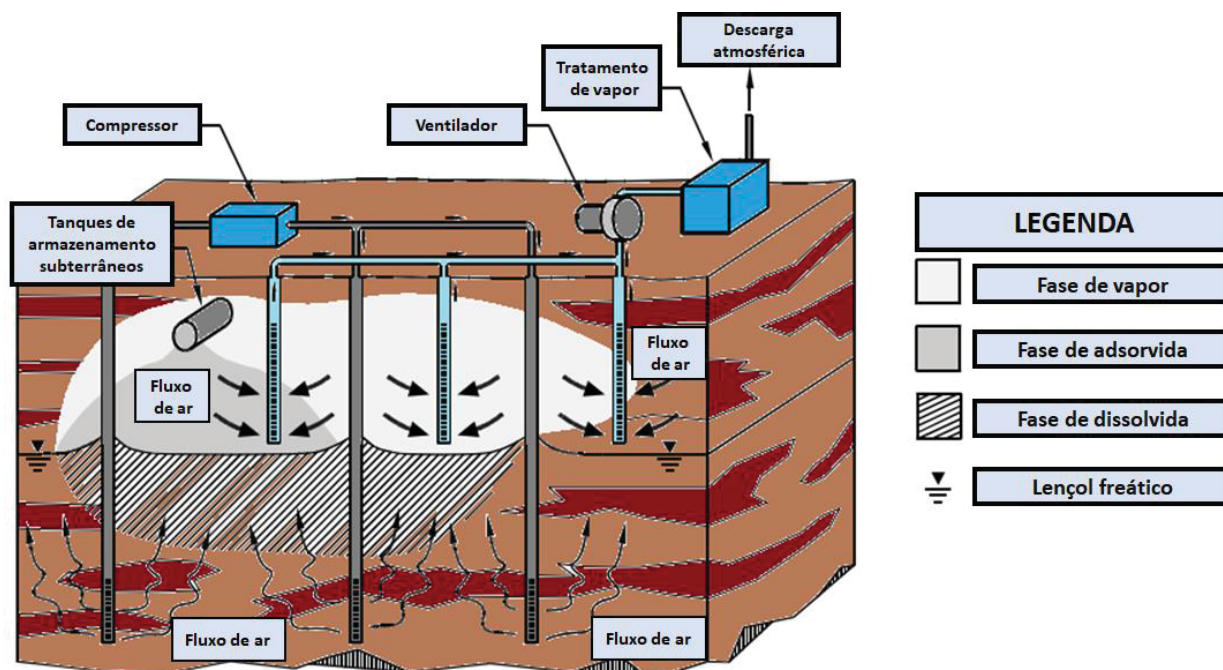
Xiao e Zytner et al. (2019) verificaram a degradação de hidrocarbonetos de gasolina no solo com a utilização da bioventilação. Os autores relataram o aumento das taxas de degradação de 0,079/dia para 0,194/dia durante 300 dias. Mosco e Zytner (2017) também evidenciaram a remoção da gasolina após 30 dias com o emprego da bioventilação no solo. Anekwe e Isa (2020) observaram a degradação de 60 a 75% de HTP no solo contaminado com petróleo com a aplicação da bioventilação e água de esgoto, após 4 semanas.

#### 2.2.5 Técnica de bioespargimento (*Biosparging*)

A técnica de bioespargimento (*Biosparging*) (Figura 5) é aplicada *in situ*, no qual ar ou oxigênio e nutrientes (quando necessário) são aplicados na zona saturada do solo. Dessa maneira, os micro-organismos indígenas são estimulados para biodegradação de compostos orgânicos. Esta técnica pode ser utilizada para redução das concentrações de contaminantes presentes na composição do petróleo, que estão dissolvidos no lençol freático e adsorvidos no solo abaixo do lençol freático (EPA, 1994).

O estudo de Ahmadnezhad et al. (2021) demonstrou a redução de 92% de tolueno, etilbenzeno e benzeno de águas subterrâneas com a aplicação de bioespargimento (*biosparging*) combinado com barreiras reativas permeáveis (BRPs). Kao et al. (2008) averiguaram a remoção superior a 70% de benzeno, tolueno, etilbenzeno e xileno após 10 meses. Os autores também relataram a presença de espécies biorremediadoras, sendo elas *Candida*, *Magnetobacterium*, *Flavobacteriales bacterium* e *Bacteroidetes bacterium*. Hatzinger e Lippincott (2019) evidenciaram a remoção de 99,7% de n-nitrosodimetilamina com a utilização de bioespargimento por meio da aplicação de ar e propano, para tratamento de um aquífero contaminado. Stokes (2011) também averiguou a redução de pentaclorofenol em águas subterrâneas, assim como relataram o aumento da ocorrência de bactérias do gênero *Burkholderia* com aplicação de nutrientes.

FIGURA 5 – TÉCNICA DE BIOESPARGIMENTO (*BIOSPARGING*).



FONTE: adaptado de EPA, 1994.

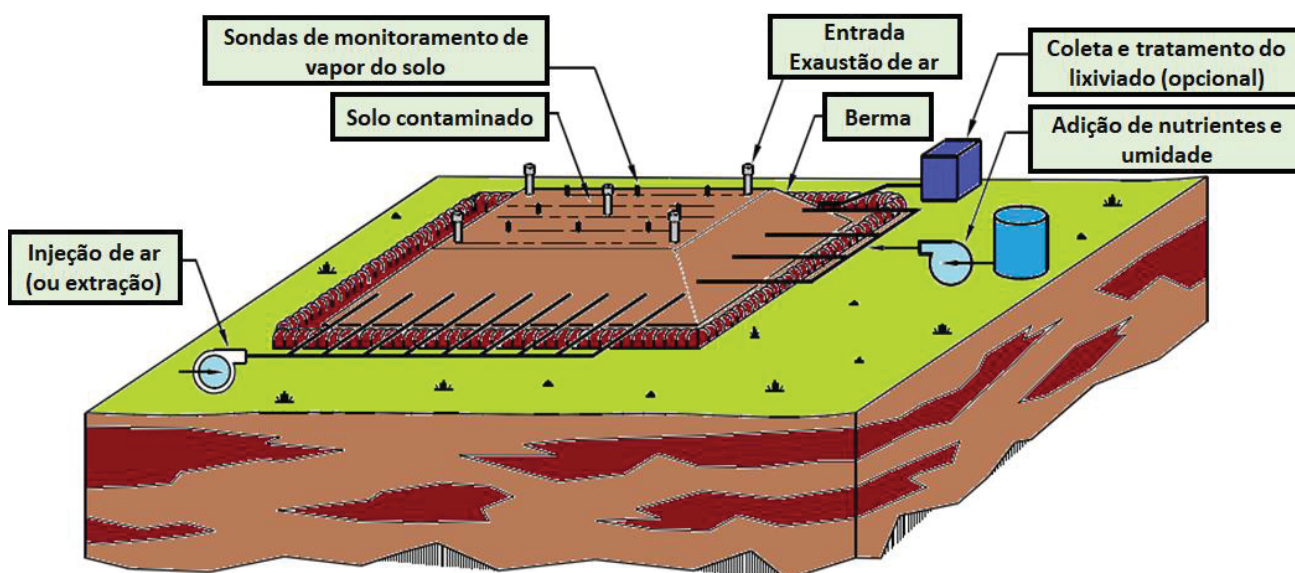
### 2.2.6 Biopilhas

A técnica de biopilhas (Figura 6) é realizada *ex situ* e permite a redução de contaminantes em solos escavados por meio da biodegradação. Os solos são agrupados em montes (pilhas) para estimular a atividade microbiana por meio da utilização de nutrientes, ar, minerais e aumentando a umidade do solo. Como resultado são observados o crescimento microbiano e a degradação de contaminantes. Esta técnica é indicada para compostos voláteis e mais leves, como a gasolina. Outros compostos como óleo diesel, lubrificantes e querosene, requerem maior tempo para degradação (EPA, 1994).

O estudo de Gomez e Sartaj (2014) evidenciaram a remoção de 74% a 82% de hidrocarbonetos de petróleo em solo contaminado, no qual a presença de consórcios microbianos (constituídos por bactérias nativas do Canadá) e adubo (maduro) na técnica de biopilha permitiu maior remoção após 94 dias. De acordo com Olivia (2021), a técnica de biopilhas combinada com a adição de vermicompostos permite a descontaminação residual, melhora as propriedades do solo e reduz a toxicidade. Jabbar et al. (2018) evidenciaram a remoção de 75% de hidrocarbonetos de petróleo do solo contaminado por óleo diesel na presença de bactérias, a partir da aplicação de biopilhas durante 35 dias. Jabbar et al. (2019)

também afirmam que a técnica de biopilhas é ecologicamente correta, economicamente viável e possibilita o tratamento do solo contaminado por óleo diesel.

FIGURA 6 – TÉCNICA DE BIOPILHAS.



FONTE: adaptado de EPA, 1994.

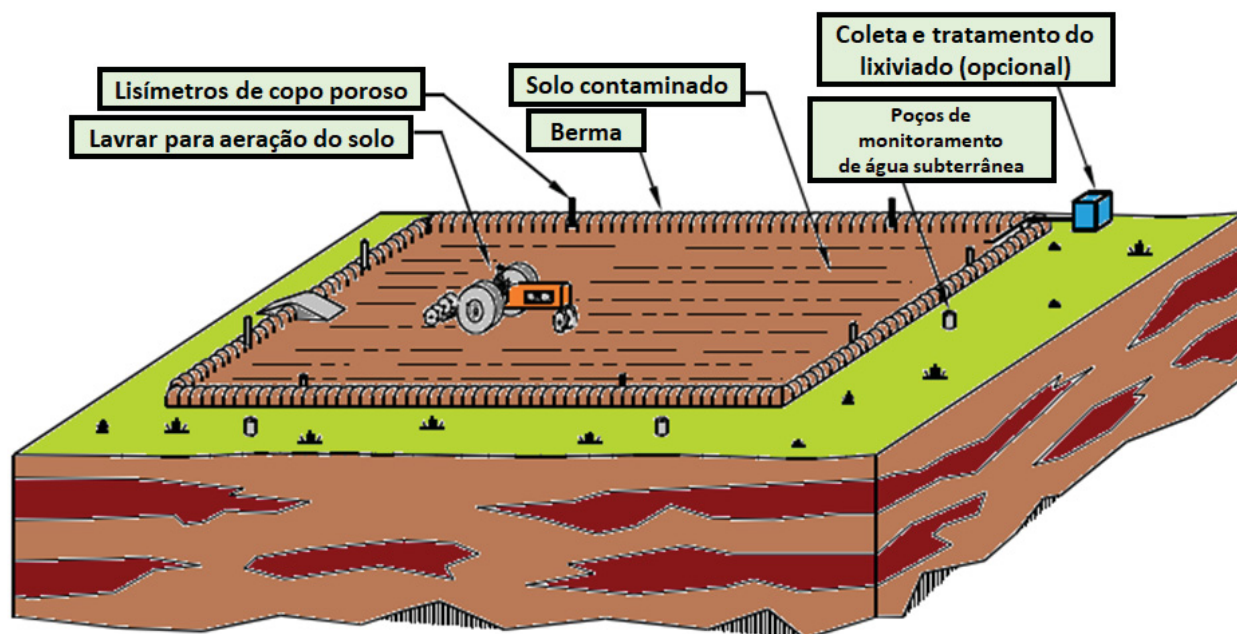
### 2.2.7 Técnica de tratamento de terra (*Landfarming*)

A técnica de tratamento de terra (*Landfarming*) (Figura 7), também conhecida como tratamento de terra ou aplicação de terra, é empregada *ex situ* para redução de contaminantes (adsorvidos no solo) por meio da biodegradação. O princípio desta técnica é colocar uma camada fina de solo contaminado escavado na superfície do solo. Desta forma, ocorre a estimulação da atividade microbiana aeróbia, através da adição de minerais, nutrientes, umidade ou pela aeração do solo. Esta técnica é utilizada para tratamento de áreas contaminadas por compostos de menor peso molecular, como a gasolina (EPA, 1994).

O estudo Omosiowho et al. (2014) mostrou a degradação de hidrocarbonetos totais de petróleo com a aplicação da técnica de tratamento de terra (*landfarming*) após 5 semanas. Mmom e Deekor (2010) evidenciaram a redução de 82% e 50,54% de hidrocarbonetos totais de petróleo do solo contaminado com a utilização desta técnica. Brown et al. (2017) também averiguaram a remoção de 53%

de hidrocarbonetos de petróleo do solo após 16 semanas. O estudo de Okonofua et al. (2021) também demonstrou a diminuição de 98% de hidrocarbonetos totais de petróleo em solo contaminado por petróleo, com adição de esterco de vaca e fertilizantes (nitrogênio, fósforo e potássio).

FIGURA 7 – TÉCNICA DE TRATAMENTO DE TERRA (LANDFARMING).



FONTE: adaptado de EPA, 1994.

### 2.2.8 Bioestimulação

A bioestimulação é uma técnica utilizada *in situ*, que visa estimular a atividade microbiana para a degradação de contaminantes, por meio da aplicação de nutrientes ou aceptores finais de elétrons. As condições ambientais são importantes para melhores resultados na remoção de contaminantes. Logo, é necessário melhorar a aeração do solo, umidade e pH (BAPTISTA et al., 2003; DELLA-FLORA et al., 2020).

O estudo de Al-Kind e Abed (2016) comprovou a degradação de 90% de alcanos com a utilização da técnica de bioestimulação, a partir da aplicação de lodo de esgoto, farelo de soja e palha de trigo, com a finalidade de estimular a biodegradação de óleo. Nwankwegu et al. (2016) verificaram que a bioestimulação com adubo permite a biorremediação de solos contaminados por óleo diesel. Os autores também identificaram as espécies *Bacillus nealsoni*, *Micrococcus luteus*,

*Aspergillus awamori* e *Fusarium proliferatum* neste processo de biorremediação. Bezza e Chirwa (2016) confirmaram que a aplicação de biossurfactantes e nutrientes promove a degradação de 86,5% de HTPs depois de 45 dias. Roy et al. (2018) constataram que a adição de fosfato e nitrato aumentou a degradação e a atenuação de HTP durante a biorremediação do solo por petróleo. Bosco et al. (2019) também evidenciaram que a bioestimulação com aplicação de glicose permite a degradação de 65% a 70% de óleo diesel no solo após 34 dias.

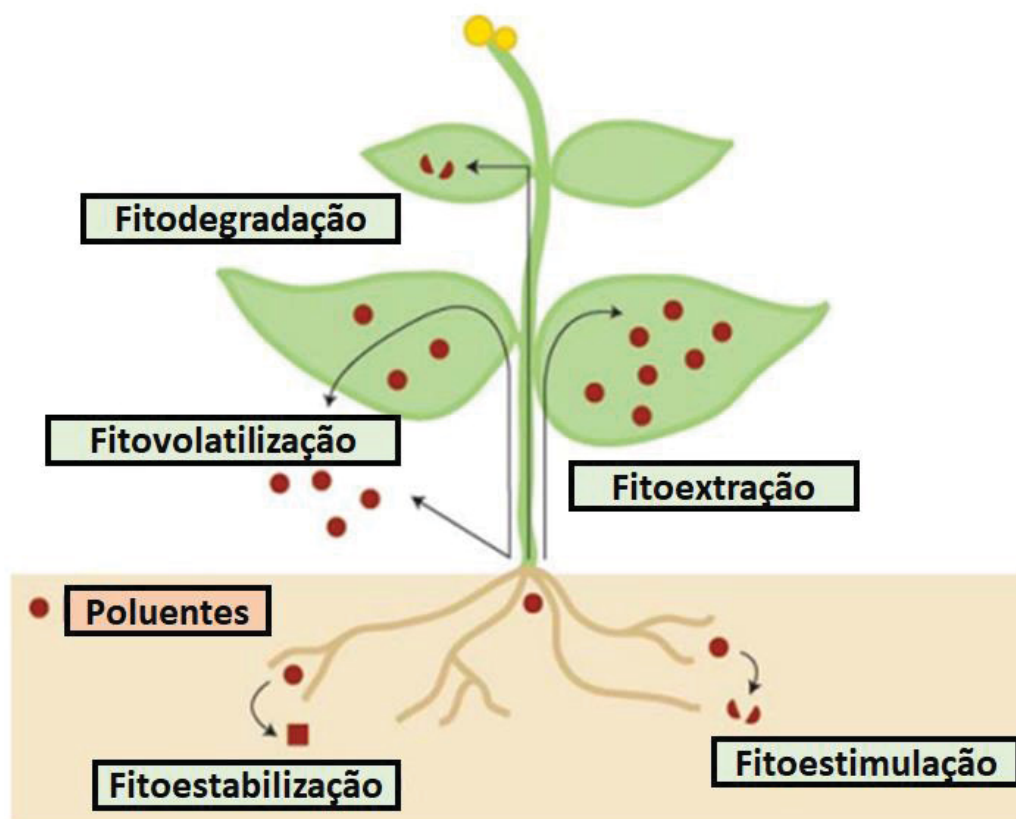
### 2.2.9 Fitorremediação

A técnica de fitorremediação utiliza plantas para o tratamento de áreas impactadas com diferentes tipos de contaminantes. Geralmente técnicas fitorremediadoras são aplicadas *in situ* e a hidroponia permite sua aplicação *ex situ*. Os contaminantes orgânicos que podem ser tratados são: hidrocarbonetos de petróleo, óleo cru, compostos clorados, explosivos, pesticidas, entre outros. E, os contaminantes inorgânicos para realizar o tratamento geralmente são: sais, metais pesados, materiais radioativos e metalóides. A fitorremediação possui diferentes estratégias (Figura 8) que permite a redução, extração, estabilização, degradação, assimilação e volatilização, dos contaminantes conforme o tipo do composto e do meio afetado (ITRC, 2009; MEJÍA et al., 2014; PILON-SMITS, 2005).

O estudo de Nwaichi et al. (2021) demonstrou a degradação de 80% de hidrocarbonetos aromáticos policíclicos e 66% de hidrocarbonetos totais de petróleo, a partir da aplicação da fitorremediação em solo contaminado por petróleo. Nero (2020) também evidenciou a redução de 78,8% e 51,1% de hidrocarbonetos totais de petróleo, respectivamente, pelas espécies *Jatropha curcas* (pinhão-mansão) e *Vetiveria zizanioides* (capim vetiver) em solo contaminado por hidrocarbonetos, após 16 semanas. Ojo e Sridhar (2020) verificaram o potencial fitorremediador de *Nauclea diderrichii* (bilíngua) para a fitoextração de metais pesados no solo. O estudo de Hammami (2018) comprovou que *Silybum marianum* (cardo de leite) apresenta potencial para aplicação na fitorremediação. Os autores evidenciaram o bioacúmulo de cádmio e óleo diesel na planta, em solo contaminado. Steliga e Kluk (2020) também constataram que *Festuca arundinacea* (festuca alta) apresenta capacidade para remoção de chumbo, níquel, cádmio e HTPs em solo contaminado após 6 meses.



FIGURA 8 – TÉCNICA DE FITORREMEDIAÇÃO.



Os círculos, semicírculos e quadrados representam, respectivamente, os poluentes, poluentes degradados e poluentes imobilizados. FONTE: adaptado de PILON-SMITS, 2005.

#### 2.2.12 Atenuação Natural (Monitorada)

A atenuação natural, também chamada de remediação passiva ou intrínseca, é uma técnica que permite a redução dos contaminantes sem a intervenção humana. Mas a eficácia não é garantida de acordo com os objetivos definidos e o tempo determinado para remediação, pois varia conforme a área contaminada. Para verificação da eficiência do processo de atenuação natural, por esta razão, é necessário o monitoramento. Nesta técnica existem muitos processos envolvidos, como diluição, dispersão, sorção, volatilização e transformações bióticas e abióticas (EPA, 2004; WIEDEMEIER et al., 1999).

O estudo de Lv et al. (2018) averiguou redução de 60% de hidrocarbonetos de petróleo em águas subterrâneas depois de 4 anos, com a aplicação da atenuação natural. McKew et al. (2007) demonstraram o potencial de biodegradação de comunidades de micro-organismos marinhos. Os autores relataram a degradação

de 99% e 84%, respectivamente, para alcanos de baixo e alto peso molecular. Guo et al. (2020) constataram que a atenuação natural possibilita a biodegradação de hidrocarbonetos de petróleo em áreas contaminadas. Abena et al. (2019) também verificaram a degradação de 48% de hidrocarbonetos totais de petróleo em solo contaminado. O estudo de Marić et al. (2018) comprovou o processo de atenuação natural em águas subterrâneas contaminadas por querosene. Os autores também evidenciaram processos de biodegradação sem qualquer estimulação antrópica.

### 2.3 BIORREMEDIAÇÃO MICROBIANA

A biorremediação é processo pelo qual plantas ou micro-organismos, geralmente bactérias e fungos, reduzem a contaminação ambiental. Estes organismos convertem os contaminantes geralmente em compostos menos nocivos, como dióxido de carbono e água. Isso é possível devido a variedade de vias metabólicas, regulação gênica e produção enzimática, que permitem a sobrevivência e degradação de poluentes por estes micro-organismos (LOSS; YU, 2018).

O potencial bacteriano para biorremediação associa-se com a capacidade de utilização de poluentes como fonte de carbono. Por isso, é necessária a seleção destes micro-organismos para o tratamento bem-sucedido de ambientes contaminados (KHALID et al., 2021). O estudo de Golani e Hajela (2020) demonstrou o potencial de degradação de óleo diesel por *Staphylococcus argenteus* MG2. Esta nova linhagem demonstrou taxas de degradação acima de 90%, quando realizada a bioestimulação com fertilizantes e adubo. Aguelmous et al. (2018) verificaram taxas de degradação acima de 71% de polifenóis totais em lodo de petróleo devido à intensa atividade bacteriana. Gielnik et al. (2019) observaram o potencial de espécies bacterianas para degradação de hidrocarbonetos totais de petróleo (HTP) e remoção de óleo diesel, principalmente pelas espécies de *Rhodococcus*.

As espécies *Stenotrophomonas*, *Pseudomonas*, *Bordetella*, *Brucella*, *Bacillus*, *Achromobacter*, *Advenella*, *Klebsiella*, *Mesorhizobium*, *Mycobacterium*, *Ochrobactrum*, *Pusilimonas* e *Raoultella*, foram responsáveis de biodegradação completa de HAP de alto peso molecular de petróleo, com relação à utilização da técnica de compostagem, conforme a pesquisa de Obi et al. (2020). O estudo de Nwankwegu e Onwosi (2017) mostrou a remoção de HTP de gasolina no solo por

*Micrococcus luteus*, no qual deteve a maior porcentagem de degradação (71,10%). Adeleye et al. (2018) também evidenciaram o potencial de degradação de óleo de motor usado por espécies de *Klebsiella*, *Pseudomonas* e *Bacillus*. Mathew e Abraham (2020) mostraram a capacidade de remoção de óleo diesel por bactérias, quando bioestimuladas, no qual a taxa de degradação foi de 87%.

O potencial biorremediador de fungos foi demonstrado por várias pesquisas. Benguenab e Chibani (2020) observaram degradação de petróleo por fungos filamentosos (*Purpureocillium lilacinum* e *Aspergillus ustus*). Becarelli et al. (2019) averiguaram a capacidade de *Lambertella* sp. para oxidação do óleo diesel. Os autores também relataram a produção de lacases extracelulares e Mn-peroxidases na presença de contaminação. Kheirkhah et al. (2020) também observaram o potencial biorremediador de fungos (*Schizophyllum commune*) para n-hexadecano, após um período de 120 dias. O estudo de Ezekoye et al. (2018) permitiu verificar a diversidade de fungos presentes em solos contaminados com petróleo. O potencial de biorremediação foi observado por meio da redução da concentração HTP. Os autores identificaram espécies pertencentes aos gêneros *Candida*, *Aspergillus*, *Phoma*, *Cladosporium*, *Cladophialophora*, *Scopulariopsis*, *Bipolaris*, *Gliocladium*, *Paecilomyces*, *Trichophyton*, *Rhodotorula* e *Acremonium*, nos quais as espécies de *Candida* e *Aspergillus* apresentaram maior frequência de ocorrência. A habilidade de degradação de óleo diesel por *Aspergillus fumigatus* foi demonstrada por Naama e Alhusainy (2018), no qual os autores observaram uma taxa de degradação de 69,50% em 28 dias.

O estudo de Essabri et al. (2019) também comprovou a degradação de hidrocarbonetos de petróleo e produção de biomassa por *Aspergillus niger*, *Penicillium ochrochloron* e *Trichoderma viridae*. Hernández-Adame et al. (2021) observaram a degradação de HTP por *A. niger*, *A. fumigatus*, *A. terreus* e *A. flavus* após 90 dias. Al-Zaban et al. (2020) também relataram a capacidade de biodegradação de petróleo por fungos rizosféricos (*Aspergillus flavus* e *Trichoderma harzianum*). Maamar et al. (2020) verificaram o potencial de *Penicillium polonicum*, *P. chrysogenum* e *P. cyclopium*, para biorremediação de petróleo. Mohammadi-Sichani et al. (2017) confirmou a habilidade de remoção de hidrocarbonetos por *Pleurotus ostreatus* em solo contaminado. Nkereuwem et al. (2020) verificaram que a presença de *Glomus clarum* (fungo micorrízico arbuscular) no solo contaminado com petróleo associa-se com o aumento da degradação e remoção de HTP. A

comunidade microbiana proveniente de resíduos sólidos maturados mostra-se promissora para biodegradação de hidrocarbonetos de óleo diesel e gasolina de acordo com a pesquisa de Leal et al. (2018). No qual os autores relataram a prevalência de fungos sobre as bactérias.

As leveduras negras são fungos ascomicetos pertencentes à ordem Chaetothyriales (VOGLMAYR et al., 2010). Estes micro-organismos são caracterizados pela presença de melanina na parede celular e reprodução assexuada por brotamento multilateral. Estas leveduras são encontradas em ambientes oligotróficos e resistem a condições ambientais adversas (radiação UV, temperaturas elevadas e estresse osmótico) (STERFLINGER, 2006). No decorrer dos anos, vários estudos foram realizados com relação ao potencial biorremediador destes micro-organismos e novas espécies foram descobertas. Assim como, análises genômicas foram realizadas para detecção de genes associados com a tolerância à poluição e biodegradação de poluentes. O estudo de Prenafeta-Boldú et al. (2004) demonstrou a metabolização de BTEX por *Cladophialophora* sp. De Hoog et al. (2006) isolaram uma nova espécie de *Exophiala xenobiotica* a partir do solo contaminado por hidrocarbonetos (naftaleno, xileno, etil-benzeno, tolueno e benzeno). Badali et al. (2011) também descreveu uma nova espécie, *Cladophialophora psammophila*, no qual apresentou tolerância e crescimento em meio contendo tolueno e alquilbenzeno. Uma nova espécie de *E. sideris* isolada de ambientes poluídos por arsênio e alquilbenzenos foi descrita por Seyedmousaavi et al. (2011). O estudo de Isola et al. (2013) apresentou a capacidade de degradação de tolueno por espécies de *Exophiala*. Poynter et al. (2015) verificaram a biodegradação de hidrocarbonetos por *Cladophialophora*, *Scedosporium* e *Exophiala*. Blasi et al. (2016) também verificaram a habilidade de *C. immunda* e *E. mesophila*, em utilizar tolueno como única fonte de carbono. Blasi et al. (2017) evidenciaram nas análises genômicas e transcriptômicas de *C. immunda*, a ativação de genes (como *pcuC*) relacionados com a biodegradação de tolueno. Zhang et al. (2019) também descobriram uma nova espécie de *E. macquariensis* em ambientes sub-antárticos contaminados por hidrocarbonetos. Ide-Pérez et al. (2020) verificaram a capacidade de remoção de hidrocarbonetos aromáticos por uma nova espécie de *Exophiala*. O estudo de Radwan e Ruiz (2021) apresentou análises genômicas de leveduras negras, os autores evidenciaram genes relacionados com a adaptação e degradação de hidrocarbonetos; sendo que as espécies *Exophiala oligosperma*,

*Baudoinia panamericana* e *Cyphellophora europaea* possuíram mais genes para enzimas hidrolases e de degradação de poluentes. Portanto, as ferramentas de Biologia Molecular (identificação molecular, genômica e transcriptômica) permitem melhor elucidação do potencial biorremediador e descobrir novas espécies de micro-organismos em ambientes impactados pela poluição.

A espécie *E. sideris* demonstrou capacidade para degradação de hidrocarbonetos aromáticos e outros compostos. Verifica-se que estas leveduras biorremediadoras são frequentemente encontradas em sítios de contaminação (SEYEDMOUSAVI et al., 2011). A espécie *E. xenobiotica* foi detectada em tanques de gasolina de carros. Apesar da relação filogenética associadas com cepas patogênicas, é fundamental a seleção de linhagens não patogênicas para aplicação na biorremediação, evitando riscos à saúde humana (GAYLARDE et al., 2005; ISOLA et al., 2013). O estudo realizado por Isola et al. (2013) demonstrou a degradação de tolueno pelas espécies *E. xenobiotica* e *E. mesophila*. Conseqüentemente, as concentrações de tolueno foram reduzidas de 0,1 a 0,47 %. Além disso, a produção de biomassa foi observada, relacionada intimamente com a degradação de contaminantes.

Os fungos são capazes de crescer na presença de contaminantes, tais como tolueno, hexadecano e bifenil policlorado 126. Além disso, utilizam os contaminantes como fonte de carbono e energia. Por isso, se tem o interesse biotecnológico para aplicação como biorremediadoras, por exemplo, as espécies *Exophiala mesophila* e *Cladophialophora immunda*, principalmente para descontaminação do solo (BLASI et al., 2016). O estudo de Zhang et al. (2018) descreveu uma nova espécie de levedura negra, *E. macquariensis*, isolada do solo da Antártica contaminado por hidrocarbonetos. Muitos estudos têm mostrado a capacidade destes micro-organismos na degradação de benzeno, tolueno, etilbenzeno e xileno. Além disso, foi evidenciada a capacidade de biodegradação de tolueno em baixas temperaturas por *E. macquariensis*, utilizando hidrocarbonetos como única fonte de carbono a 10 °C.

O estudo conduzido por Kottb et al. (2019) demonstrou a eficácia de 56,08 % na degradação de antraceno por *Cladosporium* sp. após duas semanas. Este fungo foi isolado do Golfo de Suez, uma área acometida pela contaminação por petróleo, ocasionada pelo transporte desse composto, produção de petroderivados, assim como emissões resultantes da combustão em refinarias e navegações. Kwaji et al.

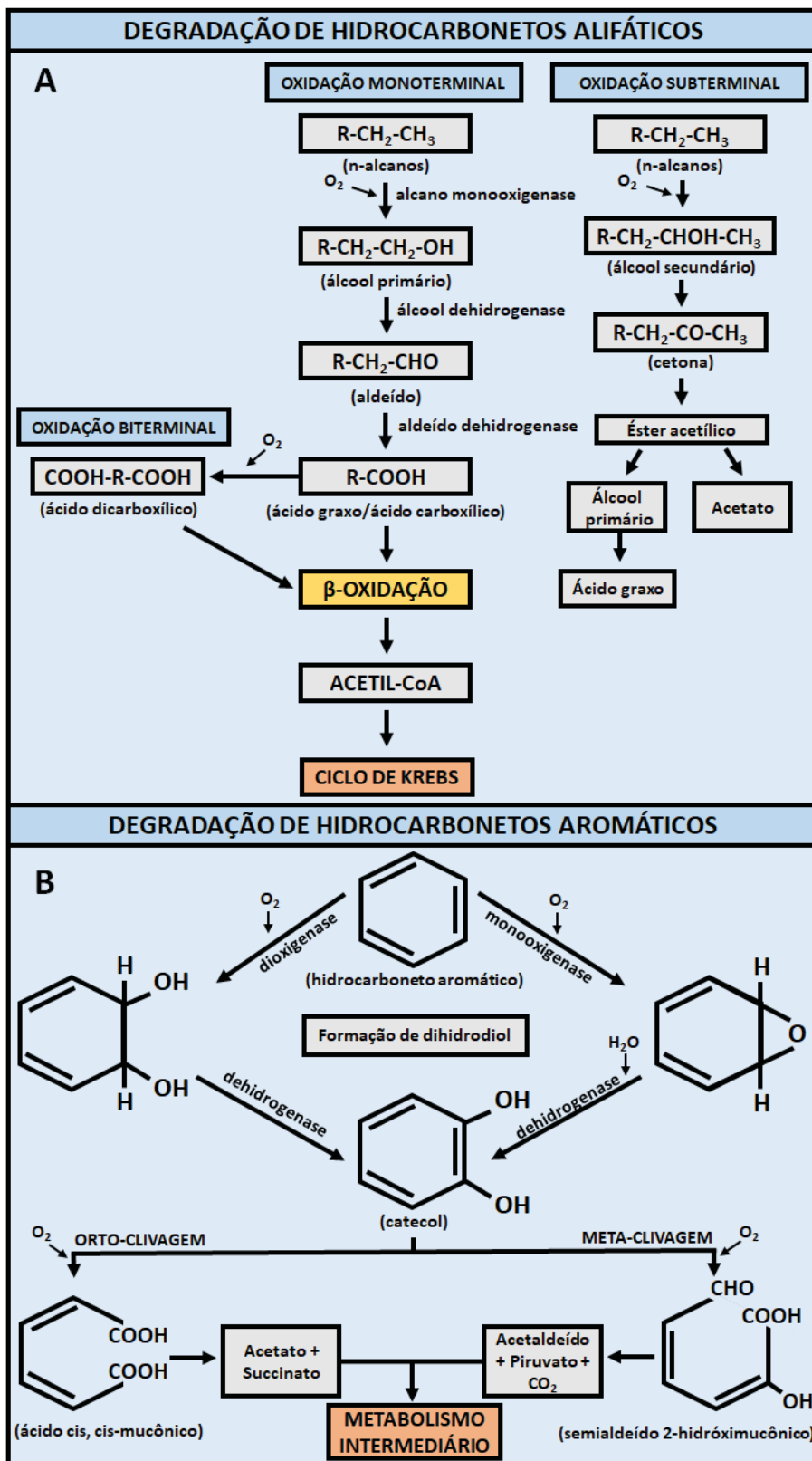
(2020) também constataram o potencial de *Cladosporium* spp. para degradação de hidrocarbonetos. Cocarta et al. (2019) afirma que solos contaminados anteriormente por hidrocarbonetos, mostram fontes potenciais para o isolamento de espécies microbianas hidrocarbonoclasticas. A adaptação prévia ao sítio de contaminação, desse modo, favorece a sobrevivência e o processo de degradação (completa ou parcial) em altas concentrações de hidrocarbonetos.

Os fungos conseguem degradar os contaminantes devido à produção de enzimas, tais como lignina peroxidase, manganês peroxidase, lacases, lipases, monoxigenases, dioxigenases, citocromo P450 e epóxido hidrolase. Dessa forma, é possível a biodegradação de diferentes hidrocarbonetos (SRIVASTAVA; KUMAR, 2019). As enzimas extracelulares fúngicas, conseqüentemente, desempenham um papel fundamental na biodegradação, uma vez que convertem os metabólitos em compostos menos tóxicos. Portanto, considerando o potencial biorremediador fúngico, é possível o tratamento do solo contaminado por compostos orgânicos ou inorgânicos, sedimentos e águas contaminadas por hidrocarbonetos aromáticos policíclicos (HAP) (CHAURASIA; BHARATI; MANI, 2019). Neste contexto, novos micro-organismos capazes de degradar diferentes contaminantes são constantemente identificados. A tolerância e adaptabilidade destes micro-organismos à poluição é evidenciada pela utilização de diferentes tipos de poluentes como fonte de carbono e energia (DACCÒ et al., 2020).

Existem várias enzimas que já foram descritas associadas com a biodegradação (Figura 9) e os mecanismos enzimáticos vêm sendo estudados mais frequentemente, como hidrolases e óxido redutases. O processo de biorremediação, à vista disso, depende da ação enzimática sobre os contaminantes e convertê-los em compostos menos prejudiciais ao ambiente. A eficácia deste processo, contudo, depende das condições ambientais (pH, temperatura, ácidos orgânicos, teor de nutrientes, disponibilidade de oxigênio, umidade), relacionado diretamente com o crescimento e atividade microbiana. Para o aumento das taxas de degradação é necessário a realização da manipulação das condições ambientais, otimizando o crescimento e a atividade dos micro-organismos (KARIGAR; RAO, 2011; KOSHLAF; BALL, 2017; LIU et al., 2017). Chen et al. (2020) afirmam que a matéria orgânica do solo influencia nas taxas de degradação de solos contaminados por combustíveis, como óleo diesel. Os autores também relataram a prevalência das espécies

bacterianas (*Gordonia* spp. e *Rhodococcus erythropolis*) e fúngicas (*Fusarium oxysporum* e *Aspergillus versicolor*) para degradação.

FIGURA 9 – VIA DE BIODEGRADAÇÃO AERÓBICA DE HIDROCARBONETOS DE PETRÓLEO.



Em A, destaca-se a via de degradação de hidrocarbonetos alifáticos (n-alcenos) através da oxidação monoterminal, biterminal e subterminal, obtendo como produto ácidos carboxílicos e produto final 3 NADH, FADH<sub>2</sub>, 1 GTP, CO<sub>2</sub>, oxaloacetato e água (Ciclo de Krebs). Em B, destaca-se a via de degradação de hidrocarbonetos aromáticos através da orto e meta-clivagem a partir de catecol, obtendo como produto final acetato, succinato, acetaldeído, piruvato e CO<sub>2</sub>. FONTE: adaptado de CHAUDHARY; KIM, 2019.

Nos ensaios de biodegradação devem ser consideradas as interações entre os micro-organismos, pois naturalmente estas espécies interagem entre si. Também se evidencia uma inter-relação de vias metabólicas na comunidade microbiana. Muitos micro-organismos já foram caracterizados quanto à sua capacidade de degradação de HAP (moléculas de estrutura complexa, baixa solubilidade em água e dificilmente biodegradada). Assim como, diferentes enzimas foram isoladas e novas vias metabólicas foram descobertas, permitindo compreender a funcionalidade das diferentes comunidades microbianas. O conhecimento sobre estas novas vias metabólicas possibilita a realização de um consórcio microbiano funcional. Dessa forma, se considera a complementaridade destas vias, além da interação antagônica ou não entre os micro-organismos, produção de surfactantes, biodisponibilidade do contaminante, que podem interferir no processo de degradação (COCARTA et al., 2019; JACQUES et al., 2007; SRIVASTAVA; KUMAR, 2019). Borowik et al. (2017) observaram maiores taxas de degradação de HAP (que apresentavam menores quantidades de anéis em sua estrutura) por fungos na presença de óleo diesel no solo, assim como o aumento da atividade enzimática (óxido redutases).

O estudo de Obukohwo et al. (2020) confirmou a capacidade de degradação, principalmente de fenol, óleo e graxa, por *Chrysosporium tropicum*, *Aspergillus flavus*, *A. niger* e *Rhizopus oryzae*. Asemoloye et al. (2017) verificaram o potencial de fungos rizosféricos (*A. niger*, *Talaromyces purpurogenus*, *Trichoderma harzianum* e *A. flavus*) para melhoria da disponibilidade de nutrientes no solo, redução das concentrações de metais pesados e acelerar taxas de degradação de hidrocarbonetos aromáticos policíclicos. O estudo de Zafra et al. (2014) mostrou que a aplicação de um consórcio fúngico combinado com bactérias apresenta eficácia no processo de biorremediação de hidrocarbonetos aromáticos policíclicos. Os autores evidenciaram a remoção de 87,76 %, 48,18 % e 56,55%, respectivamente, para fenantreno, pireno e benzo-alfa pireno.



A interação entre as espécies microbianas mostra-se essencial, bem como sua tolerância às altas concentrações de poluentes, a capacidade de utilizá-los como fonte de carbono e energia, promover a descontaminação e melhorar a qualidade ambiental. Neste contexto, o conhecimento da diversidade de micro-organismos nos diferentes ambientes (aquáticos e terrestres) é de grande relevância; uma vez que os fungos apresentam potencial para biorremediação de metais pesados, tintas têxteis, pesticidas e hidrocarbonetos aromáticos policíclicos. Além do mais, evidencia-se a melhora da absorção de nutrientes no solo e da sobrevivência de plantas, respectivamente, devido à presença de fungos micorrízicos e endofíticos (YAKOP; TAHA; SHIVANAND, 2019).

### 2.3.1 Fungos endofíticos: *Bactris gasipaes* (Arecaceae) como fonte para isolamento de fungos biorremediadores

As plantas superiores, como *Bactris gasipaes* (Arecaceae), são habitats complexos para o desenvolvimento de uma grande diversidade de micro-organismos. Os fungos endofíticos colonizam os tecidos internos de folhas, caule e raiz de plantas, sem ocasionar danos ou sintomas. Além disso, o estudo destes micro-organismos permite conhecer a sua diversidade e distribuição (STONE; POLISHOOK; WHITE, 2004; VIRK et al., 2021). Na literatura são observados vários estudos relacionados com o potencial de produção de metabólitos secundários ativos por fungos endofíticos, como isoprenóides, policetídeo, fenóis, terpenóides, ergoflavina, hipericina, pestacina, entre outros. Também se evidencia a produção de exoenzimas associada com a colonização das plantas (KUMAR et al., 2019; SCHULZ et al., 2002). Existem poucos estudos sobre o potencial biorremediador de fungos endofíticos para petroderivados. Portanto, a aplicação destes micro-organismos para a descontaminação ambiental deve ser explorada.

O estudo de Pietro-Souza et al. (2020) demonstrou a remoção total de mercúrio por fungos endofíticos (*Aspergillus* sp., *Curvularia geniculata* e *Westerdykella* sp.). D'Errico et al. (2020) verificaram o potencial de degradação de éter metil terciário-butílico (aditivo da gasolina) por *Drechslera* sp. Segundo Virk et al. (2021) a aplicação de fungos endofíticos no processo de biorremediação é algo revolucionário, com relação a remoção de diferentes poluentes (pesticidas, herbicidas, metais pesados, hidrocarbonetos, entre outros). O estudo de Soldi (2020)

verificou a capacidade de fungos endofíticos para a biorremediação de solos contaminados por chumbo, no qual também melhorou o desenvolvimento de *Festuca arundinacea* (festuca alta) na presença da poluição. A pesquisa de Wang et al. (2021) evidenciou a degradação de 86,89% de ácido 4-cloro-2-metilfenoxiacético (MCPA) após 7 dias por *Phomopsis* sp., fungo endofítico de *Psidium guajava* (goiabeira). Bibi et al. (2018) evidenciaram a degradação de cromo hexavalente por *Aspergillus fumigatus*, *Rhizopus* sp., *Penicillium radicum* e *Fusarium proliferatum*, no qual observada a biotransformação deste composto a uma forma menos tóxica.

De acordo com He et al. (2019) a combinação de micro-organismos endofitos com plantas fitorremediadoras possibilitam a remediação de solos contaminados com diferentes poluentes. Segundo Deng e Cao (2017) os micro-organismos endofíticos melhoram o crescimento, produtividade, sequestro de carbono pelas plantas e a fitorremediação. O estudo de Sawant e Rodrigues (2020) verificou a biodegradação de hidrocarbonetos de petróleo residuais por fungos endofíticos (*Nigrospora* sp., *A. niger*, *Aspergillus* sp., *Curvularia* sp., *Pestalotiopsis adusta*, *Fusarium* sp. e *Cladosporium* sp.). apresentaram habilidade para degradação de poluentes. Agrawal et al. (2021) evidenciaram a capacidade de descoloração de corantes têxteis sintéticos por *Penicillium megasporum* endofítico de *Cupressus torulosa*, além da produção de lacases.

A pupunheira (*Bactris gasipaes*) é uma planta nativa da região amazônica, seus frutos e caule (palmito) tem importância econômica (COSTA; ROCHA; FREITAS, 2019; NEVES et al., 2004). O estudo de Costa et al. (2019) demonstrou o potencial de micro-organismos endofíticos do fruto de *B. gasipaes* para controle biológico de bactérias e fungos fitopatogênicos. Almeida et al. (2005) verificaram a diversidade de fungos endofíticos dos ápices caulinares de *B. gasipaes* cultivadas *in vivo* e *in vitro*, foram identificadas as espécies *Fusarium oxysporum*, *Neotyphodium* sp. e *Epicoccum nigrum* (*in vitro*) e *E. nigrum*, *F. oxysporum*, *Colletotrichum* sp., *Alternaria gaisen*, *Neotyphodium* sp. (*in vivo*). O estudo de Neto (2002) mostrou a diversidade de fungos endofíticos dos frutos de *B. gasipaes*. De acordo com os resultados foram identificados de um total de 627 micro-organismos, 36% de *Thielaviopsis paradoxa*, 17,1% de *Ceratocystis paradoxa*, 10,4% de *Phomopsis* sp., 9,7% de *Fusarium* sp. e 2% de *Penicillium*. Neste contexto, verifica-se que *B. gasipaes* é uma fonte potencial para o isolamento de fungos endofíticos. Contudo,

são necessários mais estudos para elucidar o potencial biotecnológico destes micro-organismos.

### 3 REFERÊNCIAS

ABDELLAH, M. H.; NOSIER, S. A.; EL-SHAZLY, A. H.; MUBARAK, A. A. Photocatalytic decolorization of methylene blue using TiO<sub>2</sub>/UV system enhanced by air sparging. **Alexandria Engineering Journal**, v. 57, n. 4, p. 3727-3735. 2018.

ABENA, M. T. B.; LI, T.; SHAH, M. N.; ZHONG, W. Biodegradation of total petroleum hydrocarbons (TPH) in highly contaminated soils by natural attenuation and bioaugmentation. **Chemosphere**, v. 234, p. 864-874. 2019.

ADELEYE, A. O.; NKEREUWEM, M. E.; OMOKHUDU, G. I.; AMOO, A. O.; SHIAKA, G. P.; YERIMA, M. B. Effect of microorganisms in the bioremediation of spent engine oil and petroleum related environmental pollution. **Journal of Applied Sciences and Environmental Management**, v. 22, n. 2, p. 157. 2018.

Agência Nacional do Petróleo, Gás Natural e Biocombustíveis (ANP). **Dados estatísticos**. Disponível em: < <http://www.anp.gov.br/dados-estatisticos>>. Acesso em: 14 jul. 2019.

AGRAWAL, P. K.; UPADHYAY, P.; SHRIVASTAVA.; SHARMA, S.; GARLAPATI, V. K. Evaluation of the Ability of Endophytic Fungi from *Cupressus torulosa* to Decolorize Synthetic Textile Dyes. **Journal of Hazardous, Toxic and Radioactive Waste**, v. 25, n. 1, p. 06020005. 2021.

AGUELMOUS, A.; FELS, L. E.; SOUABI, S.; ZAMAMA, M.; YASRI, A.; LEBRIHI, A.; HAFIDI, M. Petroleum sludge bioremediation and its toxicity removal by landfill in gunder semi-arid conditions. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 166, p. 482-487. 2018.

AHMADNEZHAD, Z.; VAEZIHIR, A.; SCHÜTH, C.; ZARRINI, G. Combination of zeolite barrier and bio sparging techniques to enhance efficiency of organic hydrocarbon remediation in a model of shallow groundwater. **Chemosphere**, v. 273, p. 128555. 2021.

AHMED, F.; FAKHRUDDIN, A. A Review on Environmental Contamination of Petroleum Hydrocarbons and its Biodegradation. **International Journal Environmental Sciences and Natural Resources**, v. 11, n.3, p. 1-7. 2018.

AL, J. E. Bioremediation of Petroleum Hydrocarbons Contaminated Soil using Bio piles System. **Baghdad Science Journal**, v. 16, n. 1, p. 0185. 2019.

AL-HAWASH, A. B.; DRAGH, M. A.; LI, S.; ALHUJAILY, A.; ABBOOD, H. A.; ZHANG, X.; MA, F. Principles of microbial degradation of petroleum hydrocarbons in the environment. **Egyptian Journal of Aquatic Research**, v. 44, p. 71-76. 2018.

AL-KINDI, S.; ABED, R. M. M. Effect of Biostimulation Using Sewage Sludge, Soybean Meal, and Wheat Straw on Oil Degradation and Bacterial Community Composition in a Contaminated Desert Soil. **Frontiers of Microbiology**, v. 7, p. 1-14. 2018.

AL-MAAMARI, R. S.; HIRAYAMA, A.; SUEYOSHI, M. N.; ABDALLA, O. A. E.; AL-BEMANI, A. S.; ISLAM, M. R. The Application of Air-sparging, Soil Vapor Extraction and Pump and Treat for Remediation of a Diesel-contaminated Fractured Formation. **Energy Sources, Part A: Recovery, Utilization, and Environmental Effects**, v. 31, n. 11, p. 911-922. 2009.

ALMEIDA, C. V.; YARA, R.; ALMEIDA, M. Fungos endofíticos isolados de ápices caulinares de pupunheira cultivada *in vivo* e *in vitro*. **Pesquisa Agropecuária Brasileira** v. 40, n. 5, p. 467-470. 2005.

AL-ZABAN, M. I.; MAHMOUD, M. A.; ALHARBI, M. A.; BAHATHEQ, A. M. Bioremediation of Crude Oil by Rhizosphere Fungal Isolates in the Presence of Silver Nanoparticles. **International Journal of Environmental Research and Public Health**, v. 17, n. 18, p. 6564. 2020.

ANAND, K.; KUMARI, P.; KUMARI, N.; SINHA, P. B. Microbiological and Physiochemical Characteristics of Some Common Fungal Flora Isolated from Various Petroleum-Contaminated Pump Stations of Hazaribag District, Jharkhand, India. **Innovation in Materials Science and Engineering**, p. 103-113. 2019.

ANDRADE, J. A.; AUGUSTO, F.; JARDIM, I. C. S. F. Biorremediação de solos contaminados por petróleo e seus derivados. **Eclética Química**, v. 35, n. 3, p. 17-43. 2010.

ANEKWE, I. M. S.; ISA, Y. M. Evaluation of the application of wastewater and bioventing system for the treatment of crude oil contaminated soils. **18 th JOHANNESBURG Int'l Conference on Science, Engineering, Technology & Waste Management**, p. 64-68. 2020.

ARELLANO, P.; TANSEY, K.; BALZTER, H.; TELLKAMP, M. Plant Family-Specific Impacts of Petroleum Pollution on Biodiversity and Leaf Chlorophyll Content in the Amazon Rainforest of Ecuador. **PLoS ONE**, v.12, n. 1, p. 1-18. 2017.

ASEMOLOYE, M. D.; AHMAD, R.; JONATHAN, S. G. Synergistic action of rhizospheric fungi with *Megathyrsus maximus* root speeds up hydrocarbon degradation kinetics in oil polluted soil. **Chemosphere**, v. 187, p. 1-10. 2017.

APUL, O. G.; DAHLEN, P.; DELGADO, A. G.; SHARIF, F.; WESTERHOFF, P.; ASCE, M. Treatment of Heavy, Long-Chain Petroleum-Hydrocarbon Impacted Soils Using Chemical Oxidation. **Journal of Environmental Engineering**, p. 04016065. 2016.

BADALI, H.; PRENAFETA-BOLDÚ, F. X.; GUARRO, J.; KLAASSEN, C. H.; MEIS, J. F.; HOOG, G. S. *Cladophialophora psammophila*, a novel species of Chaetothyriales

with a potential use in the bioremediation of volatile aromatic hydrocarbons. **Fungal Biology**, v. 115, n. 10, p. 1019-1029. 2011.

BAPTISTA, S. J.; CAMMAROTA, M. C.; FREIRE, D. D. C. Avaliação da bioestimulação em solos argilosos contaminados com petróleo. In: 2º Congresso brasileiro de P & D em Petróleo & Gás. Jun. Rio de Janeiro, 2003.

BECARELLI, S.; CHICCA, I.; SIRACUSA, G.; CHINA, S. L.; GENTINI, A.; LORENZI, R.; MUNZ, G.; PETRONI, G.; LEVIN, D. B.; GREGORIO, S. D. Hydrocarbonoclastic Ascomycetes to enhance co-composting of total petroleum hydrocarbon (TPH) contaminated dredged sediments and lignocellulosic matrices. **New Biotechnology**, v. 50, p. 27-36. 2019.

BENGUENAB, A.; CHIBANI, A. Biodegradation of petroleum hydrocarbons by filamentous fungi (*Aspergillus ustus* and *Purpureocillium lilacinum*) isolated from used engine oil contaminated soil. **Acta Ecologica Sinica**, p. 1-8. 2020.

BEZZA, F. A.; CHIRWA, E. M. N. Biosurfactant-enhanced bioremediation of aged polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) in creosote contaminated soil. **Chemosphere**, v. 144, p. 635-644. 2016.

BIBI, S.; HUSSAIN, A.; HAMAYUN, M.; RAHMAN, H.; IQBAL, A.; SHAH, M.; IRSHAD, M.; QASIM, M.; ISLAM, B. Bioremediation of hexavalent chromium by endophytic fungi; safe and improved production of *Lactuca sativa* L. **Chemosphere**, v. 211, p. 653-663. 2018.

BLASI, B.; POYNTNER, C.; RUDAVSKY, T.; PRENAFETA-BOLDU, F. X.; DE HOOG, S.; TAFER, H.; STERFLINGER, K. Pathogenic Yet Environmentally Friendly? Black Fungal Candidates for Bioremediation of Pollutants. **Geomicrobiology Journal**, v. 33, n. 3-4, p. 308- 317. 2016.

BLASI, B.; TEFER, H.; KUSTOR, C.; POYNTNER, C.; LOPANDIC, K.; STERFLINGER, K. Genomic and transcriptomic analysis of the toluene degrading black yeasts *Cladophialophora immunda*. **Scientific Reports**, v. 7, p. 11436. 2017.

BOROWIK, A.; WYSZKOWSKA, J.; OSZUST, K. Functional Diversity of Fungal Communities in Soil Contaminated with Diesel Oil. **Frontiers in Microbiology**, v. 8, p. 1862. 2017.

BOROWIK, A.; WYSZKOWSKA, J.; KUCHARSKI, M.; KUCHARSKI, J. Implications of Soil Pollution with Diesel Oil and BP Petroleum with ACTIVE Technology for Soil Health. **International Journal of Environmental Research and Public Health**, v. 16, n. 14, p. 2474. 2019.

BOSCO, F.; CASALE, A.; MAZZARINO, I.; GODIO, A.; RUFFINO, B.; MOLLEA, C.; CHIAMPO, F. Microcosm evaluation of bioaugmentation and biostimulation efficacy on diesel-contaminated soil. **Journal of Chemical Technology & Biotechnology**, v. 95, p. 904-912. 2020.

BROWN, D. M.; OKORO, S.; VAN-GILS, J.; VAN-SPANNING, R.; BONTE, M.; HUTCHINGS, T.; LINDEN, O.; EGBUCHE, U.; BRUUN, K. B.; SMITH, J. W. N. Comparison of landfarming amendments to improve bioremediation of petroleum hydrocarbons in Niger Delta soils. **Science of the Total Environment**, v. 596-597, p. 284-292. 2017.

CARNEIRO, D. A.; GARIGLIO, L. P. A biorremediação como ferramenta para a descontaminação de ambientes terrestres e aquáticos. **Revista Tecer**, v. 3, n. 4, p. 82-95. 2010.

CECI, A.; PINZARI, F.; RUSSO, F.; A. M.; GADD, G. M. Roles of saprotrophic fungi in biodegradation or transformation of organic and inorganic pollutants in co-contaminated sites. **Applied Microbiology and Biotechnology**, v. 103, p. 53-68. 2018.

CHAUDHARY, D. K.; KIM, J. New insights into bioremediation strategies for oil-contaminated soil in cold environments. **International Biodeterioration & Biodegradation**, v. 142, p. 58-72. 2019.

CHAURASIA, P. K.; BHARATI, S. L.; MANI, A. Significances of Fungi in Bioremediation of Contaminated Soil. *New and Future Developments in Microbial Biotechnology and Bioengineering*, p. 281–294. 2019.

CHEN, K. F.; CHANG, Y. C.; CHIOU, W. T. Remediation of diesel-contaminated soil using in situ chemical oxidation (ISCO) and the effects of common oxidants on the indigenous microbial community: a comparison study. **Journal of Chemical Technology & Biotechnology**, v. 91, n. 6, p. 1877-1888. 2015.

CHEN, Y. A.; LIU, P. W. G.; WHANG, L. M.; WU, Y. J.; CHENG, S. S. Effect of soil organic matter on petroleum hydrocarbon degradation in diesel/fuel oil-contaminated soil. **Journal of Bioscience and Bioengineering**, v. 129, n. 5, p. 603-612. 2020.

CHERR, G. N.; FAIRBAIRN, E.; WHITEHEAD, A. Impacts of Petroleum-Derived Pollutants on Fish Development. **Annual Review of Animal Biosciences**, v. 5, n. 1, p. 185-203. 2017.

CHISTÉ, R. C.; COSTA, E. L. N.; MONTEIRO, S. F.; MERCADANTE, A. Z. Carotenoid and phenolic compound profiles of cooked pulps of orange and yellow peach palm fruits (*Bactris gasipaes*) from the Brazilian Amazonia. **Journal of Food Composition and Analysis**, v. 99, p. 103873. 2021

COCARTA, D. M.; DUMITRU, D. M.; PESCIAROLI, L.; FELLI, M.; RADULY, B.; CROGNALE, S. Cultivable Hydrocarbonoclastic Microbial Community from Historically Polluted Soil: Tests for Consortium Development. **Soil and Sediment Contamination**, v. 28, n. 3, p. 334-345. 2019.

COSTA, G. V.; ROCHA, W. C.; FREITAS, A. D. G. Micro-organismos endofíticos encontrados no fruto da pupunheira (*Bactris gasipaes* Kunth) e seu potencial antimicrobiano. **Scientia Amazonia**, v. 8, n. 3, p. 23-27. 2019.

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, p. 104866. 2020.

DAVID, L. K.; BODO, T.; GIMAH, B. G. Petroleum Pollution and Decrease Neuroplasticity in Brain Development of the Ogoni Children in Rivers State, Nigeria. **Journal of Advances in Medicine and Medical Research**, v. 29, n. 11, p. 1-13. 2019.

D'COSTA, A.; SHYAMA, S. K.; KUMAR, M. K. Praveen. Bioaccumulation of trace metals and total petroleum and genotoxicity responses in an edible fish population as indicators of marine pollution. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 142, p. 22-28. 2017.

DELLA-FLORA, I. K.; DUPONT, G. K.; CLERICI, N. J.; SERAFINI, C. G.; HOFFMANN, J. I.; WELTER, N.; PORTA, P. G. D; WEBER, P. F. A review of organic biostimulation technologies for soils contaminated with oil hydrocarbons. **Brazilian Journal of Development**, v. 6, n. 9, p. 72256-72269. 2020.

DELLARETTI, E. M. Preservação de fungos em baixas temperaturas. 2014. Monografia (Graduação em Biosistemas), Universidade Federal São João Del-Rei, Sete Lagoas, 2014. Disponível em: < <https://www.ufsj.edu.br/portal2-repositorio/File/deceb/Dellaretti%202014.pdf>>. Acesso em: 8 agost. 2019.

DENG, Z.; CAO, L. Fungal endophytes and their interactions with plants in phytoremediation: a review. **Chemosphere**, v. 168, p. 1100-1106. 2017.

D'ERRICO, G.; ALOJ, V.; FLEMATTI, G. R.; SIVASITHAMPARAM, K.; WORTH, C. M.; LOMBARDI, N.; RITIENI, A.; MARRA, R.; LORITO, M.; VINALE, F. Metabolites of a *Drechslera* sp. endophyte with potential as biocontrol and bioremediation agent. **Natural Product Research**, p. 1-9. 2020.

Empresa de Pesquisa Energética (EPE). Balanço Energético Nacional – Relatório Síntese/Ano Base 2019. 2020. Disponível em: < [Publicações \(epe.gov.br\)](https://www.epe.gov.br/publicacoes) >. Acesso em: 14 mar. 2021.

Environmental Protection Agency (EPA). **How to Evaluate Alternative Cleanup Technologies for Underground Storage Tank Sites: A Guide for Corrective Action Plan Reviewers**. Chapters II – Soil Vapor Extraction, III – Bioventing, V – Landfarming, IV - Biopiles, VI – Low-Temperature Thermal Desorption, VII – Air Sparging, VIII – Biosparging. 1994. Disponível em: <<https://www.epa.gov>>. Acesso em: 22 mar. 2021.

Environmental Protection Agency (EPA). **How to Evaluate Alternative Cleanup Technologies for Underground Storage Tank Sites: A Guide for Corrective Action Plan Reviewers**. Chapters XIII – Chemical Oxidation, IX – Monitored Natural Attenuation. 2004. Disponível em: <<https://www.epa.gov>>. Acesso em: 24 mar. 2021.

Environmental Protection Agency (EPA). **A Citizen's Guide to In Situ Chemical Oxidation**. 2012. Disponível em: <A Citizen's Guide to in Situ Chemical Oxidation | Technologies for Cleaning Up Contaminated Sites | US EPA>. Acesso em: 15 mar. 2021.

ERRINGTON, I.; KING, C. K.; WILKINS, D.; SPEDDING, T.; HOSE, G. C. Ecosystem effects and the management of petroleum-contaminated soils on subantarctic islands. **Chemosphere**, v. 194, p. 200-210. 2018.

ESSABRI, A. M. A.; AYDINLIK, N. P.; WILLIAMS, N. E. Bioaugmentation and Biostimulation of Total Petroleum Hydrocarbon Degradation in a Petroleum-contaminated Soil with Fungi Isolated from Olive Oil Effluent. **Water, Air and Soil Pollution**, v. 230, p.76. 2019.

EZEKOYE, C. C.; CHIKERE, C. B.; OKPOKWASILI, G. C. Fungal diversity associated with crude oil-impacted soil undergoing in-situ bioremediation. **Sustainable Chemistry and Pharmacy**, v. 10, p. 148-152. 2018.

FRUTOS, F. J. G.; ESCOLANO, O.; GARCÍA, S.; BABÍN, M.; FERNÁNDEZ, M. D. Bioventing remediation and ecotoxicity evaluation of phenanthrene-contaminated soil. **Journal of Hazardous Materials**, v. 183, n. 1-3, p. 806-813. 2010.

GAYLARDE, C. C.; BELLINASSO, M. L.; MANFIO, G. P. Aspectos biológicos e técnicos da biorremediação de xenobióticos. **Biotecnologia Ciência & Desenvolvimento**, n. 34, p. 36-43. 2005.

GERALDO, M. R.; MARANHO, L. T. Imobilização de consórcio de bactérias degradadoras de petróleo obtidas da rizosfera de *Panicum aquaticum* Poir., Poaceae. **Brazilian Journal of Development**, v. 6, n. 7, p. 45816-45830. 2020.

GIELNIK, A.; PECHAUD, Y.; HUGUENOT, D.; CÉBRON, A.; ESPOSITO, G.; VAN HULLEBUSCH, E. D. Bacterial seeding potential of digestate in bioremediation of diesel contaminated soil. **International Biodeterioration & Biodegradation**, v. 143, p. 104715. 2019.

GLUYAS, J. G.; SWARBRICK, R. E. **Petroleum Geoscience**. Oxford: John Wiley & Sons, 2004.

GOLANI, M.; HAJELA, K. Bioremediation of Diesel Oil Contaminated Soil by a Novel Isolated Potential Oil Degrading *Staphylococcus argentus* MG2 Bacteria Using Biostimulation Method. **Nature Environment and Pollution Technology**, v. 19, n. 4, p.1567-1576. 2020.

GOMEZ, F.; SARTAJ, M. Optimization of field scale biopiles for bioremediation of petroleum hydrocarbon contaminated soil at low temperature conditions by response surface methodology (RSM). **International Biodeterioration & Biodegradation**, v. 89, p. 103-109. 2014.



GOSPODAREK, J.; KOLOCZEK, P. P.; RUSIN, M. The effect of soil pollution with petroleum-derived substances on *Porcellio scaber* Latr. (Crustacea, Isopoda). **Environmental Monitoring and Assessment**, v. 191, p. 38. 2019.

GUO, Y.; WEN, Z.; ZHANG, C.; JAKADA, H. Contamination and natural attenuation characteristics of petroleum hydrocarbons in a fractured karst aquifer, North China. **Environmental Science and Pollution Research**, v. 27, n. 18, p. 22780-22794. 2020.

HAMMAMI, H.; ALAIE, E.; DASTGHEIB, S. M. M. The ability of *Silybum marianum* to phytoremediate cadmium and/or diesel oil from the soil. **International Journal of Phytoremediation**, v. 20, n. 8, p. 756-763. 2018.

HATZINGER, P. B.; LIPPINCOTT, D. R. Field demonstration of N-Nitrosodimethylamine (NDMA) treatment in groundwater using propane biosparging. **Water Research**, v. 164, p. 114923. 2019.

HE, W.; MEGHARAJ, M.; WU, C. Y.; SUBASHCHANDRABOSE, S. R.; DAI, C. C. Endophyte-assisted phytoremediation: mechanisms and current application strategies for soil mixed pollutants. **Critical Reviews in Biotechnology**, v. 40, n. 1, p. 31-45. 2019.

HERNÁNDEZ-ADAME, N. M.; LÓPEZ-MIRANDA, J.; MARTÍNEZ-PRADO, M. A.; CUEVA, S. C. D. L.; ROJAS-CONTRERAS, J. A.; MEDRANO-ROLDÁN, H. Increase in Total Petroleum Hydrocarbons Removal Rate in Contaminated Mining Soil Through Bioaugmentation with Autochthonous Fungi During the Slow Bioremediation Stage. **Water, Air and Soil Pollution**, v. 232, p. 95. 2021.

HOOG, G. S.; ZENG, J. S.; HARRAK, M. J.; SUTTON, D. A. *Exophiala xenobiotica* sp. nov., an opportunistic black yeast inhabiting environments rich in hydrocarbons. **Antonie van Leeuwenhoek**, v. 90, n. 3, p. 257-268. 2006.

HUJSLOVÁ, M.; BYSTRIANSKÝ, L.; BENADA, O.; GRYNLER, M. Fungi, a neglected component of acidophilic biofilms: do they have a potential for biotechnology? **Extremophiles**, v. 23, p. 267-275. 2019.

IDE-PÉREZ, M. R.; FERNÁNDEZ-LÓPEZ, M. G.; SÁNCHEZ-REYES, A.; LEIJA, A.; BATISTA-GARCÍA, R. A.; FOLCH-MALLOL, J. L.; SÁNCHEZ-CARBENTE, M. D. R. Aromatic Hydrocarbon Removal by Novel Extremotolerant *Exophiala* and *Rhodotorula* spp. from an Oil Polluted Site in Mexico. **Journal of Fungi**, v. 6, n. 3, p. 135. 2020.

Interstate Technology & Regulatory Council (ITRC). **Phytotechnology Technical and Regulatory Guidance and Decision Trees, Revised**. 2009. Disponível em: <Phytotechnology Technical and Regulatory Guidance and Decision Trees, Revised (itrcweb.org)>. Acesso em: 15 mar. 2021.

ISOLA, D.; SELBMANN, L.; DE HOOG, G. S.; FENICE, M.; ONOFRI, S.; PRENAFETA-BOLDU, F. X.; ZUCCONI, L. Isolation and Screening of Black Fungi as

Degraders of Volatile Aromatic Hydrocarbons. **Mycopathologia**, v. 175, n. 5-6, p. 369-37. 2013.

ISLAM, N. F. Bioprospecting fungal diversity from crude oil infiltrate soil of Assam, India's Northeast. **Tropical Plant Research**, v. 4, n. 1, p. 319-329. 2017.

IZDEBSKA-MUCHA, D.; TRZCIŃSKI, J. Effects of petroleum pollution on clay soil microstructure. **Geologija**, v. 50, n. 3, p. 69–75. 2008.

JABBAR, N. M.; KADHIM, E. H.; MOHAMMED, A. K. Bioremediation of Soil Contaminated with Diesel using Biopile system. **Al-Khwarizmi Engineering Journal**, v. 14, n. 3, p. 48-56. 2018.

JACQUES, R. J. S.; BENTO, F. M.; ANTONIOLLI, Z. I.; CAMARGO, F. A. O. Biodegradação de hidrocarbonetos aromáticos policíclicos. **Ciência e Natura**, v. 29, n. 1, p. 7-24. 2007.

KAO, C. M.; CHEN, C. Y.; CHEN, S. C.; CHIEN, H. Y.; CHEN, Y. L. Application of in situ biosparging to remediate a petroleum-hydrocarbon spill site: field and microbial evaluation. **Chemosphere**, v. 70, n. 8, p. 1492-1499. 2008.

KARIGAR, C. S.; RAO, S. S. Role of Microbial Enzymes in the Bioremediation of Pollutants: A Review. **Enzyme Research**, p. 1–11. 2011.

KHALID, F. E.; LIM, Z. S.; SABRI, S.; GOMEZ-FUENTES, C.; ZULKHARNAIN, A.; AHMAD, S. A. Bioremediation of Diesel Contaminated Marine Water by Bacteria: a review and bibliometric analysis. **Journal of Marine Science and Engineering**, v. 9, n. 2, p. 155. 2021.

KHEIRKHAH, T.; HEJAZI, P.; RAHIMI, A. Effects of utilizing sawdust on non-ligninolytic degradation of high concentration of n-hexadecane by white-rot fungi: kinetic analysis of solid-phase bioremediation. **Environmental Technology & Innovation**, v. 19, p. 100887. 2020.

KOLEVA-VALKOVA, L.; PETROV, V.; HARIZANOVA, A.; MARINKOV, K., SEVOV, A., VASSILEV, A. Microalgae effects on the photosynthetic performance and growth parameters of barley grown on soil contaminated with petroleum products. **Scientific Papers**, v. 63, n. 2, p. 277-283.2020.

KOSHLAF, E.; BALL, A. S. Soil bioremediation approaches for petroleum hydrocarbon polluted environments. **Aims Microbiology**, v. 3, n. 1, p. 25-49. 2017.

KOTTB, M. R.; EL-AGROUDY, N.A.; ALI, A. A. E.; HAMED, M. A.; EL-DIN, H. M. E. Biodegradation of Some Petroleum Hydrocarbons by Fungi Isolated from Gulf of Suez. **Catrina**, v. 18, n. 1, p. 169-175. 2019.

KUMAR, V.; SONI, R.; JAIN, L.; DASH, B.; GOEL, R. Endophytic Fungi: Recent Advances in Identification and Explorations. Springer, 2019.

KWAJI, M. J.; AHMADU, M. O.; AYOADE, B. D.; CYPRIAN, O. I.; IGHODAYE, J. O. O. Bioremediation of Hydrocarbons from Kaduna Refining and Petrochemical Company Effluents Using *Cladosporium*. **Applied Microbiology Open Access**, v. 6, n. 1, p. 1-6. 2020.

LABIANCA, C.; GISI, S.; PICARDI, F.; TODARO, F.; NOTARNICOLA, M. Remediation of a Petroleum Hydrocarbon-Contaminated Site by Soil Vapor Extraction: a full-scale case study. **Applied Sciences**, v. 10, n. 12, p. 4261. 2020.

LEAL, A. J., RODRIGUES, E. M., FERNANDES, R. C. R., BORGES, A. C., JULIO, A. D. L., FREITAS, F.S.; TOTOLA, M. R. Microbial Inoculants Development for Bioremediation of Gasoline and Diesel Contaminated Soil. **Open Access Library Journal**, v. 5, p. e4449. 2018.

LIU, S. H.; ZENG, G. M.; NIU, Q.Y.; LIU, Y.; ZHOU, L., JIANG, L. H.; TAN, X. F.; XU, P.; ZHANG, C.; CHENG, M. Bioremediation mechanisms of combined pollution of PAHs and heavy metals by bacteria and fungi: A mini review. **Bioresource Technology**, v. 224, p. 25–33. 2017.

LOSS, E. M. O.; YU, J. H. Bioremediation and microbial metabolism of benzo(a)pyrene. **Molecular Microbiology**, v. 109, n. 4, p. 433-444. 2018.

LV, H.; SU, X.; WANG, Y.; DAI, Z.; LIU, M. Effectiveness and mechanism of natural attenuation at a petroleum-hydrocarbon contaminated site. **Chemosphere**, v. 206, p. 293-301. 2018.

MAAMAR, A.; LUCCHESI, M. E.; DEBAETS, S.; VAN LONG, N. N.; QUEMENER, M.; COTON, E.; BOUDERBALA, M.; BURGAUD, G.; MATAHALLAH-BOUTIBA, A. Highlighting the Crude Oil Bioremediation Potential of Marine Fungi Isolated from the Port of Oran (Algeria). **Diversity**, v. 12, n. 5, p. 196. 2020.

MANOHARACHARY, C.; KUNWAR, I. K.; RAJITHASRI, A. B. Advances in applied mycology and fungal biotechnology. **Kavaka**, v. 43, p. 79-92. 2014.

MARIĆ, N.; MATIĆ, I.; PAPIĆ, P.; BEŠKOSKI, V. P.; ILIĆ, M.; GOJGIĆ-CVIJOVIĆ, G.; MILETIĆ, S.; NIKIĆ, Z.; VRVIĆ, M. M. Natural attenuation of petroleum hydrocarbons-a study of biodegradation effects in groundwater (Vitanovac, Serbia). **Environmental Monitoring and Assessment**, v. 190, n. 2, p.89. 2018.

MATHEW, R. A.; ABRAHAM, M. Bioremediation of diesel oil in marine environment. **Oil & Gas Science and Technology – Revue D'ifp Energies Nouvelles**, v. 75, p. 60. 2020.

MCKEW, B. A.; COULON, F.; OSBORN, A. M.; TIMMIS, K. N.; MCGENITY, Terry J. Determining the identity and roles of oil-metabolizing marine bacteria from the Thames estuary, UK. **Environmental Microbiology**, v. 9, n. 1, p. 165-176. 2007.

MEJÍA, P. V. L.; ANDREOLI, F. N.; ANDREOLI, C. V.; SERRAT, B. M. Metodologia para Seleção de Técnica de Fitorremediação em Áreas Contaminadas. **Revista Brasileira de Ciências Ambientais**, n. 31, p. 97-104. 2014.

MELO, I. S.; AZEVEDO, J. L. Microbiologia ambiental. Jaguariúna: Embrapa Meio Ambiente, 2008. 647 p.

MESQUITA, L. M. S.; VENTURA, S. P. M.; BRAGA, A. R. C.; PISANI, L. P.; DIAS, Ana C. R. V.; ROSSO, V. V. Ionic liquid-high performance extractive approach to recover carotenoids from *Bactris gasipaes* fruits. **Green Chemistry**, v. 21, n. 9, p. 2380-2391. 2019.

MMOM, P. C.; DEEKOR, T. Assessing the Effectiveness of Land farming in the Remediation of Hydrocarbon Polluted Soils in the Niger Delta, Nigeria. **Research Journal of Applied Sciences, Engineering and Technology**, v. 2, n. 7, p. 654-660. 2010.

MOHAMMADI-SICHANI, M.; MAZAHERI ASSADI, M.; FARAZMAND, A.; KIANIRAD, M.; AHADI, A. M.; HADIAN-GHAHDERIJANI, H. Bioremediation of soil contaminated crude oil by *Agaricomycetes*. **Journal of Environmental Health Science and Engineering**, v. 15, p. 1-6. 2017.

MOHAMMADI-SICHANI, M.; MAZAHERI ASSADI, M.; FARAZMAND, A.; KIANIRAD, M.; AHADI, A. M.; HADIAN-GHAHDERIJANI, H. Ability of *Agaricus bisporus*, *Pleurotus ostreatus* and *Ganoderma lucidum* compost in biodegradation of petroleum hydrocarbon-contaminated soil. **International Journal of Environmental Science and Technology**, v. 16, p. 2313-2320. 2018.

MOSCO, M. J.; ZYTNER, R. G. Large-scale bioventing degradation rates of petroleum hydrocarbons and determination of scale-up factors. **Bioremediation Journal**, v. 21, n. 3-4, p. 149-162. 2017.

NAAMA, J. H.; ALHUSAINY, N. A. Bioremediation of diesel by soil for fungi. **Pakistan Journal of Biotechnology**, v. 15, n.1, p. 321-331. 2018.

NERIAH, A. B.; PASTER, A. Enhancing Groundwater Remediation in Air Sparging by Changing the Pulse Duration. **Groundwater Monitoring & Remediation**, v. 39, n. 1, p. 43-53. 2018.

NERO, B. F. Phytoremediation of petroleum hydrocarbon-contaminated soils with two plant species: *Jatropha curcas* and *Vetiveria zizanioides* at Ghana manganese company ltd. **International Journal of Phytoremediation**, v. 23, n. 2, p. 171-180. 2020.

NETO, P. Q. C. **Isolamento e identificação de fungos endofíticos da pupunha (*Bactris gasipaes* Kunth) e caracterização por marcadores moleculares**. 2002. Dissertação (Mestrado em Genética e Evolução) – Universidade Federal de São Carlos, São Carlos (SP), 2002. Disponível em: <https://repositorio.ufscar.br/handle/ufscar/5450>. Acesso em: 4 abr. 2021.

NEVES, E. J. M.; SANTOS, A. F.; MARTINS, E. G.; RODIGHIERI, H. R.; BELLETTINI, S.; JÚNIOR, C. C. Manejo de Pupunheira (*Bactris gasipaes* Kunth) para Palmito em Áreas sem Restrições Hídricas. Colombo: Circular Técnica, 2004.

NKEREUWEM, M. E.; FAGBOLA, O.; OKON, I. E.; ADELEYE, A. O.; NZAMOUHE, M. Bioremediation potential of mycorrhiza fungi in crude oil contaminated soil planted with *Costus lucanusianus*. **Amazonian Journal of Plant Research**, v. 4, n. 1, p. 441-455. 2020.

NWAICHI, E. O.; CHUKWUERE, C. O.; ABOSI, P.J.; ONUKWURU, G. I. Phytoremediation of Crude Oil Impacted Soil Using Purple Nutsedge. **Journal of Applied Sciences and Environmental Management**, v. 25, n. 3, p. 475-479. 2021.

NWANKWEGU, A. S.; ORJI, M. U.; ONWOSI, C. O. Studies on organic and inorganic biostimulants in bioremediation of diesel-contaminated arable soil. **Chemosphere**, v. 162, p. 148-156. 2016.

NWANKWEGU, A. S.; ONWOSI, C. O. Bioremediation of gasoline contaminated agricultural soil by bioaugmentation. **Environmental Technology & Innovation**, v. 7, p. 1-11. 2017.

OBI, L.; ATAGANA, H.; ADELEKE, R.; MAILA, M.; BAMUZA-PEMU, E. Potential microbial drivers of biodegradation of polycyclic aromatic hydrocarbons in crude oil sludge using a composting technique. **Journal of Chemical Technology & Biotechnology**, v. 95, n. 5, p. 1569-1579. 2020.

OBUKOHWO, K.; VANTSAWA, P. A.; DIBAL, D. M.; IJAH, U. J. J.; ONWUMERE, G. B.; NDIBE, T. O. Screening of Fungi Isolates from Kaduna Refinery Effluent and Romi River and Their Potential for Bioremediation. **Journal of Applied Sciences and Environmental Management**, v. 24, n. 9, p. 1655-1662. 2020.

OJO, B. O. I.; SRIDHAR, M. K. C. Phytoremediation potential of *Nauclea diderrichii* (De Wild and Th. Dur.) seedlings grown in spent engine oil contaminated soil. **Bangladesh Journal of Scientific and Industrial Research**, v. 55, n. 4, p. 261-272. 2020.

OKONOFUA, E. S.; LASISI, K. H.; ATIKPO, E. Factorial design study of total petroleum contaminated soil treatment using land farming technique. **Sustainable Environment Research**, v. 31, n. 5, p. 1-13. 2021.

OLIVIA, L. C.; MINERVA, G. C.; ROCÍO, P. J.; JOSÉ, M. P. F. Assessment of biopiles treatment on polluted soils by the use of *Eisenia andrei* bioassay. **Environmental Pollution**, v. 275, p. 116642. 2021.

OMOSIOWHO, U. E. Comparative analysis of composting and landfarming as bioremediation techniques in hydrocarbon degradation. **International Journal of Science**, v. 3, n. 6, p. 1977-1995. 2014.

OYIBO, J. N.; WEGWU, M. O.; UWAKWE, A. A.; OSUOHA, J. O. Analysis of total petroleum hydrocarbons, polycyclic aromatic hydrocarbons and risk assessment of heavy metals in some selected finfishes at Forcados Terminal, Delta State, Nigeria. **Environmental Nanotechnology, Monitoring & Management**, v. 9, p. 128-135. 2018.

PARK, G.; SHIN, H. S.; KO, S. O. A Laboratory and Pilot Study of Thermally Enhanced Soil Vapor Extraction Method for the Removal of Semi-Volatile Organic Contaminants. **Journal of Environmental Science and Health, Part A**, v. 40, n. 4, p. 881-897. 2005.

PIETRO-SOUZA, W.; PEREIRA, F. C.; MELLO, I. S.; STACHACK, F. F. F.; TEREZO, A. J.; CUNHA, C. N.; WHITE, J. F.; LI, H.; SOARES, M. A. Mercury resistance and bioremediation mediated by endophytic fungi. **Chemosphere**, v. 240, p. 124874. 2020.

PILON-SMITS, E. PHYTOREMEDIATION. **Annual Review of Plant Biology**, v. 56, n. 1, p. 15-39. 2005.

POYNTNER, C.; BLASI, B.; PRENAFETA, F.; STERFLINGER, K. Screening of extremotolerant fungi for the bioremediation of hydrocarbon contaminated sites. **Geophysical Research Abstracts**, v. 17. 2015.

PRENAFETA-BOLDÚ, F. X.; BALLERSTEDT, H.; GERRITSE, J.; GROTENHUIS, J. T. C. Bioremediation of BTEX hydrocarbons: Effect of soil inoculation with the toluene-growing fungus *Cladophialophora* sp. strain T1. **Biodegradation**, v. 15, p. 59-65. 2004.

PRENAFETA-BOLDU, F. X.; ROCA, N.; VILLATORO, C.; VERA, L.; DE HOOG, G. S. Prospective application of melanized fungi for the biofiltration of indoor air in closed bioregenerative systems. **Journal of Hazardous Materials**, v. 361, p. 1-9. 2018.

RADWAN, O.; RUIZ, O. N. Black Yeasts Genomes Assembled from Plastic Fabric Metagenomes Reveal an Abundance of Hydrocarbon Degradation Genes. **Microbiology Resource Announcements**, v. 10, n. 14. 2021.

ROMERO-SILVA, R.; SÁNCHEZ-REYES, A.; DÍAZ-RODRÍGUEZ, Y.; BATISTA-GARCÍA, R. A.; HERNÁNDEZ-HERNÁNDEZ, D.; ROBLES, J. T. Bioremediation of soils contaminated with petroleum solid wastes and drill cuttings *Pleurotus* sp. strains under different treatment scales. **BioRxiv**. 2019.

ROY, A.; DUTTA, A.; PAL, S.; GUPTA, A.; SARKAR, J.; CHATTERJEE, A.; SAHA, A.; SARKAR, P.; SAR, P.; KAZY, S. K. Biostimulation and bioaugmentation of native microbial community accelerated bioremediation of oil refinery sludge. **Bioresource Technology**, v. 253, p. 22-32. 2018.

SAWANT, A.; RODRIGUES, B. F. Biodegradation of residual petroleum hydrocarbons by using fungal endophytes from the mangrove ecosystem. **Journal of Advanced Scientific Research**, v. 11, n. 4, p. 257-264. 2020.

SCHULZ, B.; BOYLE, C.; DRAEGER, S.; RÖMMERT, A. K.; KROHN, K. Endophytic fungi: a source of novel biologically active secondary metabolites. **Mycological Research**, v. 106, n. 9, p. 996-1004. 2002.

SEYEDMOUSAVI, S.; BADALI, H.; CHLEBICKI, A.; ZHAO, J.; PRENAFETA-BOLDU, F. X.; DE HOOG, G. S. *Exophiala sideris*, a novel black yeast isolated from environments polluted with toxic alkyl benzenes and arsenic. **Fungal Biology**, v. 115, n. 10, p. 1030-1037. 2011.

SILVA, E. M.; PESO-AGUIAR, M. C.; NAVARRO, M. F. T.; CHASTINET, C. B. A. Impact of petroleum pollution on aquatic coastal ecosystems in Brazil. **Environmental Toxicology and Chemistry**, v. 16, n. 1, p. 112-118. 1997.

SRIVASTAVA, S.; KUMAR, M. Biodegradation of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons (PAHs): A Sustainable Approach. **Sustainable Green Technologies for Environmental Management**, p. 111-139. 2019.

SOLDI, E.; CASEY, C.; MURPHY, B. R.; HODKINSON, T. R. Fungal Endophytes for Grass Based Bioremediation: an endophytic consortium isolated from *agrostis stolonifera* stimulates the growth of *Festuca arundinacea* in lead contaminated soil. **Journal of Fungi**, v. 6, n. 4, p. 254. 2020.

STELIGA, T.; KLUK, D. Application of *Festuca arundinacea* in phytoremediation of soils contaminated with Pb, Ni, Cd and petroleum hydrocarbons. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 194, p. 110409. 2020.

STERFLINGER, K. Black Yeasts and Meristematic Fungi: Ecology, Diversity and Identification. Springer, 2006.

STOKES, C. E. **Effects of *in-situ* biosparging on pentachlorophenol (PCP) degradation and bacterial communities in PCP**. 2011. Tese (Doutorado em Recursos Florestais – Departamento de Produtos Florestais, Universidade Estadual do Mississippi (Mississippi), 2011. Disponível em: <https://ir.library.msstate.edu/handle/11668/17839>. Acesso em: 15 abr. 2021.

STONE, J. K.; POLISHOOK, J. D.; WHITE, J. F. Biodiversity of Fungi: Endophytic Fungi. Elsevier Academic press, 2004.

STROBEL, G.; DAISY, B. Bioprospecting for Microbial Endophytes and Their Natural Products. **Microbiology and Molecular Biology Reviews**, v. 67, n. 4, p. 491-502. 2003.

SUN, S.; SHI, W.; TANG, Y.; HAN, Y.; DU, X.; ZHOU, W.; HU, Y.; ZHOU, C.; LIU, G. Immunotoxicity of petroleum hydrocarbons and microplastics alone or in combination to a bivalve species: synergic impacts and potential toxication mechanisms. **Science of the Total Environment**, v. 728, p. 138852. 2020.

SURYANARAYANAN, T. S.; THIRUNAVUKKARASU, N.; GOVINDARAJULU, M. B.; SASSE, F.; JANSEN, R.; MURALI, T. S. Fungal endophytes and bioprospecting. **British Mycological Society**, v. 23, p. 9-19. 2009.

TOLMASQUIM, M. T.; GUERREIRO, A.; GORINI, R. Matriz Energética Brasileira. **Novos Estudos**, v. 79, p. 47-69. 2007.

TURNER, N. R.; RENEGAR, D. A. Petroleum hydrocarbon toxicity to corals: a review. **Marine Pollution Bulletin**, v. 119, n. 2, p. 1-16. 2017.

USMAN, M.; FAURE, P.; HANNA, K.; ABDELMOULA, M.; RUBY, C. Application of magnetite catalyzed chemical oxidation (Fenton-like and persulfate) for the remediation of oil hydrocarbon contamination. **Fuel**, v. 96, p. 270-276. 2012.

VIRK, V.; DEEPAK, H.; TANEJA, K. Endophytic Fungi: Futuristic tool for bioremediation. **Journal of Natural Remedies**, v. 21, n. 12, p. 20-34. 2021.

VOGLMAYR, H.; MAYER, V.; MASCHWITZ, U.; MOOG, J.; DJIETO-LORDON, C.; BLATRIX, R. The diversity of ant-associated black yeasts: insights into a newly discovered world of symbiotic interactions. **Fungal Biology**, v. 115, n. 10, p. 1077-1091. 2011.

WANG, Y.; FENG, G.; LI, H.; DU, L.; ZENG, D. Biodegradation of 4-chloro-2-methylphenoxyacetic acid by endophytic fungus *Phomopsis* sp. in liquid medium and soil. **Applied Ecology and Environmental Research**, v. 19, n. 2, p. 1295-1307. 2021.

WEI, Y.; HAN, J.; WANG, Y.; WANG, H.; SUN, Y.; YAN, B. Effects of Oil Pollution on Water Movement in Soils with Different Textures. **Water, Air and Soil Pollution**, v. 231, p. 148. 2020.

WIEDEMEIER, T. H.; RIFAI, H. S.; NEWELL, C. J.; WILSON, J. T. Natural Attenuation of Fuels and Chlorinated Solvents in the Subsurface. John Wiley & Sons Ltda. 1999.

WYSZKOWSKI, M.; WYSZKOWSKA, J.; BOROWIK, A.; KORDALA, N. Contamination of Soil with Diesel Oil, Application of Sewage Sludge and Content of Macroelements in Oats. **Water, Air and Soil Pollution**, v. 231, p. 546. 2020.

XIANAGANG, M.; IYOBOSA, E.; JUN, N. H.; FANG, S.; ZHENNAN, W. Biodegradation of petroleum hydrocarbon polluted soil. **Indian Journal Of Microbiology Research**, v. 7, n. 2, p. 104-112. 2020.

XIAO, M.; ZYTNER, R. G. The effect of age on petroleum hydrocarbon contaminants in soil for bioventing remediation. **Bioremediation Journal**, v. 23, n. 4, p. 311-325. 2019.

XU, J.; PANCRAS, T.; GROTENHUIS, T. Chemical oxidation of cable insulating oil contaminated soil. **Chemosphere**, v. 84, n. 2, p. 272-277. 2011.

YAKOP, F.; TAHA, H.; SHIVANAND, P. Isolation of fungi from various habitats and their possible bioremediation. **Current Science**, v. 116, n.5, p. 733-740. 2019.

YANG, Y.; LI, J.; XI, B.; WANG, Y.; TANG, J.; WANG, Y.; ZHAO, C. Modeling BTEX migration with soil vapor extraction remediation under low-temperature conditions. **Journal of Environmental Management**, v. 203, p. 114-122. 2017.



YAO, M.; BAI, J.; CHANG, Y.; QIN, C.; LI, F.; YANG, X.; ZHAO, Y. Effects of air flowrate distribution and benzene removal in heterogeneous porous media during air sparging remediation. **Journal of Hazardous Materials**, v. 398, p. 122866. 2020.

YU, Y.; LIU, L.; YANG, C.; KANG, W.; YAN, Z.; ZHU, Y.; WANG, J.; ZHANG, H. Removal kinetics of petroleum hydrocarbons from low-permeable soil by sand mixing and thermal enhancement of soil vapor extraction. **Chemosphere**, v. 236, p. 124319. 2019.

ZAFRA, G.; ABSALÓN, Á. E.; CUEVAS, M. D. C.; CORTÉS-ESPINOSA, D. V. Isolation and Selection of a Highly Tolerant Microbial Consortium with Potential for PAH Biodegradation from Heavy Crude Oil-Contaminated Soils. **Water, Air, & Soil Pollution**, v. 225, n. 2. 2014.

ZHANG, C.; SIRIJOVSKI, N.; ADLER, L.; FERRARI, B. C. *Exophiala macquariensis* sp. nov., a cold adapted black yeast species recovered from a hydrocarbon contaminated sub-Antarctic soil. **Fungal Biology**, v. 123, p. 151-158. 2018.

ZHANG, B.; GUO, Y.; HUO, J.; XIE, H.; XU, C.; LIANG, S. Combining chemical oxidation and bioremediation for petroleum polluted soil remediation by BC-nZVI activated persulfate. **Chemical Engineering Journal**, v. 382, p. 123055. 2020a.

ZUO, Lei. Bioremediation of Crude-Oil Polluted Soil Using Immobilized Microbes. **Iop Conference Series: Earth and Environmental Science**, v. 510, p. 042047. 2020.

**CAPÍTULO II: POTENCIAL DE FUNGOS ENDOFÍTICOS PARA  
BIORREMEDIAÇÃO DE ÓLEO DIESEL**

## Potencial de fungos endofíticos para biorremediação do óleo diesel

Marlon Roger Geraldo<sup>1</sup>; Renata Rodrigues Gomes<sup>1</sup>; Gabriela Xavier Schneider<sup>1</sup>;  
Guilherme Reis<sup>2</sup>; Morgana Voidaleski<sup>1</sup>; Bruna Jacomel Favoreto de Souza Lima<sup>1</sup>;  
Vânia Aparecida Vicente<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>Programa de Pós-Graduação em Microbiologia, Parasitologia e Patologia; Setor de Ciências Biológicas, Departamento de Patologia Básica; Universidade Federal do Paraná, Curitiba, Brasil.

<sup>2</sup>Programa de Pós-Graduação em Engenharia de Bioprocessos e Biotecnologia; Universidade Federal do Paraná, Curitiba, Brasil.

### 1 RESUMO

O petróleo, recurso natural não renovável, é constituído principalmente por hidrocarbonetos. O petróleo e derivados apresentam grande importância para a matriz energética mundial e sua produção aumentou nos últimos anos, no qual o setor de transportes teve maior consumo energético, com a produção de óleo diesel e gasolina. Contudo, devido a acidentes no processo de extração, refino, transporte e armazenamento, associados com o petróleo e derivados, evidencia-se a contaminação do ar, água e solo. Neste contexto, é fundamental a aplicação de técnicas de tratamento para reduzir o quadro de contaminação. A biorremediação, baseada na utilização de micro-organismos e plantas, é uma técnica de tratamento biológica, eficaz e de baixo custo. Portanto, o objetivo dessa pesquisa foi avaliar o potencial de fungos endofíticos de *Bactris gasipaes* (Arecaceae) para a biodegradação de óleo diesel. Uma triagem foi realizada com 42 endófitos, destes, quatro fungos foram selecionados com base no seu perfil enzimático (atividade para enzimas lacases e fenoloxidasas). Para os testes de biodegradação, cada fungo foi inoculado em meio mineral utilizando óleo diesel como única fonte de carbono, e colocados em shaker a 120 rpm a 28°C por 14 dias. Os resultados demonstraram crescimento das quatro linhagens fúngicas e a redução do pH do meio. A produção de biomassa e de ácidos orgânicos (responsável pela acidificação do meio) são fatores estritamente associados com o processo de biodegradação. As espécies *Trichoderma* sp. (CMRP 3925) e *Fusarium* sp. (CMRP 3920) foram as mais promissoras, apresentando eficácia de 67,19% e 61,61% após 14 dias. Por isso, estas espécies de fungos podem ser aplicadas em técnicas biorremediadoras para promover a descontaminação ambiental por óleo diesel.

**Palavras-chave:** Biorremediação. Fungos. Endófitos. Contaminação. Óleo diesel.

### 2 ABSTRACT

Petroleum, a non-renewable natural resource, consists mainly of hydrocarbons. Petroleum and derivatives are of great importance for the world energy matrix and its

production has increased over the years, in which the transport sector had greater energy consumption, with the production of diesel and gasoline. However, due to accidents in the extraction, refining, transportation, and storage process, associated with oil and oil products, air, water and soil contamination is evident. In this context, it is essential to apply treatment techniques to reduce the level of contamination. Bioremediation, based on the use of microorganisms and plants, is an inexpensive, effective and biological treatment technique. Therefore, the aim of this research was to evaluate the potential of endophytic fungi of *Bactris gasipaes* (Arecaceae) for biodegradation of diesel oil. A screening was carried out with 42 endophytes, of which, four fungi were selected based on their enzymatic profile (activity for laccase enzymes and phenoloxidases). For the biodegradation tests, each fungus was inoculated in a mineral medium using diesel oil as the only carbon source, and in a shaker at 120 rpm at 28 °C for 14 days. The results showed growth of the four fungal strains and a reduction in the pH of the medium. The production of biomass and organic acids (responsible for acidification of the medium) are factors strictly associated with the biodegradation process. The species *Trichoderma* sp. (CMRP 3925) and *Fusarium* sp. (CMRP 3920) were the most promising, showing efficacy of 67,19% and 61,61% after 14 days. So they can be applied in bioremediation techniques to promote environmental decontamination by diesel oil.

**Keywords:** Bioremediation. Fungi. Endophytes. Contamination. Diesel oil.

### 3 INTRODUÇÃO

O petróleo, constituído principalmente por hidrocarbonetos, apresenta importância econômica mundial, sendo uma das fontes energéticas mais exploradas (GERALDO; MARANHO, 2020; MARTINS et al., 2015). Contudo, devido ao crescimento populacional e com aumento da demanda mundial, atividades antrópicas exemplificadas pela extração, produção, transporte e armazenamento do petróleo, podem ocasionar impactos ambientais negativos (FAYIGA; IPINMOROTI; CHIRENJE, 2018; OSTOVAR et al., 2020; ZAHED et al., 2021). Os hidrocarbonetos de petróleo, como alcanos, hidrocarbonetos aromáticos, asfaltenos e outros compostos orgânicos, causam a poluição do solo, água e ar (TADROS, 2020; ZHANG et al., 2020b). A contaminação dos ecossistemas, conseqüentemente, compromete a saúde humana, prejudica o desenvolvimento de plantas e causa efeitos tóxicos à fauna (BAMGBOSE; ANDERSON, 2020; ODIYI et al., 2020; MOSTAFA et al., 2021; TADROS, 2020; ZAHED et al., 2021).

Neste contexto, é fundamental a aplicação de técnicas de tratamento que promovam a descontaminação e reduzam os impactos ambientais devido a poluição por petroderivados. A biorremediação é uma técnica promissora, segura e de baixo custo, no qual organismos vivos (micro-organismos e plantas) são utilizados para

biodegradação de poluentes (CUI et al., 2020; GERALDO; MARANHO, 2020; ZAHED et al., 2021). Estes organismos podem ser empregados na biorremediação, pois produzem enzimas (lacases, hidrolases, oxigenases, peroxidases, entre outras) responsáveis pela conversão de poluentes em produtos não nocivos ao ambiente (BEHBUDI; YOUSEFI; SADEGHIPOUR, 2021; MASALU, 2016; SHOME, 2020). A hipótese da presente pesquisa afirma que fungos endofíticos de *Bactris gasipaes* Kunth (Arecaceae) apresentam potencial biorremediador e podem ser aplicados em técnicas para descontaminação ambiental por óleo diesel.

A pupunheira (*B. gasipaes*), planta com maior ocorrência na Amazônia, tem grande importância econômica em virtude do consumo dos seus frutos e caule (COSTA; ROCHA; FREITAS, 2019; FERREIRA, 2005). Segundo Oliveira et al. (2015), os micro-organismos colonizam uma variedade de espécies de plantas e produzem substâncias para aplicação biotecnológica. Por isso, a identificação de fungos endofíticos e a descoberta da sua aplicabilidade biotecnológica é fundamental, considerando os diversos impactos negativos em consequência da poluição, que ocasionam o desequilíbrio ecológico. À vista disso, a avaliação do potencial microbiano para biorremediação é indispensável. Dessa forma, é possível aumentar a eficácia para descontaminação ambiental em um menor intervalo de tempo.

Sendo assim, o principal objetivo deste trabalho foi avaliar o potencial de fungos endofíticos de *B. gasipaes* para a biodegradação de óleo diesel, visando selecionar e identificar espécies endofíticas biorremediadoras a partir do seu perfil enzimático e avaliar a eficácia do processo de biodegradação de óleo diesel pelas espécies selecionadas.

## **4 MATERIAL E MÉTODOS**

### **4.1 ISOLADOS FÚNGICOS**

As mudas de *B. gasipaes* foram cultivadas *in vitro* no estado de São Paulo, Brasil. Os isolados fúngicos foram obtidos a partir das folhas, caule, raiz e sementes de *B. gasipaes* e do solo utilizado posteriormente para cultivo. Os 42 isolados foram devidamente depositados no Centro de Coleções Microbiológicas da Rede Paranaense CMRP/Taxonline (<https://www.cmrp-taxonline.com>), localizado no

departamento de Patologia Básica do Setor de Ciências Biológicas da Universidade Federal do Paraná (UFPR), Curitiba, Brasil.

## 4.2 SCREENING DOS ISOLADOS FÚNGICOS

Para o *screening* dos isolados fúngicos com relação ao potencial de degradação, foram realizados testes de atividade enzimática (lacases e fenoloxidasas) em triplicata. Inicialmente os isolados foram cultivados por 7 dias em meio BDA a 28 °C. Posteriormente, os fungos foram inoculados em meios seletivos diferenciais e foram incubados por 14 dias a 28 °C (adaptado de NASCIMENTO, 2013).

### 4.2.1 Atividade de lacases

Os fungos foram inoculados em meio mineral (0,5 g/L  $K_2HPO_4$ , 4,5 g/L  $KH_2PO_4$ , 2 g/L  $NH_4Cl$ , 0,1 g/L  $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ , 15 g/L de ágar, pH 7) com 0,01 % extrato de levedura (adaptado de NASCIMENTO, 2017). Acrescido de 0,2% de guaiacol e 0,01% de farelo de trigo, em triplicata, conforme metodologia (adaptada) proposta por Viswanath (2008). A observação de um halo com coloração marrom escuro ao redor da colônia indica a positividade do teste.

### 4.2.2 Atividade de fenoloxidasas

Os fungos foram inoculados em meio Ágar Extrato de Malte contendo ácido tânico 0,5%, em triplicata, conforme metodologia proposta por Pointing (1999). A observação de um halo com coloração marrom ao redor da colônia indica a positividade do teste.

## 4.3 IDENTIFICAÇÃO MOLECULAR

### 4.3.1 Extração de DNA

A extração de DNA dos isolados duplo positivos (atividade para lacases e fenoloxidasas) foi realizada seguindo o protocolo descrito por Vicente et al. (2008).

Os isolados foram cultivados em meio BDA por 7 dias a 28 °C e aproximadamente 1 cm<sup>2</sup> da cultura foi transferida para microtubos (tipo *Eppendorf*) de 1,5 mL, contendo sílica: cillite (2:1) e 300 µL de CTAB 10%. Foi realizada a maceração com auxílio de pistilos para microtubos, até formar uma mistura homogênea, e novamente 300 µL de CTAB 10% foram adicionados. Os microtubos eram colocados em banho-maria a 65 °C por 40 minutos. Posteriormente, foram adicionados 500 µL de CIA (24:1, clorofórmio e álcool isoamílico), realizada a centrifugação a 10000 rpm por 10 minutos e o sobrenadante foi transferido para um novo microtubo (tipo *Eppendorf*) de 1,5 mL (essa etapa foi repetida uma vez). Um total de 800 µL de etanol 96% gelado foram adicionados e as amostras colocadas em freezer (-6 °C) *overnight*. Depois, foi novamente realizada a centrifugação a 10000 rpm por 10 minutos, o sobrenadante descartado, adicionados 500 µL de etanol 70% gelado e feita a centrifugação nas mesmas condições citadas previamente. O sobrenadante foi descartado e para total evaporação do álcool o DNA foi colocado em estufa por aproximadamente 30 min. Após, foi realizada a ressuspensão do *pellet* com adição de um volume de 100 µL de água ultrapura, deixado em *overnight* à temperatura ambiente e as amostras foram armazenadas em *freezer*. O DNA foi quantificado por espectrofotometria em Nanodrop® e sua integridade foi verificada por meio de eletroforese em gel de agarose 0,8% (VOIDALESKI, 2018).

#### 4.3.2 Sequenciamento e análise filogenética

O DNA extraído foi amplificado a partir da região ITS1-5.8S rDNA-ITS2 por meio de PCR, no qual foi preparado um *mix* contendo um volume de 6,3 µL de água ultrapura; 1,25 µL de tampão; 1,25 µL (0,26 mM) da solução de desóxirribonucleotídeos (DNTPs); 0,5 µL (2 mM) de cloreto de magnésio (MgCl<sub>2</sub>); 0,5 µL (0,8 µM) de cada oligonucleotídeo iniciador (ITS1 e ITS4 - sentido 5' 3' e 3' 5'); 0,2 µL (1U/reacção) de Taq DNA polimerase e um volume de 1 µL (20 ng/µL) de DNA. Para a reacção de sequenciamento foi utilizado um volume de 0,75 µL de *BigDye*; 0,75 µL de tampão (*BigDye*); 5,5 µL de água ultrapura; 1 µL de oligonucleotídeo iniciador (ITS1 e ITS4) e 2 µL de produto de amplificação, para cada reacção (adaptado de GOMES et al., 2016). O sequenciamento foi feito em sequenciador ABI3730 (*Applied Biosystems*). As sequências foram editadas no programa *BioEdit*, alinhadas no programa MAFFT 7 e as árvores foram construídas

no programa MEGA 7 por meio da análise de Máxima Verossimilhança (KATOH; TOH, 2008; KUMAR; STECHER; TAMURA, 2016).

#### 4.4 TESTES DE BIODEGRADAÇÃO DAS LINHAGENS FÚNGICAS *IN VITRO*

O potencial de degradação de petroderivados das espécies estritamente ambientais isoladas de *B. gasipaes* foi avaliado. Para o estabelecimento dos experimentos, foram preparados frascos de Erlenmeyer de volume de 250 mL para os intervalos de 0, 7 e 14 dias em triplicata. Em cada frasco foram colocados 50 mL de meio mineral Bushnell-Haas (1 g de  $\text{KH}_2\text{PO}_4$ , 1 g de  $\text{K}_2\text{HPO}_4$ , 1 g de  $\text{NH}_4\text{NO}_3$ , 0,2 g de  $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ , 0,05 g de  $\text{FeCl}_3$ , 0,02 g de  $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ ), para 1000 mL de água destilada (SOUZA, 2010), contendo 2% de óleo diesel comercial (mineral) como única fonte de carbono e 3 discos da colônia fúngica com aproximadamente 10 mm de diâmetro (adaptado de SOUZA et al., 2005). As repetições foram mantidas sob agitação de 120 rpm a 28 °C em shaker (adaptado de SOUZA et al., 2005).

Para verificar a degradação do óleo diesel, também foi adicionado 1 g/L de indicador redox 2,6-diclorofenol indofenol (DCPIP) nos frascos de Erlenmeyers. A técnica baseia-se na mudança de coloração do DCPIP de azul (oxidado) para incolor (reduzido), devido a este indicador serceptor de elétrons provenientes da degradação de hidrocarbonetos do óleo diesel (adaptado de HANSON et al., 1993; MARIANO et al., 2008). Para avaliar a concentração de DCPIP foi realizada uma reta padrão, com equação  $[\text{DCPIP}] = (\text{Absorbância}_{655\text{nm}}/0,0106) - 0,1526$  e  $R^2 = 0,9845$ . Um volume de 200  $\mu\text{L}$  de cada amostra foi adicionado em microplacas e as leituras foram realizadas em espectrofotômetro de placa no comprimento de onda de 655 nanômetros (adaptado de OLIVEIRA et al., 2014). Após cada intervalo de tempo determinado, foram realizadas análises de biomassa úmida e pH, respectivamente, por meio da utilização de uma balança analítica e pHâmetro (adaptado de POSTEN; COONEY, 1981).

#### 4.5 ANÁLISES ESTATÍSTICAS

Os dados obtidos foram tabulados em programa Microsoft Office Excel 2016 e, posteriormente, foram calculados os valores de média, desvio padrão e realizadas análises estatísticas, utilizando programa BioEstat versão 5.3. Para análise da



distribuição dos dados (normalidade) foi aplicado o teste de Shapiro-Wilk (GERALDO; MARANHO, 2018).

Para os dados com distribuição normal foi utilizado o teste de ANOVA (método de Tukey) e, para dados com distribuição anormal foi aplicado o teste de Kruskal-Wallis (método de Dunn), considerando significância de 0,05 ( $p \leq 0,05$ ) em ambos os testes (GERALDO; MARANHO, 2018).

## 5 RESULTADOS

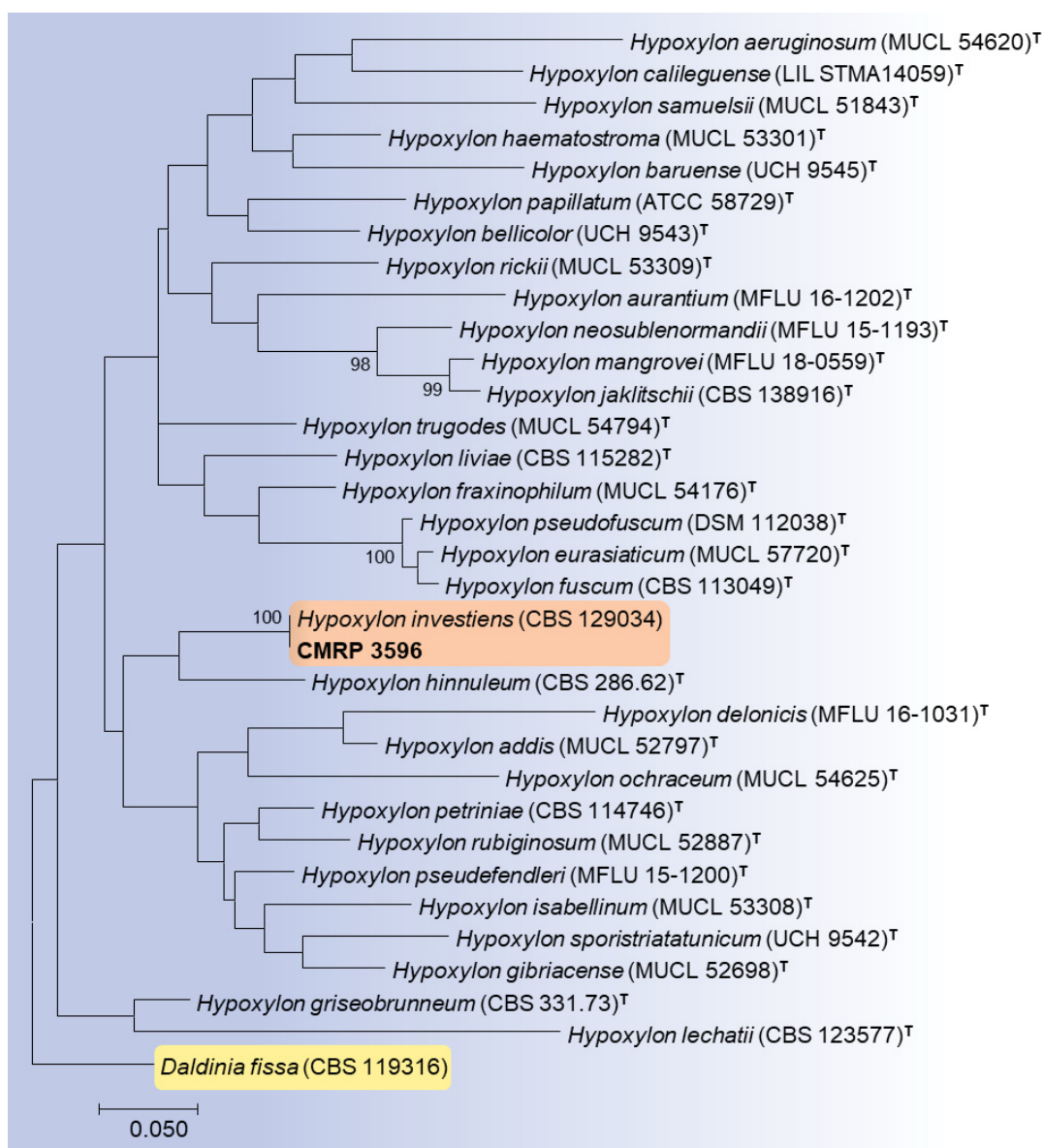
Para seleção dos fungos potencialmente biorremediadores foi realizada uma seleção a partir de um total de 42 isolados endofíticos de *B. gasipaes* com base no perfil enzimático (Anexo 1). Os isolados que apresentaram atividade para as enzimas lacase e fenoloxidase (duplo-positivos) foram submetidos a testes de biodegradação de óleo diesel.

Com relação à atividade enzimática, 9,52% dos fungos apresentaram produção de ambas as enzimas (lacase e fenoloxidase), sendo estes *Hypoxyylon investiens* (CMRP 3596), *Fusarium* sp. (CMRP 3920), *Trichoderma* sp. (CMRP 3923) e *Trichoderma* sp. (CMRP 3925). Além disso, 19,04% dos fungos (CMRP 3613, 3590, 3595, 3921, 3592, 3589, 3913 e 3915) apresentaram atividade apenas para a enzima lacase e 11,9% dos fungos (CMRP 3608, 3924, 3601, 3914 e 3927) apresentaram atividade apenas para a enzima fenoloxidase. Do total avaliado, 59,52% dos fungos (CMRP 3626, 3593, 3598, 3611, 3597, 3918, 3587, 3600, 3603, 3922, 3607, 3594, 3606, 3602, 3586, 3585, 3588, 3591, 3599, 3604, 3605, 3609, 3610, 3612 e 3616) não apresentaram atividade enzimática para lacases e fenoloxidases.

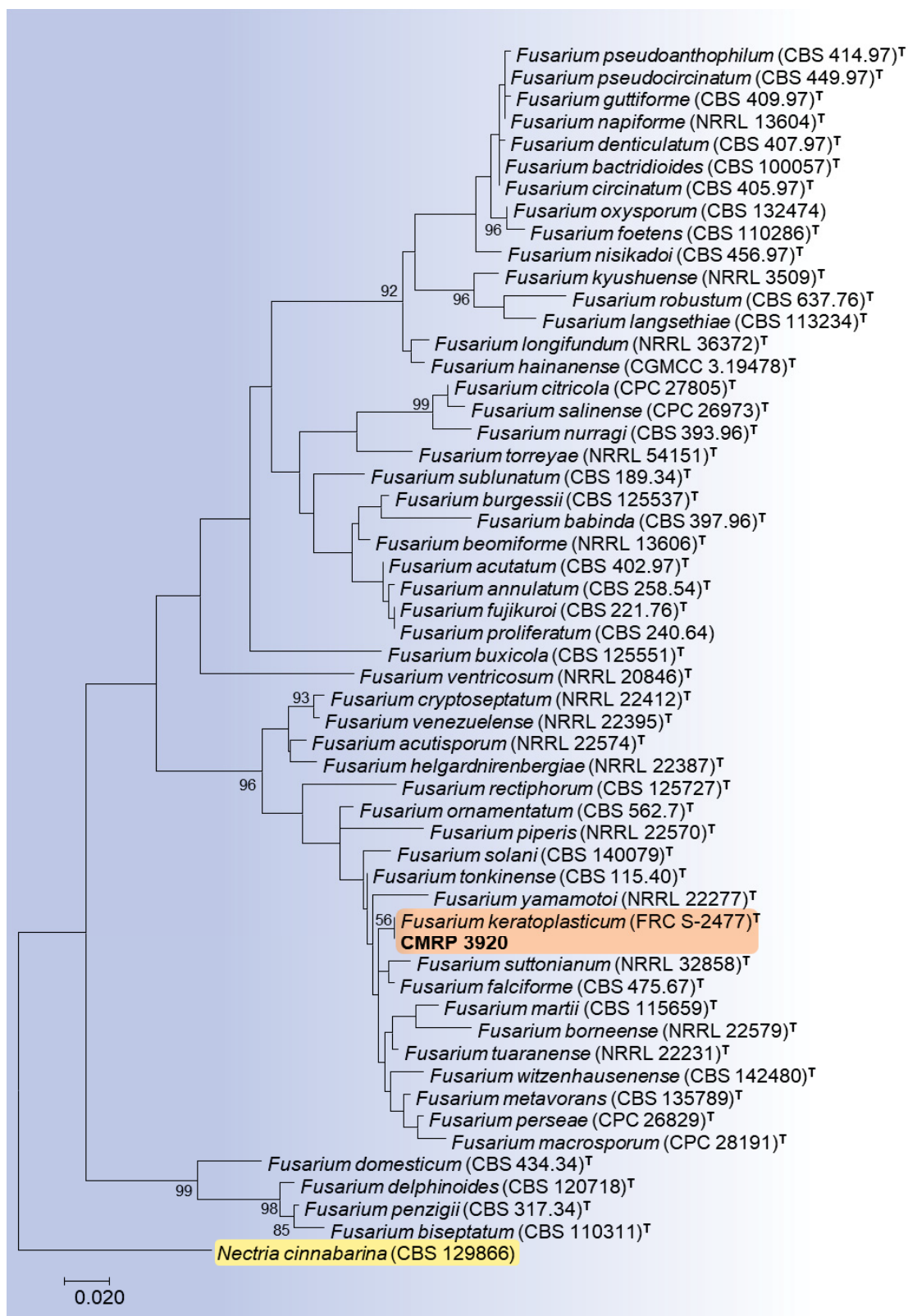
Para a identificação destes fungos (duplo-positivos) foi utilizado o sequenciamento da região ITS1-5,8S-ITS2 do DNA ribossomal. À vista disso, quatro linhagens fúngicas foram selecionadas, dos gêneros *Trichoderma* sp., *Hypoxyylon* sp. e *Fusarium* sp. De acordo com a figura 1, observa-se que a linhagem CMRP 3596 foi identificada como *Hypoxyylon investiens*, uma vez que a mesma formou um clado com a linhagem referência (espécie) com suporte de 100% *bootstrap*. A análise filogenética da linhagem CMRP 3920 resultou em uma árvore onde foi possível identificá-la como *Fusarium* sp. (Figura 2). A figura 3 apresenta a árvore filogenética das linhagens CMRP 3923 e CMRP 3925. Estas linhagens foram identificadas como

gênero *Trichoderma*, pertencendo à secção *Pachybasium*. Para a identificação destas linhagens, é necessário o sequenciamento de outros genes, como Fator de Elongação 1-alfa, Calmodulina, TUB2 (beta tubulina), RNA polimerase II (RPB2) e da subunidade maior do RNA ribossômico nuclear (LSU).

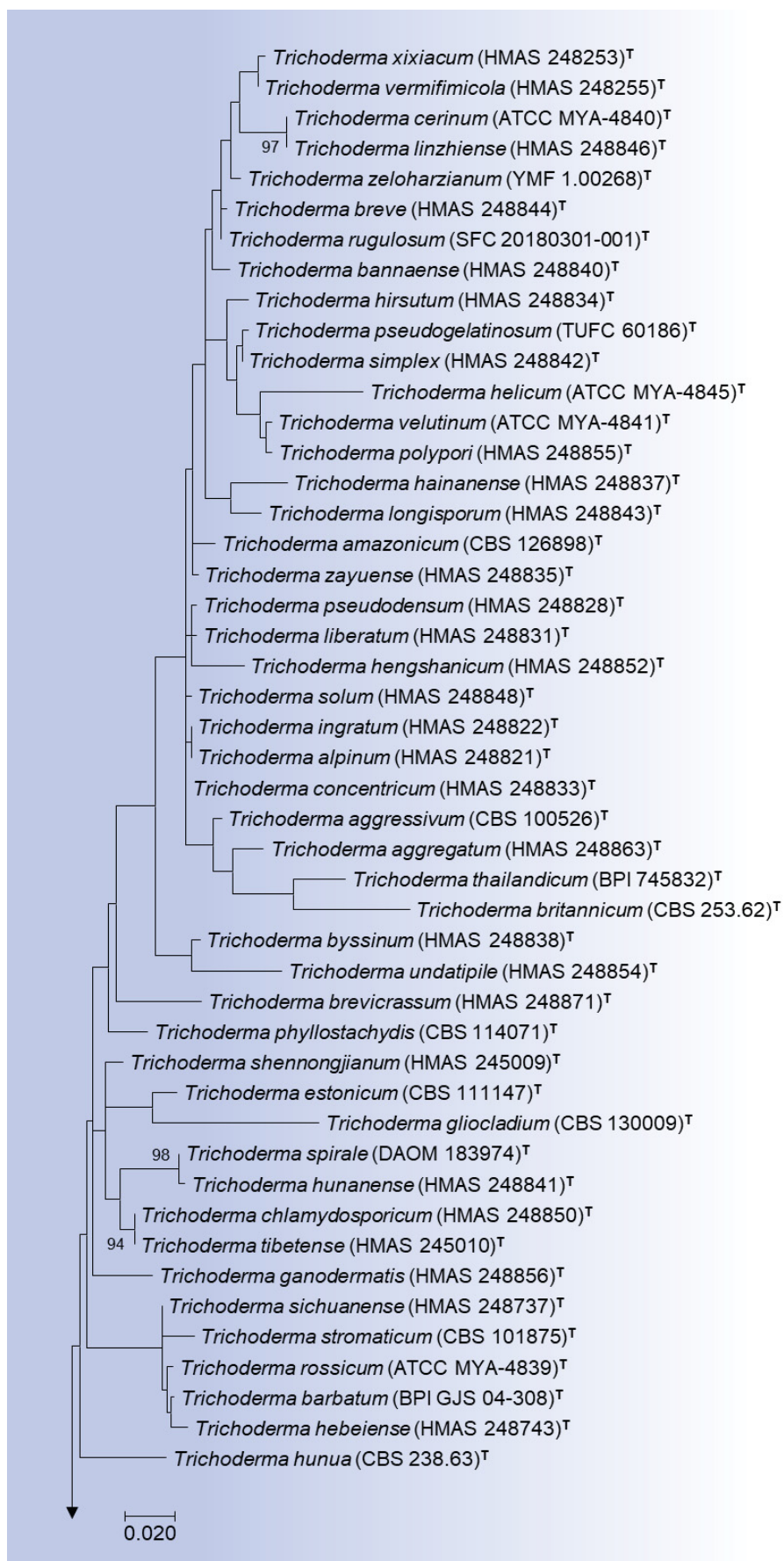
FIGURA 1 – ÁRVORE FILOGENÉTICA DO GÊNERO *Hypoxylon* spp.

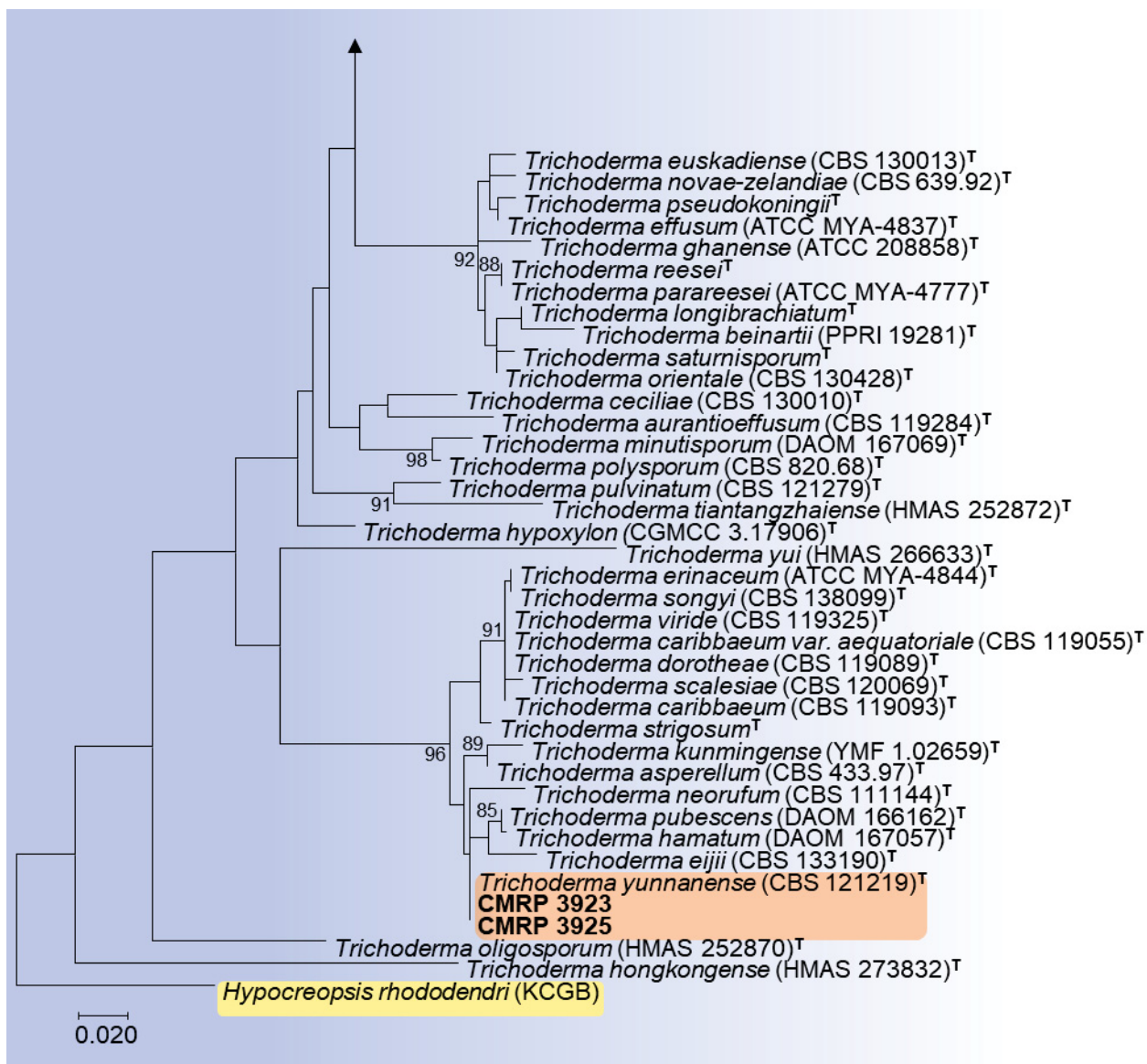


Árvore filogenética construída com base em sequências ITS alinhadas no programa MEGA 7, considerando parâmetros de Máxima verossimilhança. Valores de *bootstrap* calculados a partir de 1000 repetições. *Daldinia fissa* (CBS 119316) foi considerado grupo externo. A linhagem *Hypoxylon investiens* (CMRP 3596) está destacada em rosa.

FIGURA 2 – ÁRVORE FILOGENÉTICA DO GÊNERO *Fusarium* spp.

Árvore filogenética construída com base em sequências ITS alinhadas no programa MEGA 7, considerando parâmetros de Máxima verossimilhança. Valores de *bootstrap* calculados a partir de 1000 repetições. *Nectria cinnabarina* (CBS 129866) foi considerado grupo externo. A linhagem *Fusarium* sp. (CMRP 3920) está destacada em rosa.

FIGURA 3 – ÁRVORE FILOGENÉTICA DO GÊNERO *Trichoderma* spp.



Árvore filogenética construída com base em sequências ITS alinhadas no programa MEGA 7, considerando parâmetros de Máxima verossimilhança. Valores de *bootstrap* calculados a partir de 1000 repetições. *Hypocreopsis rhododendri* foi considerado grupo externo. As linhagens *Trichoderma* sp. (CMRP 3923) e *Trichoderma* sp. (CMRP 3925) estão destacadas em rosa.

Com relação aos testes de biodegradação de óleo diesel (Tabela 1), as linhagens fúngicas avaliadas apresentaram aumento significativo da produção da biomassa úmida ao longo do tempo, principalmente após 14 dias de incubação, considerando  $p \leq 0,05$  (Figura 4).

TABELA 1 - VALORES DE MÉDIA E DESVIO PADRÃO COM RELAÇÃO À PRODUÇÃO DE BIOMASSA PELOS FUNGOS ENDÓFITOS ISOLADOS DE *Bactris gasipaes* (ARECACEAE) O PROCESSO DE BIORREMEDIÇÃO DO ÓLEO DIESEL.

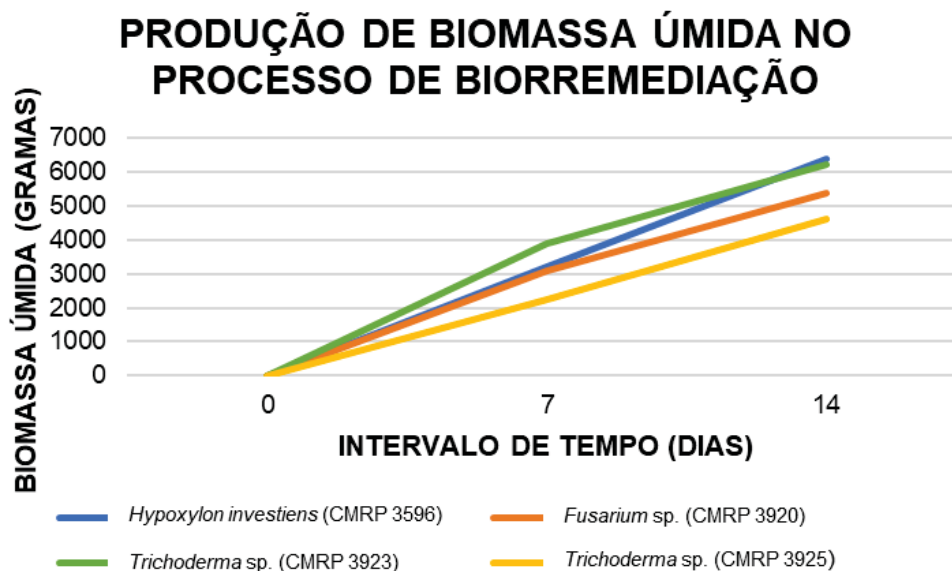
LINHAGENS	PRODUÇÃO DE BIOMASSA (GRAMAS)
-----------	-------------------------------

	INTERVALO DE TEMPO	
	7 dias	14 dias
<i>Trichoderma</i> sp. (CMRP 3925)	2,2410±0,8492 <sup>a, e</sup>	4,6227±0,4139 <sup>a, f, g</sup>
<i>Trichoderma</i> sp. (CMRP 3923)	3,8880±0,0919 <sup>b, e</sup>	6,2200±0,6789 <sup>b, f</sup>
<i>Hypoxyylon investiens</i> (CMRP 3596)	3,2007±0,2621 <sup>c</sup>	6,3823±0,5662 <sup>c, g, h</sup>
<i>Fusarium</i> sp. (CMRP 3920)	3,0947±0,2903 <sup>d</sup>	5,3760±0,6796 <sup>d, h</sup>

As letras iguais indicam diferenças significativas ( $p \leq 0,05$ ) entre os grupos de acordo com os testes de ANOVA (método de Tukey) e Kruskal-Wallis (método de Dunn).

Ainda considerando este intervalo de tempo (Figura 4), observou-se que o valor de biomassa úmida (6,382 g) da linhagem *Hypoxyylon investiens* (CMRP 3596) foi superior e estatisticamente relevante em relação às linhagens *Trichoderma* sp. (CMRP 3925) e *Fusarium* sp. (CMRP 3920) em estudo (Tabela 1). Além disso, a linhagem *Trichoderma* sp. (CMRP 3923) apresentou um maior valor de biomassa (3,888 g) no intervalo de 7 dias, em comparação às espécies *Trichoderma* sp. (CMRP 3925), *Fusarium* sp. (CMRP 3920) e *Hypoxyylon investiens* (CMRP 3596).

FIGURA 4 – PRODUÇÃO DE BIOMASSA ÚMIDA (EM GRAMAS) DAS LINHAGENS FÚNGICAS SELECIONADAS NO PROCESSO DE BIORREMEDIAÇÃO DE ÓLEO DIESEL.



Incubação sob agitação a 28°C por 14 dias.

Conforme o apresentado na tabela 2 foi observado redução significativa ( $p \leq 0,05$ ) do pH em 7 e 14 dias, considerando o tratamento controle e os meios inoculados com as linhagens *Trichoderma* sp. (CMRP 3923), *Trichoderma* sp. (CMRP 3925), *Fusarium* sp. (CMRP 3920) e *H. investiens* (CMRP 3596). A redução

do pH após 14 dias nos meios inoculados com a espécie *Trichoderma* sp. (CMRP 3925) e *Fusarium* sp. (CMRP 3920) foi significativa em relação às outras linhagens em estudo.

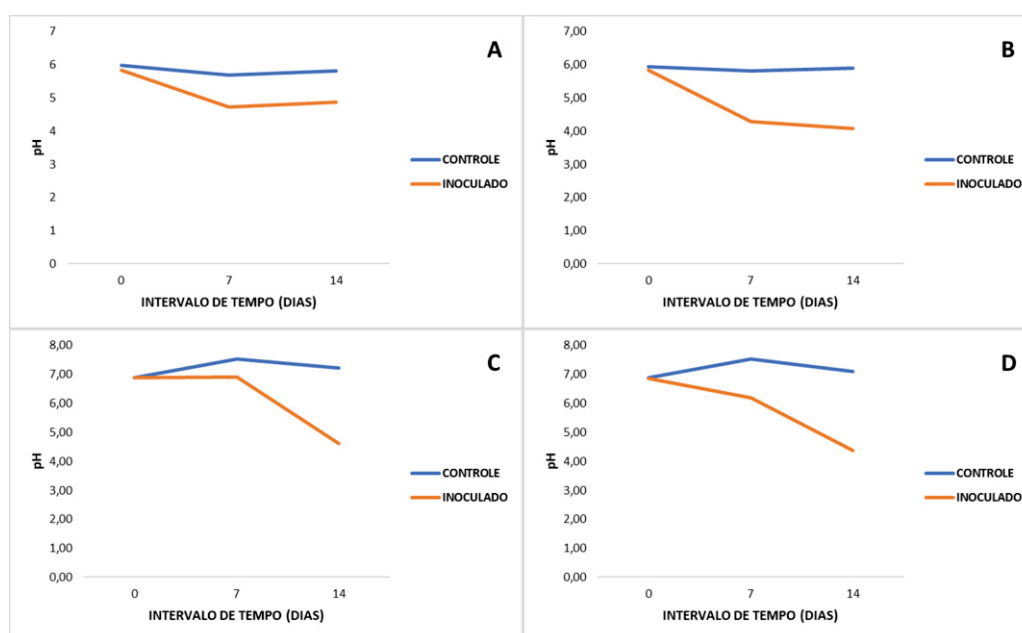
TABELA 2 - VALORES DE MÉDIA E DESVIO PADRÃO COM RELAÇÃO AO pH DO MEIO DURANTE O PROCESSO DE BIORREMEDIAÇÃO DO ÓLEO DIESEL.

LINHAGENS	VALORES DE pH			
	INTERVALO DE TEMPO			
	7 dias		14 dias	
	Controle	Inoculado	Controle	Inoculado
<i>Trichoderma</i> sp. (CMRP 3925)	7,5233±0,0121 <sup>a</sup>	6,1983±0,4095 <sup>a, i</sup>	7,0650±0,0774 <sup>b</sup>	4,3717±0,4980 <sup>b, l, m, n</sup>
<i>Trichoderma</i> sp. (CMRP 3923)	7,5383±0,0354 <sup>c</sup>	6,9183±0,1150 <sup>c, j</sup>	7,2300±0,0415 <sup>d</sup>	4,6050±0,5837 <sup>d, l, o</sup>
<i>Hypoxyylon investiens</i> (CMRP 3596)	5,7000±0,0645 <sup>e</sup>	4,7283±0,1078 <sup>e, j, k</sup>	5,8083±0,0422 <sup>f</sup>	4,8833±0,0776 <sup>f, m, p</sup>
<i>Fusarium</i> sp. (CMRP 3920)	5,8100±0,0978 <sup>g</sup>	4,2867±0,1150 <sup>g, i, k</sup>	5,9050±0,0485 <sup>h</sup>	4,0750±0,0547 <sup>h, n, o, p</sup>

As letras iguais indicam diferenças significativas ( $p \leq 0,05$ ) entre os grupos de acordo com os testes de ANOVA (método de Tukey) e Kruskal-Wallis (método de Dunn).

O meio inoculado com a espécie *Fusarium* sp. (CMRP 3920) apresentou menores valores de pH de 4,29 e 4,08, respectivamente (Figura 5B), nos intervalos de 7 e 14 dias, em comparação às outras linhagens *Trichoderma* sp. CMRP 3923 (Figura 5C), *Trichoderma* sp. CMRP 3925 (Figura 5D) e *H. investiens* CMRP 3596 (Figura 5A).

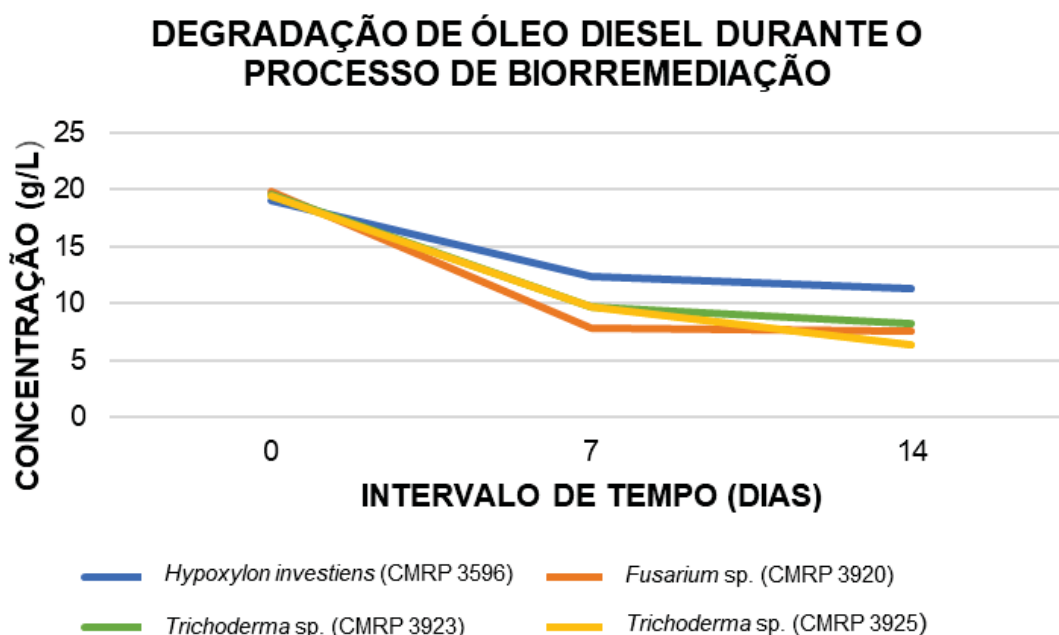
FIGURA 5 - VALORES DE pH DO MEIO DURANTE O PROCESSO DE BIORREMEDIAÇÃO PELAS LINHAGENS FÚNGICAS SELECIONADAS.



As letras indicam as respectivas linhagens fúngicas: A - *Hypoxyton investiens* (CMRP 3596); B - *Fusarium* sp. (CMRP 3920); C - *Trichoderma* sp. (CMRP 3923); D - *Trichoderma* sp. (CMRP 3925), nos diferentes intervalos de tempo considerando o parâmetro de pH.

De acordo com a figura 6, verificou-se uma redução do indicador DCPIP durante o processo de biorremediação, resultado da degradação do óleo diesel, no qual os elétrons foram captados pelo DCPIP (aceptor). Portanto, a redução do indicador é diretamente proporcional à degradação do óleo diesel pelos fungos endofíticos de *B. gasipaes*. As linhagens mais eficientes para degradação do óleo diesel no intervalo de 7 dias foram *Fusarium* sp. (CMRP 3920) e *Trichoderma* sp. (CMRP 3923) apresentaram o maior percentual de degradação do óleo diesel após 7 dias de incubação, com eficiência de 60,18% e 50,63% respectivamente. Com relação ao intervalo de 14 dias, as linhagens mais eficientes foram *Trichoderma* sp. (CMRP 3925) e *Fusarium* sp. (CMRP 3920), que apresentaram, respectivamente, eficiência de 67,19% e 61,61%. A espécie *H. investiens* (CMRP 3596) foi a linhagem com menor eficácia para biodegradação, no qual apresentou nos intervalos de 7 e 14 dias eficácia de 35,26% e 40,72%.

FIGURA 6 - CONCENTRAÇÃO DO INDICADOR 2,6-DICLOROFENOL INDOFENOL (DCPIP) DURANTE O PROCESSO DE BIORREMEDIAÇÃO DO ÓLEO DIESEL PELAS LINHAGENS FÚNGICAS SELECIONADAS.





## 6 DISCUSSÃO

Conforme os resultados obtidos foi observado que 40,46% dos fungos isolados de *B. gasipaes* apresentaram atividade enzimática para pelo menos uma das enzimas (lacase ou fenoloxidase). As enzimas microbianas são fundamentais para o processo de biorremediação, pois convertem os poluentes em substâncias menos tóxicas (KARIGAR; RAO, 2011). Os fungos possuem enzimas extracelulares que podem ser aplicadas na biorremediação e para o pré-tratamento de resíduos provenientes da agricultura (LÓPEZ et al., 2017).

A atividade enzimática das 4 linhagens selecionadas, *Hypoxyton investiens* (CMRP 3596), *Fusarium* sp. (CMRP 3920), *Trichoderma* sp. (CMRP 3923) e *Trichoderma* sp. (CMRP 3925), é um parâmetro relevante no que se refere à biodegradação, devido a conversão de hidrocarbonetos do óleo diesel para ácidos orgânicos. O estudo de Toghueo et al. (2017) também demonstrou a atividade enzimática de amilases, celulasas e lipases por espécies do gênero *Fusarium* (*F. decemcellulare*, *F. equiseti*, *F. oxysporum*, *F. solani* e *F. striatum*). Da mesma forma, Toghueo et al. (2017) demonstraram a atividade enzimática de fungos endofíticos de plantas medicinais. Os autores relataram a mesma atividade enzimática para a espécie *Hypoxyton investiens*, corroborando com os resultados encontrados nesse estudo para a linhagem *H. investiens* (CMRP 3596). O estudo de Idris et al. (2019) mostrou a degradação de lignina pelos fungos *Hypoxyton* sp. e *Hypoxyton investiens*, equivalente a 13 e 14%, no qual os autores relataram a atividade de enzimas lignolíticas e crescimento fúngico. Assim como na pesquisa de Pointing et al. (2005), na qual foi verificada a produção de enzimas modificadoras de lignina por espécies do gênero *Hypoxyton*. A atividade de lacases e o potencial biorremediador pelas espécies *Trichoderma* sp. (CMRP 3923) e *Trichoderma* sp. (CMRP 3925) também foi observada por Adnan et al. (2017), que mostraram a capacidade biorremediadora de *T. lixii*, principalmente em pHs mais ácidos. Além disso, foi observado a produção de enzimas lacases e catecol 1,2-dioxigenase, importantes para degradação de alizarina vermelha S (ARS) e quinizarina verde SS (QGSS).

A linhagem *Fusarium* sp. (CMRP 3920) foi a mais eficaz para a degradação no intervalo de 7 dias (60,18%), uma vez que apresentou menor produção de biomassa (3,095 g) em relação às linhagens *Hypoxyton investiens* (CMRP 3596) e *Trichoderma* sp. (CMRP 3923). Além disso, foi observado para esta linhagem uma

maior acidificação do meio (de 5,83 para 4,29). De acordo com a literatura, estes parâmetros são fundamentais para avaliar a degradação de hidrocarbonetos. Ainda baseado no reportado por Adnan et al. (2017) a biodegradação de poluentes resulta na formação de ácido carboxílico e compostos fenólicos, responsáveis pela acidificação do meio. Nesse contexto, a melhor linhagem para biorremediação é aquela com maior taxa de degradação de poluentes em um curto período de tempo. A pesquisa de Hidayat e Tachibana (2011) apresentou o potencial de *Fusarium* sp. para degradação de hidrocarbonetos alifáticos de óleo cru, no qual verificaram taxas de degradação de 98%, 72% e 49% após 60 dias. A habilidade de *F. solani* para degradação de benzo[a]pireno foi observado por Delsarte et al. (2018), no qual o fungo apresentou produção de biomassa e degradação de 37,4% após 12 dias. Azin et al. (2018) apresentaram a habilidade de *F. neocosmosporiellum* para degradação de petróleo, capaz de remover 58% de hidrocarbonetos após 20 dias e produzir lacases. Assim, a linhagem *Fusarium* sp. (CMRP 3920) foi a mais promissora, com maiores taxas de degradação em menor período de tempo em relação às linhagens estudadas por outros autores. A literatura tem mostrado vários exemplos sobre a capacidade de biodegradação pelas espécies de *Fusarium* sp. O estudo de Chehri et al. (2017) relatou a presença de espécies do gênero *Fusarium* spp. em ambientes contaminados por petróleo. Mohammadian et al. (2017) também isolaram espécies de *Fusarium* sp. em solos contaminados por petróleo. As espécies *F. keratoplasticum*, *F. proliferatum* e *F. nygamai* apresentaram crescimento na presença de benzeno, tolueno, naftaleno e petróleo. Rajendran et al. (2017) observaram a degradação acima de 70% de compostos fenólicos por *Fusarium falciforme*. Hidayat e Tachibana (2012) também confirmaram a capacidade de degradação de óleo cru e n-octadecano por *Fusarium* sp. Bhatt et al. (2020) verificaram a degradação de poluentes por *F. proliferatum* depois de 144 horas. Romauld et al. (2019) também evidenciaram a degradação de naftaleno por *F. oxysporum* após 9 dias.

Considerando o intervalo de 14 dias, a linhagem *Trichoderma* sp. (CMRP 3925) foi a mais promissora para degradação (67,19%). Tais resultados já foram demonstrados por outros autores, Tripathi et al. (2013) apresentaram o potencial biorremediador de espécies de *Trichoderma* para diferentes poluentes, entre eles, diesel e óleo cru. O estudo de Dacoò et al. (2020) apresentou a capacidade de degradação de óleo de motor por *T. harzianum* e foi observado a alteração de

compostos aromáticos para alifáticos, além da verificação da atividade enzimática de lacases. Os fungos do gênero *Trichoderma* foram relacionados com a capacidade de metabolizar compostos aromáticos policíclicos de alto e baixo peso molecular, como naftaleno, pireno e benzo [a] pireno. No qual foi verificado a atividade de enzimas lacases, peroxidases e dioxigenases pelas espécies *T. hamatum*, *T. harzianum*, *T. reesei*, *T. koningii*, *T. viridae*, entre outras (ZAFRA; CORTÉS-ESPINOSA, 2015; ZAFRA et al., 2014). A pesquisa de Sing et al. (2014) verificou a tolerância de linhagens de *Trichoderma* ao contaminante pentaclorofenol (PCP), indicado pelo seu crescimento radial. De acordo com os nossos resultados, a linhagem *Trichoderma* sp. (CMRP 3925) foi a melhor para biodegradação de óleo diesel considerando os parâmetros estudados por Andreolli et al. (2016), que verificaram a degradação (de 54%) de hidrocarbonetos aromáticos policíclicos por *Trichoderma* sp. associado com a intensa atividade de fenoloxidase, no solo contaminado por óleo diesel. Outros estudos também demonstraram potencial biorremediador do gênero *Trichoderma* para óleo diesel e hidrocarbonetos totais de petróleo, no qual se evidencia aumento da atividade enzimática (NAZIFA et al., 2011; FIJALKOWSKI et al., 2008).

Embora a linhagem *Hypoxyton investiens* (CMRP 3596) tenha apresentado os menores valores de eficiência de remoção (Figura 6), sua habilidade biorremediadora de hidrocarbonetos também foi comprovada após 14 dias, no qual deteve maior produção de biomassa (6,382 g) na presença de óleo diesel como única fonte de carbono em relação às outras linhagens em estudo. Memic et al. (2017) também observaram a degradação de hidrocarbonetos aromáticos policíclicos por *Hypoxyton fragiforme*, nos quais as taxas de degradação foram de 82%, 90,3%, 17,8%, respectivamente, para acenafteno, acenaftileno e antraceno. O estudo de Souza et al. (2017) comprovou a tolerância de *Hypoxyton* sp. a HAP, como fenantreno e pireno, possuindo a menor taxa de inibição de crescimento e foi considerado um fungo promissor para degradação de HAPs.

As 4 espécies em estudo têm potencial biorremediador, entretanto, em uma seleção direta com base nos resultados observados, as linhagens *Trichoderma* sp. (CMRP 3925) e *Fusarium* sp. (CMRP 3920) são melhores e, que inclusive, poderiam ser utilizadas em um futuro consórcio. A linhagem *Hypoxyton investiens* (CMRP 3596), embora se mostrou menos eficiente quando comparada às outras duas linhagens, esta apresenta um potencial a ser explorado em pesquisas subsequentes.

## 7 CONCLUSÃO

Pelos aspectos observados, conclui-se que os fungos endofíticos de *Bactris gasipaes* avaliados apresentam potencial para a biodegradação de óleo diesel, sendo que as espécies *Trichoderma* sp. (CMRP 3925) e *Fusarium* sp. (CMRP 3920) foram as de maior relevância quanto à capacidade de utilizar e tolerar o óleo diesel como única fonte de carbono. O perfil enzimático demonstrou ser um importante parâmetro para seleção de fungos biorremediadores. Com base na avaliação de outros parâmetros associados com a degradação, se conclui que a maior eficiência de remoção de óleo diesel relaciona-se à acidificação do meio e produção de biomassa. Nesse contexto, estas linhagens podem promover a descontaminação ambiental por óleo diesel em um curto período de tempo (14 dias).

## 8 REFERÊNCIAS

- ADNAN, L. A.; SATHISHKUMAR, P.; YUSOFF, A. R. M.; HADIBARATA, T.; AMEEN, F. Rapid bioremediation of Alizarin Red S and Quinizarine Green SS dyes using *Trichoderma lixii* F21 mediated by biosorption and enzymatic processes. **Bioprocess and Biosystems Engineering**, v. 40, p.85-97. 2017.
- ANDREOLLI, M.; LAMPIS, S.; BRIGNOLI, P.; VALLINI, G. *Trichoderma longibrachiatum* Evx1 is a fungal biocatalyst suitable for the remediation of soils contaminated with diesel fuel and polycyclic aromatic hydrocarbons. **Environmental Science and Pollution Research**, v. 23, p. 9134-9143. 2016.
- AZIN, E.; MOGHIMI, H.; HEIDARYTABAR, R. Petroleum Degradation, Biosurfactant and Laccase Production by *Fusarium neocosmosporiellum* RH-10: a microcosm study. **Soil and Sediment Contamination: An International Journal**, v. 27, n. 4, p. 329-342. 2018.
- BAMGBOSE, I. A.; ANDERSON, T. A. Ecotoxicity of three plant-based biodiesels and diesel using, *Eisenia fetida*. **Environmental Pollution**, v. 260, p. 113965. 2020.
- BEHBUDI, G.; YOUSEFI, K.; SADEGHIPOUR, Y. Microbial Enzymes Based Technologies for Bioremediation of Pollutions. **Journal of Environmental Treatment Techniques**, v. 9, p. 463-469. 2021.
- BHATT, P.; ZHANG, W.; LIN, Z.; PANG, S.; HUANG, Y.; CHEN, S. Biodegradation of Allethrin by a Novel Fungus *Fusarium proliferatum* Strain CF2, Isolated from Contaminated Soils. **Microorganisms**, v. 8, n. 4, p. 593. 2020.
- CHEHRI, K.; HEIDARIN, E.; ZAFARI, D. Identification of *Fusarium* species isolated from crude oil contaminated soils in oil refinery in Kermanshah province. **Agricultural Biotechnology**, v. 8, n. 1, p. 67-74. 2017.

COSTA, G. V.; ROCHA, W. C.; FREITAS, A. D. G. Micro-organismos endofíticos encontrados no fruto da pupunheira (*Bactris gasipaes* Kunth) e seu potencial antimicrobiano. **Scientia Amazonia**, v. 8, n. 3, p. 23-27. 2019.

CUI, J.; HUANG, L.; WANG, W.; XU, P.; ZANAROLI, G.; TANG, H. Maximization of the petroleum biodegradation using a synthetic bacterial consortium based on minimal value algorithm. **International Biodeterioration & Biodegradation**, v. 150, p. 104964. 2020.

DACCÒ, C.; NICOLA, L.; ELISABETTA, M.; TEMPORITI, E.; MANNUCCI, B.; CORANA, F.; CARPANI, G.; TOSI, S. *Trichoderma*: Evaluation of Its Degrading Abilities for the Bioremediation of Hydrocarbon Complex Mixtures. **Applied Sciences**, v. 10, n. 9, p. 1-15. 2020.

DELSARTE, I.; RAFIN, C.; MRAD, F.; VEIGNIE, E. Lipid metabolism and benzo[a]pyrene degradation by *Fusarium solani*: an unexplored potential. **Environmental Science and Pollution Research**, v. 25, n. 12, p. 12177-12182. 2018.

FAYIGA, A. O.; IPINMOROTI, M. O.; CHIRENJE, T. Environmental pollution in Africa. **Environment, Development and Sustainability**, v. 20, n. 1, p. 41-73. 2017.

FERREIRA, S. A. N. Pupunha, *Bactris gasipaes* Kunth in: I. D. K. Ferraz & J. L. C. Camargo (Eds) Manual de Sementes da Amazônia. 2005.

FIJALKOWSKI, K.; KACPRZAK, M.; BIEN, J.; JANECKA, B. The enhanced bioremediation of soils contaminated with high concentration of diesel oil. **Environmental Engineering**, p.126-133. 2008.

GERALDO, M. R.; MARANHO, L. T. Otimização da degradação de petróleo em solo contaminado a partir da associação de consórcio bacteriano imobilizado e planta fitorremediadora. Monografia (graduação em Ciências Biológicas) – Setor de Ciências Biológicas e da Saúde, Universidade Positivo, Curitiba, 2018.

GERALDO, M. R.; MARANHO, L. T. Imobilização de consórcio de bactérias degradadoras de petróleo obtidas da rizosfera de *Panicum aquaticum* Poir., Poaceae. **Brazilian Journal of Development**, v. 6, n. 7, p. 45816-45830. 2020.

GOMES, R. R.; VICENTE, V. A.; AZEVEDO, C. M. P. S.; SALGADO, C. G.; SILVA, M. B.; QUEIROZ-TELLES, F.; MARQUES, S. G.; SANTOS, D. W. C. L.; ANDRADE, T. S.; TAKAGI, E. H.; CRUZ, K. S.; FORNARI, G.; HAHN, R. C.; SCROFERNEKER, M. L.; CALIGNE, R. B.; RAMIREZ-CASTRILLON, M.; ARAÚJO, D. P.; HEIDRICH, D.; COLOMBO, A. L.; DE HOOG, G. S. Molecular epidemiology of agents of human chromoblastomycosis in Brazil with the description of two novel species. **PLOS Neglected Tropical Diseases**, p. 1-20. 2016.

HANSON, K. G.; DESAI, J. D.; DESAI, A. J. A rapid and simple screening technique for potential crude oil degrading microorganisms. **Biotechnology Techniques**, v. 7, n. 10, p. 745-748. 1993.

HIDAYAT, A.; TACHIBANA, S. Biodegradation of Aliphatic Hydrocarbon in Three Types of Crude Oil by *Fusarium* sp. F092 under Stress with Artificial Sea Water. **Journal of Environmental Science and Technology**, v. 5, n. 1, p. 64-73. 2011.

HIDAYAT, A.; TACHIBANA, S. Crude Oil and n-Octadecane Degradation under Saline Conditions by *Fusarium* sp., F092. **Journal of Environmental Science and Technology**, v. 6, n. 1, p. 29-40. 2012.

IDRIS; RAMADHANI, I.; KANTI, A.; SUDIANA, I. M. Screening of potential lignin-degrading fungi from the tropical forest for lignocellulose biotreatment. **Earth and Environmental Science**, v. 308, p.1-17. 2014.

KARIGAR, C. S.; RAO, S. S. Role of Microbial Enzymes in the Bioremediation of Pollutants: A Review. **Enzyme Research**, p. 1–11. 2011.

KATOH, K.; TOH, H. Recent developments in the MAFFT multiple sequence alignment program. **Briefings in Bioinformatics**, v. 9, n. 4, p. 286-298. 2008.

KUMAR, S.; STECHER, G.; TAMURA, K. MEGA7: molecular evolutionary genetics analysis version 7.0 for bigger datasets. **Molecular Biology and Evolution**, v. 33, n. 7, p. 1870-1874. 2016.

LÓPEZ, A. M. Q.; SILVA, A. L. S.; SANTOS, E. C. L. The fungal ability for biobleaching/biopulping/bioremediation of lignin-like compounds of agro-industrial raw material. **Química Nova**, v. 40, n. 8, p. 916-931. 2017.

MARIANO, A. D.; TOMASELLA, R. C.; OLIVEIRA, L. M.; CONTIERO, J.; ANGELIS, D. F. Biodegradability of diesel and biodiesel blends. **African Journal of Biotechnology**, v. 7, n. 9, p. 1323-1328. 2008.

MARTINS, S. S. S.; AZEVEDO, M. O.; SILVA, M. P.; SILVA, V. P. Produção de petróleo e impactos ambientais: algumas considerações. **Holos**, v. 6, p. 54-76. 2015.

MASALU, R. J. Ligninolytic enzymes of the fungus isolated from soil contaminated with cow dung. **Tanzania Journal of Science**, v. 42, p. 84-92. 2016.

MEMIĆ, M.; VRTAČNIK, M.; BOH, B.; POHLEVEN, F.; MAHMUTOVIĆ, O. Biodegradation of PAHs by Ligninolytic Fungi *Hypoxylon fragiforme* and *Coniophora puteana*. **Polycyclic Aromatic Compounds**, v. 40, n. 2, p. 206-213. 2017.

MOHAMMADIAN, E.; ARZANLOU, M.; BABAI-AHARI, A. Diversity of culturable fungi inhabiting petroleum-contaminated soils in Southern Iran. **Antonie van Leeuwenhoek**, v. 110, n. 7, p. 903-923. 2017.

MOSTAFA, A. A.; HAFEZ, R. M.; HEGAZY, A. K.; FATTAH, A. M. Abd-El; MOHAMED, N. H.; MUSTAFA, Y. M.; GOBOURI, A. A.; AZAB, E. Variations of Structural and Functional Traits of *Azolla pinnata* R. Br. in Response to Crude Oil Pollution in Arid Regions. **Sustainability**, v. 13, n. 4, p. 2142. 2021.

NASCIMENTO, M. F. N. Ecologia molecular de leveduras negras. Dissertação de mestrado. Universidade Federal do Paraná. 2013.

NASCIMENTO, M. F. N. Chaetothyriales: Biodiversity, Infective ability and Biotechnological potential. Tese de doutorado. Universidade Federal do Paraná. 2017.

NAZIFA, T. H.; AHMAD, M. A. B.; HADIBARATA, T.; SALMIATI; ARIS, A. Bioremediation of Diesel Oil Spill by Filamentous Fungus *Trichoderma reesei* H002 in Aquatic Environment. **Innovations in Civil Engineering**, v. 10, n. 9, p. 103-107. 2018.

ODIYI, B. O.; GIWA, G. O.; ABIYA, S. E.; BABATUNDE, O. S. Effects of crude oil pollution on the morphology, growth and heavy metal content of maize (*Zea mays* Linn.). **Journal of Applied Sciences and Environmental Management**, v. 24, n. 1, p. 119. 2020.

OLIVEIRA, K. M.; BOAS, E. V.; BONETT, L. P.; JÚNIOR, E. L. C.; BERNARDI-WENZEL, J. Isolamento e atividade antibacteriana de fungos endofíticos de *Piper glabratum* Kunth. **Arq. Cienc. Saúde UNIPAR**, Umuarama, v. 19, n. 1, p. 3-9. 2015.

OLIVEIRA, L. M.; LOPES, P. R. M.; BIDOIA, E. D.; CONTIERO, J. Biodegradação de óleo lubrificante automotivo usado pela aplicação de surfactante químico e biosurfactante produzido por *Pseudomonas aeruginosa*. **Revista Acadêmica Oswaldo Cruz**, n. 1, p. 1-13. 2014.

OSTOVAR, M.; GHIASSI, R.; MEHDIZADEH, M. J.; SHARIATMADARI, N. Effects of Crude Oil on Geotechnical Specification of Sandy Soils. **Soil and Sediment Contamination: An International Journal**, v. 30, n. 1, p. 58-73. 2020.

POINTING, S. Qualitative methods for the determination of lignocellulolytic enzyme production by tropical fungi. **Fungal Diversity**, v. 2, p. 17-33. 1999.

POINTING, S. B.; PELLING, A. L.; SMITH, G. J. D.; HYDE, K. D.; REDDY, C. A. Screening of basidiomycetes and xylariaceous fungi for lignin peroxidase and laccase gene-specific sequences. **Mycological Research**, v. 109, n. 1, p. 115-124. 2005.

POSTEN, C. H.; COONEY, C. L. Growth of microorganisms. **Biotechnology**, p. 111-162. 1993.

RAJENDRAN, R. K.; LIN, C. C.; HUANG, S. L.; KIRSCHNER, R. Enrichment, isolation, and biodegradation potential of long-branched chain alkylphenol degrading non-ligninolytic fungi from wastewater. **Marine Pollution Bulletin**, v. 125, n. 1-2, p. 416-425. 2017.

ROMAULD, S. I.; VENKATARAGHAVAN, R.; YUVARAJ, D.; DEVI, V. I.; HASHIKA, S. Mycoremediation of Hydrocarbon and its products using *Fusarium oxysporum*. **Research Journal Of Pharmacy and Technology**, v. 12, n. 9, p. 4216. 2019.

SHOME, R. Role of microbial enzymes in Bioremediation. **eLifePress**, v. 1, p. 15-20. 2020.

SING, N. N.; ZULKHARNAIN, A.; ROSLAN, H. A.; ASSIM, Z.; HUSAINI, A. Bioremediation of PCP by *Trichoderma* and *Cunninghamella* Strains Isolated from Sawdust. **Brazilian Archives of Biology and Technology**, v. 57, n. 6, p. 811-820. 2014.

SOUZA, C. S.; MIRANDA, R. C. M.; DE SENA, K. X. F. R, ARAÚJO, J. M.; CHIAPPETA, A. A.; SOUSA, M. F. V. Q. Isolamento e seleção de micro-organismos degradadores de derivados de petróleo. In: 3° Congresso Brasileiro de P & D em Petróleo e Gás. Salvador, p. 1-7. 2005.

SOUZA, D. B.; BRITO, G. C. B.; VASCONCELOS, F. C. W.; BRAGA, L. C. Estudo de micro-organismos presentes em uma área contaminada por gasolina comercial. **Revista de Estudos Ambientais**, v. 12, n. 2, p. 38-46. 2010.

SOUZA, H. M. L.; BARRETO, L. R.; MOTA, A. J.; OLIVEIRA, L. A.; BARROSO, H. S.; ZANOTTO, S. P. Tolerance to Polycyclic Aromatic Hydrocarbons (PAHs) by filamentous fungi isolated from contaminated sediment in the Amazon region. **Acta Scientiarum. Biological Sciences**, v. 39, n. 4, p. 481. 2017.

TADROS, A. F. F. Environmental aspects of petroleum storage in above ground tank. **E3S Web of Conferences**, v. 166, p. 01006. 2020.

TOGHUEO, R. M. K.; ZABALGOGEAZCOA, I.; ALDANA, B. R. V.; BOYOM, F. F. Enzymatic activity of endophytic fungi from the medicinal plants *Terminalia catappa*, *Terminalia mantaly* and *Cananga odorata*. **South Africa Journal Botany**, v. 109, p. 146-153. 2017.

TRIPATHI, P.; SINGH, P. C.; MISHRA, A.; CHAUHAN, P. S.; DWIVEDI, S.; BAIS, R. T.; TRIPATHI, R. D. *Trichoderma*: a potential bioremediator for environmental clean up. **Clean Technologies and Environmental Policy**, v. 15, p. 541-550. 2013.

VICENTE, V. A.; ATTILI-ANGELIS, D.; PIE, M.R.; QUEIROZ-TELLES, F.; CRUZ, L. M.; NAJAFZADEH, M. J.; HOOG, G. S.; ZHAO, J.; PIZZIRANI-KLEINER, A. Environmental isolation of black yeast-like fungi involved in human infection. **Studies in Mycology**, v. 61, p. 137-144, 2008.

VOIDALESKI, M. F. **Bioprospeção de *Fonsecaea pedrosoi* em amostras ambientais por amplificação em círculo rolante (RCA)**. 2018. Dissertação (Mestrado em Microbiologia, Parasitologia e Patologia) – Setor de Ciências Biológicas, Universidade Federal do Paraná, Curitiba (PR), 2018. Disponível em: <https://www.prppg.ufpr.br/siga/visitante/trabalhoConclusaoWS?idpessoa=42099&idpograma=40001016044P0&anobase=2018&idtc=1366>. Acesso em: 10 abr. 2021.

ZAFRA, G.; CORTÉS-ESPINOSA, D. Biodegradation of polycyclic aromatic hydrocarbons by *Trichoderma* species: a mini review. **Environmental Science and Pollution Research**, v. 22, p. 19426-19433. 2015.



ZAFRA, G.; MORENO-MONTAÑO, A.; ABSALÓN, A. E.; CORTÉS-ESPINOSA, D. Degradation of polycyclic aromatic hydrocarbons in soil by a tolerant strain of *Trichoderma asperellum*. **Environmental Science and Pollution Research**, v. 22, p. 1034-1042. 2014.

ZHANG, T.; LIU, Y.; ZHONG, S.; ZHANG, L. AOPs-based remediation of petroleum hydrocarbons-contaminated soils: efficiency, influencing factors and environmental impacts. **Chemosphere**, v. 246, p. 125726. 2020b.

ZAHED, M. A.; SALEHI, S.; MADADI, R.; HEJABI, F. Biochar as a sustainable product for remediation of petroleum contaminated soil. **Current Research in Green and Sustainable Chemistry**, v. 4, p. 100055, 2021.

### **CAPÍTULO III: CONSIDERAÇÕES FINAIS**

## CONCLUSÕES FINAIS E PERSPECTIVAS FUTURAS

A contaminação ambiental é um problema atual e tem aumentado ao longo dos anos, devido a atividades antrópicas que geram a degradação ambiental e redução da qualidade de vida. A utilização de técnicas de tratamento para mitigar os impactos ambientais negativos têm sido empregadas, com a finalidade de reduzir o quadro de contaminação e recuperar e/ou restaurar os ecossistemas. Contudo, técnicas eficientes, de baixo custo e que não agridem mais o ambiente são um empecilho para a descontaminação ambiental. Portanto, a aplicação de técnicas biorremediadoras tem mostrado estes benefícios, em virtude do seu aspecto sustentável e ecológico, não dispendioso e eficaz.

O objetivo desta pesquisa foi estudar o potencial de fungos endofíticos de *B. gasipaes* para aplicação em técnicas biorremediadoras. A seleção de micro-organismos tolerantes à poluição e com potencial de biodegradação é fundamental. A interação entre estes micro-organismos e dos mesmos com o ambiente precisa ser melhor compreendida, considerando o sinergismo e o antagonismo entre as espécies. Além dos fatores ambientais que influenciam no processo de biorremediação. O descobrimento de novas espécies é imprescindível, permitindo a aplicação de micro-organismos mais eficientes e que promovam o tratamento em um curto período de tempo.

A presente pesquisa possuiu os seguintes objetivos: selecionar as linhagens fúngicas com base no perfil enzimático; avaliar a degradação de óleo diesel pelas linhagens fúngicas de *B. gasipaes* selecionadas; e analisar a linhagem fúngica mais eficaz para degradação. O perfil enzimático para atividade de lacases e fenoloxidasas permitiu a seleção de fungos endofíticos biorremediadores de *B. gasipaes* Kunth, uma vez que a atividade enzimática está diretamente relacionada com a degradação de poluentes. O processo de degradação pôde ser verificado por meio da produção de biomassa dos fungos ao longo do tempo, assim como pela redução do pH do meio associado com produtos resultado da biodegradação e eficiência da degradação do óleo diesel. Portanto, a partir destes parâmetros foi possível selecionar três linhagens eficientes: *Trichoderma* sp. (CMRP 3923), *Trichoderma* sp. (CMRP 3925) e *Fusarium* sp. (CMRP 3920), estas espécies podem ser aplicadas em técnicas biorremediadoras para a descontaminação ambiental.

Estes resultados demonstraram que plantas são fontes potenciais para micro-organismos biorremediadores de poluentes. Além disso, com a finalidade de tornar o processo de biodegradação mais efetivo. As linhagens selecionadas neste estudo poderão nortear outros estudos, por exemplo, na elaboração de um consórcio microbiano, para técnicas de bioaugmentação e rizorremediação. Dessa forma, serão estudadas as interações entre os micro-organismos rizosféricos e com plantas. Outra abordagem do estudo, será o potencial microbiano em promover o crescimento de plantas. No qual possibilitará a produção de inoculantes e o aprimoramento de técnicas fitorremediadoras.

Diante o exposto, se conclui que a presente pesquisa é promissora e as informações adquiridas podem ser utilizadas em várias técnicas biorremediadoras. Consequentemente, é possível contribuir com a comunidade científica na área da biorremediação, realizando a interface dos potenciais micro-organismos remediadores, visando a descontaminação ambiental por petróleo e derivados.

## REFERÊNCIAS GERAIS

- ABDELLAH, M. H.; NOSIER, S. A.; EL-SHAZLY, A. H.; MUBARAK, A. A. Photocatalytic decolorization of methylene blue using TiO<sub>2</sub>/UV system enhanced by air sparging. **Alexandria Engineering Journal**, v. 57, n. 4, p. 3727-3735. 2018.
- ABENA, M. T. B.; LI, T.; SHAH, M. N.; ZHONG, W. Biodegradation of total petroleum hydrocarbons (TPH) in highly contaminated soils by natural attenuation and bioaugmentation. **Chemosphere**, v. 234, p. 864-874. 2019.
- ADELEYE, A. O.; NKEREUWEM, M. E.; OMOKHUDU, G. I.; AMOO, A. O.; SHIAKA, G. P.; YERIMA, M. B. Effect of microorganisms in the bioremediation of spent engine oil and petroleum related environmental pollution. **Journal of Applied Sciences and Environmental Management**, v. 22, n. 2, p. 157. 2018.
- ADNAN, L. A.; SATHISHKUMAR, P.; YUSOFF, A. R. M.; HADIBARATA, T.; AMEEN, F. Rapid bioremediation of Alizarin Red S and Quinizarine Green SS dyes using *Trichoderma lixii* F21 mediated by biosorption and enzymatic processes. **Bioprocess and Biosystems Engineering**, v. 40, p.85-97. 2017.
- Agência Nacional do Petróleo, Gás Natural e Biocombustíveis (ANP). **Dados estatísticos**. Disponível em: < <http://www.anp.gov.br/dados-estatisticos>>. Acesso em: 14 jul. 2019.
- AGRAWAL, P. K.; UPADHYAY, P.; SHRIVASTAVA.; SHARMA, S.; GARLAPATI, V. K. Evaluation of the Ability of Endophytic Fungi from *Cupressus torulosa* to Decolorize Synthetic Textile Dyes. **Journal of Hazardous, Toxic and Radioactive Waste**, v. 25, n. 1, p. 06020005. 2021.
- AGUELMOUS, A.; FELLS, L. E.; SOUABI, S.; ZAMAMA, M.; YASRI, A.; LEBRIHI, A.; HAFIDI, M. Petroleum sludge bioremediation and its toxicity removal by landfill in gunder semi-arid conditions. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 166, p. 482-487. 2018.
- AHMADNEZHAD, Z.; VAEZIHIR, A.; SCHÜTH, C.; ZARRINI, G. Combination of zeolite barrier and bio sparging techniques to enhance efficiency of organic hydrocarbon remediation in a model of shallow groundwater. **Chemosphere**, v. 273, p. 128555. 2021.
- AHMED, F.; FAKHRUDDIN, A. A Review on Environmental Contamination of Petroleum Hydrocarbons and its Biodegradation. **International Journal Environmental Sciences and Natural Resources**, v. 11, n.3, p. 1-7. 2018.
- AL, J. E. Bioremediation of Petroleum Hydrocarbons Contaminated Soil using Bio piles System. **Baghdad Science Journal**, v. 16, n. 1, p. 0185. 2019.
- AL-HAWASH, A. B.; DRAGH, M. A.; LI, S.; ALHUJAILY, A.; ABBOOD, H. A.; ZHANG, X.; MA, F. Principles of microbial degradation of petroleum hydrocarbons in the environment. **Egyptian Journal of Aquatic Research**, v. 44, p. 71-76. 2018.

AL-KINDI, S.; ABED, R. M. M. Effect of Biostimulation Using Sewage Sludge, Soybean Meal, and Wheat Straw on Oil Degradation and Bacterial Community Composition in a Contaminated Desert Soil. **Frontiers of Microbiology**, v. 7, p. 1-14. 2018.

AL-MAAMARI, R. S.; HIRAYAMA, A.; SUEYOSHI, M. N.; ABDALLA, O. A. E.; AL-BEMANI, A. S.; ISLAM, M. R. The Application of Air-sparging, Soil Vapor Extraction and Pump and Treat for Remediation of a Diesel-contaminated Fractured Formation. **Energy Sources, Part A: Recovery, Utilization, and Environmental Effects**, v. 31, n. 11, p. 911-922. 2009.

ALMEIDA, C. V.; YARA, R.; ALMEIDA, M. Fungos endofíticos isolados de ápices caulinares de pupunheira cultivada *in vivo* e *in vitro*. **Pesquisa Agropecuária Brasileira** v. 40, n. 5, p. 467-470. 2005.

AL-ZABAN, M. I.; MAHMOUD, M. A.; ALHARBI, M. A.; BAHATHEQ, A. M. Bioremediation of Crude Oil by Rhizosphere Fungal Isolates in the Presence of Silver Nanoparticles. **International Journal of Environmental Research and Public Health**, v. 17, n. 18, p. 6564. 2020.

ANAND, K.; KUMARI, P.; KUMARI, N.; SINHA, P. B. Microbiological and Physicochemical Characteristics of Some Common Fungal Flora Isolated from Various Petroleum-Contaminated Pump Stations of Hazaribag District, Jharkhand, India. **Innovation in Materials Science and Engineering**, p. 103-113. 2019.

ANDRADE, J. A.; AUGUSTO, F.; JARDIM, I. C. S. F. Biorremediação de solos contaminados por petróleo e seus derivados. **Eclética Química**, v. 35, n. 3, p. 17-43. 2010.

ANDREOLLI, M.; LAMPIS, S.; BRIGNOLI, P.; VALLINI, G. *Trichoderma longibrachiatum* Evx1 is a fungal biocatalyst suitable for the remediation of soils contaminated with diesel fuel and polycyclic aromatic hydrocarbons. **Environmental Science and Pollution Research**, v. 23, p. 9134-9143. 2016.

ANEKWE, I. M. S.; ISA, Y. M. Evaluation of the application of wastewater and bioventing system for the treatment of crude oil contaminated soils. **18 th JOHANNESBURG Int'l Conference on Science, Engineering, Technology & Waste Management**, p. 64-68. 2020.

APUL, O. G.; DAHLEN, P.; DELGADO, A. G.; SHARIF, F.; WESTERHOFF, P.; ASCE, M. Treatment of Heavy, Long-Chain Petroleum-Hydrocarbon Impacted Soils Using Chemical Oxidation. **Journal of Environmental Engineering**, p. 04016065. 2016.

ARELLANO, P.; TANSEY, K.; BALZTER, H.; TELLKAMP, M. Plant Family-Specific Impacts of Petroleum Pollution on Biodiversity and Leaf Chlorophyll Content in the Amazon Rainforest of Ecuador. **PLoS ONE**, v.12, n. 1, p. 1-18. 2017.

ASEMOLOYE, M. D.; AHMAD, R.; JONATHAN, S. G. Synergistic action of rhizospheric fungi with *Megathyrus maximus* root speeds up hydrocarbon degradation kinetics in oil polluted soil. **Chemosphere**, v. 187, p. 1-10. 2017.

AZIN, E.; MOGHIMI, H.; HEIDARYTABAR, R. Petroleum Degradation, Biosurfactant and Laccase Production by *Fusarium neocosmosporiellum* RH-10: a microcosm study. **Soil and Sediment Contamination: An International Journal**, v. 27, n. 4, p. 329-342. 2018.

BADALI, H.; PRENAFETA-BOLDÚ, F. X.; GUARRO, J.; KLAASSEN, C. H.; MEIS, J. F.; HOOG, G. S. *Cladophialophora psammophila*, a novel species of Chaetothyriales with a potential use in the bioremediation of volatile aromatic hydrocarbons. **Fungal Biology**, v. 115, n. 10, p. 1019-1029. 2011.

BAMGBOSE, I. A.; ANDERSON, T. A. Ecotoxicity of three plant-based biodiesels and diesel using, *Eisenia fetida*. **Environmental Pollution**, v. 260, p. 113965. 2020.

BAPTISTA, S. J.; CAMMAROTA, M. C.; FREIRE, D. D. C. Avaliação da bioestimulação em solos argilosos contaminados com petróleo. In: 2º Congresso brasileiro de P & D em Petróleo & Gás. Jun. Rio de Janeiro, 2003.

BEGARELLI, S.; CHICCA, I.; SIRACUSA, G.; CHINA, S. L.; GENTINI, A.; LORENZI, R.; MUNZ, G.; PETRONI, G.; LEVIN, D. B.; GREGORIO, S. D. Hydrocarbonoclastic Ascomycetes to enhance co-composting of total petroleum hydrocarbon (TPH) contaminated dredged sediments and lignocellulosic matrices. **New Biotechnology**, v. 50, p. 27-36. 2019.

BEHBUDI, G.; YOUSEFI, K.; SADEGHIPOUR, Y. Microbial Enzymes Based Technologies for Bioremediation of Pollutions. **Journal of Environmental Treatment Techniques**, v. 9, p. 463-469. 2021.

BENGUENAB, A.; CHIBANI, A. Biodegradation of petroleum hydrocarbons by filamentous fungi (*Aspergillus ustus* and *Purpureocillium lilacinum*) isolated from used engine oil contaminated soil. **Acta Ecologica Sinica**, p. 1-8. 2020.

BEZZA, F. A.; CHIRWA, E. M. N. Biosurfactant-enhanced bioremediation of aged polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) in creosote contaminated soil. **Chemosphere**, v. 144, p. 635-644. 2016.

BHATT, P.; ZHANG, W.; LIN, Z.; PANG, S.; HUANG, Y.; CHEN, S. Biodegradation of Allethrin by a Novel Fungus *Fusarium proliferatum* Strain CF2, Isolated from Contaminated Soils. **Microorganisms**, v. 8, n. 4, p. 593. 2020.

BIBI, S.; HUSSAIN, A.; HAMAYUN, M.; RAHMAN, H.; IQBAL, A.; SHAH, M.; IRSHAD, M.; QASIM, M.; ISLAM, B. Bioremediation of hexavalent chromium by endophytic fungi; safe and improved production of *Lactuca sativa* L. **Chemosphere**, v. 211, p. 653-663. 2018.

BLASI, B.; POYNTNER, C.; RUDAVSKY, T.; PRENAFETA-BOLDU, F. X.; DE HOOG, S.; TAFER, H.; STERFLINGER, K. Pathogenic Yet Environmentally Friendly?

Black Fungal Candidates for Bioremediation of Pollutants. **Geomicrobiology Journal**, v. 33, n. 3-4, p. 308- 317. 2016.

BLASI, B.; TEFER, H.; KUSTOR, C.; POYNTNER, C.; LOPANDIC, K.; STERFLINGER, K. Genomic and transcriptomic analysis of the toluene degrading black yeasts *Cladophialophora immunda*. **Scientific Reports**, v. 7, p. 11436. 2017.

BOROWIK, A.; WYSZKOWSKA, J.; OSZUST, K. Functional Diversity of Fungal Communities in Soil Contaminated with Diesel Oil. **Frontiers in Microbiology**, v. 8, p. 1862. 2017.

BOROWIK, A.; WYSZKOWSKA, J.; KUCHARSKI, M.; KUCHARSKI, J. Implications of Soil Pollution with Diesel Oil and BP Petroleum with ACTIVE Technology for Soil Health. **International Journal of Environmental Research and Public Health**, v. 16, n. 14, p. 2474. 2019.

BOSCO, F.; CASALE, A.; MAZZARINO, I.; GODIO, A.; RUFFINO, B.; MOLLEA, C.; CHIAMPO, F. Microcosm evaluation of bioaugmentation and biostimulation efficacy on diesel-contaminated soil. **Journal of Chemical Technology & Biotechnology**, v. 95, p. 904-912. 2020.

BROWN, D. M.; OKORO, S.; VAN-GILS, J.; VAN-SPANNING, R.; BONTE, M.; HUTCHINGS, T.; LINDEN, O.; EGBUCHE, U.; BRUUN, K. B.; SMITH, J. W. N. Comparison of landfarming amendments to improve bioremediation of petroleum hydrocarbons in Niger Delta soils. **Science of the Total Environment**, v. 596-597, p. 284-292. 2017.

CARNEIRO, D. A.; GARIGLIO, L. P. A biorremediação como ferramenta para a descontaminação de ambientes terrestres e aquáticos. **Revista Tecer**, v. 3, n. 4, p. 82-95. 2010.

CECI, A.; PINZARI, F.; RUSSO, F.; A. M.; GADD, G. M. Roles of saprotrophic fungi in biodegradation or transformation of organic and inorganic pollutants in co-contaminated sites. **Applied Microbiology and Biotechnology**, v. 103, p. 53-68. 2018.

CHAUDHARY, D. K.; KIM, J. New insights into bioremediation strategies for oil-contaminated soil in cold environments. **International Biodeterioration & Biodegradation**, v. 142, p. 58-72. 2019.

CHAURASIA, P. K.; BHARATI, S. L.; MANI, A. Significances of Fungi in Bioremediation of Contaminated Soil. *New and Future Developments in Microbial Biotechnology and Bioengineering*, p. 281–294. 2019.

CHEHRI, K.; HEIDARIN, E.; ZAFARI, D. Identification of *Fusarium* species isolated from crude oil contaminated soils in oil refinery in Kermanshah province. **Agricultural Biotechnology**, v. 8, n. 1, p. 67-74. 2017.

CHEN, K. F.; CHANG, Y. C.; CHIOU, W. T. Remediation of diesel-contaminated soil using in situ chemical oxidation (ISCO) and the effects of common oxidants on the



indigenous microbial community: a comparison study. **Journal of Chemical Technology & Biotechnology**, v. 91, n. 6, p. 1877-1888. 2015.

CHEN, Y. A.; LIU, P. W. G.; WHANG, L. M.; WU, Y. J.; CHENG, S. S. Effect of soil organic matter on petroleum hydrocarbon degradation in diesel/fuel oil-contaminated soil. **Journal of Bioscience and Bioengineering**, v. 129, n. 5, p. 603-612. 2020.

CHERR, G. N.; FAIRBAIRN, E.; WHITEHEAD, A. Impacts of Petroleum-Derived Pollutants on Fish Development. **Annual Review of Animal Biosciences**, v. 5, n. 1, p. 185-203. 2017.

CHISTÉ, R. C.; COSTA, E. L. N.; MONTEIRO, S. F.; MERCADANTE, A. Z. Carotenoid and phenolic compound profiles of cooked pulps of orange and yellow peach palm fruits (*Bactris gasipaes*) from the Brazilian Amazonia. **Journal of Food Composition and Analysis**, v. 99, p. 103873. 2021

COCARTA, D. M.; DUMITRU, D. M.; PESCIAROLI, L.; FELLI, M.; RADULY, B.; CROGNALE, S. Cultivable Hydrocarbonoclastic Microbial Community from Historically Polluted Soil: Tests for Consortium Development. **Soil and Sediment Contamination**, v. 28, n. 3, p. 334-345. 2019.

COSTA, G. V.; ROCHA, W. C.; FREITAS, A. D. G. Micro-organismos endofíticos encontrados no fruto da pupunheira (*Bactris gasipaes* Kunth) e seu potencial antimicrobiano. **Scientia Amazonia**, v. 8, n. 3, p. 23-27. 2019.

CUI, J.; HUANG, L.; WANG, W.; XU, P.; ZANAROLI, G.; TANG, H. Maximization of the petroleum biodegradation using a synthetic bacterial consortium based on minimal value algorithm. **International Biodeterioration & Biodegradation**, v. 150, p. 104964. 2020.

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, p. 104866. 2020.

DACCÒ, C.; NICOLA, L.; ELISABETTA, M.; TEMPORITI, E.; MANNUCCI, B.; CORANA, F.; CARPANI, G.; TOSI, S. *Trichoderma*: Evaluation of Its Degrading Abilities for the Bioremediation of Hydrocarbon Complex Mixtures. **Applied Sciences**, v. 10, n. 9, p. 1-15. 2020.

DAVID, L. K.; BODO, T.; GIMAH, B. G. Petroleum Pollution and Decrease Neuroplasticity in Brain Development of the Ogoni Children in Rivers State, Nigeria. **Journal of Advances in Medicine and Medical Research**, v. 29, n. 11, p. 1-13. 2019.

D'COSTA, A.; SHYAMA, S. K.; KUMAR, M. K. Praveen. Bioaccumulation of trace metals and total petroleum and genotoxicity responses in an edible fish population as indicators of marine pollution. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 142, p. 22-28. 2017.

DELLA-FLORA, I. K.; DUPONT, G. K.; CLERICI, N. J.; SERAFINI, C. G.; HOFFMANN, J. I.; WELTER, N.; PORTA, P. G. D.; WEBER, P. F. A review of organic biostimulation technologies for soils contaminated with oil hydrocarbons. **Brazilian Journal of Development**, v. 6, n. 9, p. 72256-72269. 2020.

DELLARETTI, E. M. Preservação de fungos em baixas temperaturas. 2014. Monografia (Graduação em Biosistemas), Universidade Federal São João Del-Rei, Sete Lagoas, 2014. Disponível em: < <https://www.ufsj.edu.br/portal2-repositorio/File/deceb/Dellaretti%202014.pdf>>. Acesso em: 8 agost. 2019.

DELSARTE, I; RAFIN, C.; MRAD, F.; VEIGNIE, E. Lipid metabolism and benzo[a]pyrene degradation by *Fusarium solani*: an unexplored potential. **Environmental Science and Pollution Research**, v. 25, n. 12, p. 12177-12182. 2018.

DENG, Z.; CAO, L. Fungal endophytes and their interactions with plants in phytoremediation: a review. **Chemosphere**, v. 168, p. 1100-1106. 2017.

D'ERRICO, G.; ALOJ, V.; FLEMATTI, G. R.; SIVASITHAMPARAM, K.; WORTH, C. M.; LOMBARDI, N.; RITIENI, A.; MARRA, R.; LORITO, M.; VINALE, F. Metabolites of a *Drechslera* sp. endophyte with potential as biocontrol and bioremediation agent. **Natural Product Research**, p. 1-9. 2020.

Empresa de Pesquisa Energética (EPE). Balanço Energético Nacional – Relatório Síntese/Ano Base 2019. 2020. Disponível em: < Publicações (epe.gov.br) >. Acesso em: 14 mar. 2021.

Environmental Protection Agency (EPA). **How to Evaluate Alternative Cleanup Technologies for Underground Storage Tank Sites: A Guide for Corrective Action Plan Reviewers**. Chapters II – Soil Vapor Extraction, III – Bioventing, V – Landfarming, IV - Biopiles, VI – Low-Temperature Thermal Desorption, VII – Air Sparging, VIII – Biosparging. 1994. Disponível em: <<https://www.epa.gov>>. Acesso em: 22 mar. 2021.

Environmental Protection Agency (EPA). **How to Evaluate Alternative Cleanup Technologies for Underground Storage Tank Sites: A Guide for Corrective Action Plan Reviewers**. Chapters XIII – Chemical Oxidation, IX – Monitored Natural Attenuation. 2004. Disponível em: <<https://www.epa.gov>>. Acesso em: 24 mar. 2021.

Environmental Protection Agency (EPA). **A Citizen's Guide to In Situ Chemical Oxidation**. 2012. Disponível em: <A Citizen's Guide to in Situ Chemical Oxidation | Technologies for Cleaning Up Contaminated Sites | US EPA>. Acesso em: 15 mar. 2021.

ERRINGTON, I.; KING, C. K.; WILKINS, D.; SPEDDING, T.; HOSE, G. C. Ecosystem effects and the management of petroleum-contaminated soils on subantarctic islands. **Chemosphere**, v. 194, p. 200-210. 2018.

ESSABRI, A. M. A.; AYDINLIK, N. P.; WILLIAMS, N. E. Bioaugmentation and Biostimulation of Total Petroleum Hydrocarbon Degradation in a Petroleum-

contaminated Soil with Fungi Isolated from Olive Oil Effluent. **Water, Air and Soil Pollution**, v. 230, p.76. 2019.

EZEKOYE, C. C.; CHIKERE, C. B.; OKPOKWASILI, G. C. Fungal diversity associated with crude oil-impacted soil undergoing in-situ bioremediation. **Sustainable Chemistry and Pharmacy**, v. 10, p. 148-152. 2018.

FAYIGA, A. O.; IPINMOROTI, M. O.; CHIRENJE, T. Environmental pollution in Africa. **Environment, Development and Sustainability**, v. 20, n. 1, p. 41-73. 2017.

FERREIRA, S. A. N. Pupunha, *Bactris gasipaes* Kunth in: I. D. K. Ferraz & J. L. C. Camargo (Eds) Manual de Sementes da Amazônia. 2005.

FIJALKOWSKI, K.; KACPRZAK, M.; BIEN, J.; JANECKA, B. The enhanced bioremediation of soils contaminated with high concentration of diesel oil. **Environmental Engineering**, p.126-133. 2008.

FRUTOS, F. J. G.; ESCOLANO, O.; GARCÍA, S.; BABÍN, M.; FERNÁNDEZ, M. D. Bioventing remediation and ecotoxicity evaluation of phenanthrene-contaminated soil. **Journal of Hazardous Materials**, v. 183, n. 1-3, p. 806-813. 2010.

GAYLARDE, C. C.; BELLINASSO, M. L.; MANFIO, G. P. Aspectos biológicos e técnicos da biorremediação de xenobióticos. **Biotecnologia Ciência & Desenvolvimento**, n. 34, p. 36-43. 2005.

GERALDO, M. R.; MARANHO, L. T. Otimização da degradação de petróleo em solo contaminado a partir da associação de consórcio bacteriano imobilizado e planta fitorremediadora. Monografia (graduação em Ciências Biológicas) – Setor de Ciências Biológicas e da Saúde, Universidade Positivo, Curitiba, 2018.

GERALDO, M. R.; MARANHO, L. T. Imobilização de consórcio de bactérias degradadoras de petróleo obtidas da rizosfera de *Panicum aquaticum* Poir., Poaceae. **Brazilian Journal of Development**, v. 6, n. 7, p. 45816-45830. 2020.

GIELNIK, A.; PECHAUD, Y.; HUGUENOT, D.; CÉBRON, A.; ESPOSITO, G.; VAN HULLEBUSCH, E. D. Bacterial seeding potential of digestate in bioremediation of diesel contaminated soil. **International Biodeterioration & Biodegradation**, v. 143, p. 104715. 2019.

GLUYAS, J. G.; SWARBRICK, R. E. **Petroleum Geoscience**. Oxford: John Wiley & Sons, 2004.

GOLANI, M.; HAJELA, K. Bioremediation of Diesel Oil Contaminated Soil by a Novel Isolated Potential Oil Degrading *Staphylococcus argentus* MG2 Bacteria Using Biostimulation Method. **Nature Environment and Pollution Technology**, v. 19, n. 4, p.1567-1576. 2020.

GOMES, R. R.; VICENTE, V. A.; AZEVEDO, C. M. P. S.; SALGADO, C. G.; SILVA, M. B.; QUEIROZ-TELLES, F.; MARQUES, S. G.; SANTOS, D. W. C. L.; ANDRADE, T. S.; TAKAGI, E. H.; CRUZ, K. S.; FORNARI, G.; HAHN, R. C.; SCROFERNEKER,

M. L.; CALIGNE, R. B.; RAMIREZ-CASTRILLON, M.; ARAÚJO, D. P.; HEIDRICH, D.; COLOMBO, A. L.; DE HOOG, G. S. Molecular epidemiology of agents of human chromoblastomycosis in Brazil with the description of two novel species. **PLOS Neglected Tropical Diseases**, p. 1-20. 2016.

GOMEZ, F.; SARTAJ, M. Optimization of field scale biopiles for bioremediation of petroleum hydrocarbon contaminated soil at low temperature conditions by response surface methodology (RSM). **International Biodeterioration & Biodegradation**, v. 89, p. 103-109. 2014.

GOSPODAREK, J.; KOLOCZEK, P. P.; RUSIN, M. The effect of soil pollution with petroleum-derived substances on *Porcellio scaber* Latr. (Crustacea, Isopoda). **Environmental Monitoring and Assessment**, v. 191, p. 38. 2019.

GUO, Y.; WEN, Z.; ZHANG, C.; JAKADA, H. Contamination and natural attenuation characteristics of petroleum hydrocarbons in a fractured karst aquifer, North China. **Environmental Science and Pollution Research**, v. 27, n. 18, p. 22780-22794. 2020.

HAMMAMI, H.; ALAIE, E.; DASTGHEIB, S. M. M. The ability of *Silybum marianum* to phytoremediate cadmium and/or diesel oil from the soil. **International Journal of Phytoremediation**, v. 20, n. 8, p. 756-763. 2018.

HANSON, K. G.; DESAI, J. D.; DESAI, A. J. A rapid and simple screening technique for potential crude oil degrading microorganisms. **Biotechnology Techniques**, v. 7, n. 10, p. 745-748. 1993.

HATZINGER, P. B.; LIPPINCOTT, D. R. Field demonstration of N-Nitrosodimethylamine (NDMA) treatment in groundwater using propane biosparging. **Water Research**, v. 164, p. 114923. 2019.

HE, W.; MEGHARAJ, M.; WU, C. Y.; SUBASHCHANDRABOSE, S. R.; DAI, C. C. Endophyte-assisted phytoremediation: mechanisms and current application strategies for soil mixed pollutants. **Critical Reviews in Biotechnology**, v. 40, n. 1, p. 31-45. 2019.

HERNÁNDEZ-ADAME, N. M.; LÓPEZ-MIRANDA, J.; MARTÍNEZ-PRADO, M. A.; CUEVA, S. C. D. L.; ROJAS-CONTRERAS, J. A.; MEDRANO-ROLDÁN, H. Increase in Total Petroleum Hydrocarbons Removal Rate in Contaminated Mining Soil Through Bioaugmentation with Autochthonous Fungi During the Slow Bioremediation Stage. **Water, Air and Soil Pollution**, v. 232, p. 95. 2021.

HIDAYAT, A.; TACHIBANA, S. Biodegradation of Aliphatic Hydrocarbon in Three Types of Crude Oil by *Fusarium* sp. F092 under Stress with Artificial Sea Water. **Journal of Environmental Science and Technology**, v. 5, n. 1, p. 64-73. 2011.

HIDAYAT, A.; TACHIBANA, S. Crude Oil and n-Octadecane Degradation under Saline Conditions by *Fusarium* sp., F092. **Journal of Environmental Science and Technology**, v. 6, n. 1, p. 29-40. 2012.

HOOG, G. S.; ZENG, J. S.; HARRAK, M. J.; SUTTON, D. A. *Exophiala xenobiotica* sp. nov., an opportunistic black yeast inhabiting environments rich in hydrocarbons. **Antonie van Leeuwenhoek**, v. 90, n. 3, p. 257-268. 2006.

HUJSLOVÁ, M.; BYSTRIANSKÝ, L.; BENADA, O.; GRYNDLER, M. Fungi, a neglected component of acidophilic biofilms: do they have a potential for biotechnology? **Extremophiles**, v. 23, p. 267-275. 2019.

IDE-PÉREZ, M. R.; FERNÁNDEZ-LÓPEZ, M. G.; SÁNCHEZ-REYES, A.; LEIJA, A.; BATISTA-GARCÍA, R. A.; FOLCH-MALLOL, J. L.; SÁNCHEZ-CARBENTE, M. D. R. Aromatic Hydrocarbon Removal by Novel Extremotolerant *Exophiala* and *Rhodotorula* spp. from an Oil Polluted Site in Mexico. **Journal of Fungi**, v. 6, n. 3, p. 135. 2020.

IDRIS; RAMADHANI, I.; KANTI, A.; SUDIANA, I. M. Screening of potential lignin-degrading fungi from the tropical forest for lignocellulose biotreatment. **Earth and Environmental Science**, v. 308, p.1-17. 2014.

Interstate Technology & Regulatory Council (ITRC). **Phytotechnology Technical and Regulatory Guidance and Decision Trees, Revised**. 2009. Disponível em: <Phytotechnology Technical and Regulatory Guidance and Decision Trees, Revised (itrcweb.org)>. Acesso em: 15 mar. 2021.

ISOLA, D.; SELBMANN, L.; DE HOOG, G. S.; FENICE, M.; ONOFRI, S.; PRENAFETA-BOLDU; F. X.; ZUCCONI, L. Isolation and Screening of Black Fungi as Degraders of Volatile Aromatic Hydrocarbons. **Mycopathologia**, v. 175, n. 5-6, p. 369-37. 2013.

ISLAM, N. F. Bioprospecting fungal diversity from crude oil infiltrate soil of Assam, India's Northeast. **Tropical Plant Research**, v. 4, n. 1, p. 319-329. 2017.

IZDEBSKA-MUCHA, D.; TRZCIŃSKI, J. Effects of petroleum pollution on clay soil microstructure. **Geologija**, v. 50, n. 3, p. 69-75. 2008.

JABBAR, N. M.; KADHIM, E. H.; MOHAMMED, A. K. Bioremediation of Soil Contaminated with Diesel using Biopile system. **Al-Khwarizmi Engineering Journal**, v. 14, n. 3, p. 48-56. 2018.

JACQUES, R. J. S.; BENTO, F. M.; ANTONIOLLI, Z. I.; CAMARGO, F. A. O. Biodegradação de hidrocarbonetos aromáticos policíclicos. **Ciência e Natura**, v. 29, n. 1, p. 7-24. 2007.

KAO, C. M.; CHEN, C. Y.; CHEN, S. C.; CHIEN, H. Y.; CHEN, Y. L. Application of in situ biosparging to remediate a petroleum-hydrocarbon spill site: field and microbial evaluation. **Chemosphere**, v. 70, n. 8, p. 1492-1499. 2008.

KARIGAR, C. S.; RAO, S. S. Role of Microbial Enzymes in the Bioremediation of Pollutants: A Review. **Enzyme Research**, p. 1-11. 2011.

KATOH, K.; TOH, H. Recent developments in the MAFFT multiple sequence alignment program. **Briefings in Bioinformatics**, v. 9, n. 4, p. 286-298. 2008.

KHALID, F. E.; LIM, Z. S.; SABRI, S.; GOMEZ-FUENTES, C.; ZULKHARNAIN, A.; AHMAD, S. A. Bioremediation of Diesel Contaminated Marine Water by Bacteria: a review and bibliometric analysis. **Journal of Marine Science and Engineering**, v. 9, n. 2, p. 155. 2021.

KHEIRKHAH, T.; HEJAZI, P.; RAHIMI, A. Effects of utilizing sawdust on non-ligninolytic degradation of high concentration of n-hexadecane by white-rot fungi: kinetic analysis of solid-phase bioremediation. **Environmental Technology & Innovation**, v. 19, p. 100887. 2020.

KOLEVA-VALKOVA, L.; PETROV, V.; HARIZANOVA, A.; MARINKOV, K., SEVOV, A., VASSILEV, A. Microalgae effects on the photosynthetic performance and growth parameters of barley grown on soil contaminated with petroleum products. **Scientific Papers**, v. 63, n. 2, p. 277-283.2020.

KOSHLAF, E.; BALL, A. S. Soil bioremediation approaches for petroleum hydrocarbon polluted environments. **Aims Microbiology**, v. 3, n. 1, p. 25-49. 2017.

KOTTB, M. R.; EL-AGROUDY, N.A.; ALI, A. A. E.; HAMED, M. A.; EL-DIN, H. M. E. Biodegradation of Some Petroleum Hydrocarbons by Fungi Isolated from Gulf of Suez. **Catrina**, v. 18, n. 1, p. 169-175. 2019.

KUMAR, S.; STECHER, G.; TAMURA, K. MEGA7: molecular evolutionary genetics analysis version 7.0 for bigger datasets. **Molecular Biology and Evolution**, v. 33, n. 7, p. 1870-1874. 2016.

KUMAR, V.; SONI, R.; JAIN, L.; DASH, B.; GOEL, R. Endophytic Fungi: Recent Advances in Identification and Explorations. Springer, 2019.

KWAJI, M. J.; AHMADU, M. O.; AYOADE, B. D.; CYPRIAN, O. I.; IGHODAYE, J. O. O. Bioremediation of Hydrocarbons from Kaduna Refining and Petrochemical Company Effluents Using *Cladosporium*. **Applied Microbiology Open Access**, v. 6, n. 1, p. 1-6. 2020.

LABIANCA, C.; GISI, S.; PICARDI, F.; TODARO, F.; NOTARNICOLA, M. Remediation of a Petroleum Hydrocarbon-Contaminated Site by Soil Vapor Extraction: a full-scale case study. **Applied Sciences**, v. 10, n. 12, p. 4261. 2020.

LEAL, A. J., RODRIGUES, E. M., FERNANDES, R. C. R., BORGES, A. C., JULIO, A. D. L., FREITAS, F.S.; TOTOLA, M. R. Microbial Inoculants Development for Bioremediation of Gasoline and Diesel Contaminated Soil. **Open Access Library Journal**, v. 5, p. e4449. 2018.

LIU, S. H.; ZENG, G. M.; NIU, Q.Y.; LIU, Y.; ZHOU, L., JIANG, L. H.; TAN, X. F.; XU, P.; ZHANG, C.; CHENG, M. Bioremediation mechanisms of combined pollution of PAHs and heavy metals by bacteria and fungi: A mini review. **Bioresource Technology**, v. 224, p. 25–33. 2017.

LÓPEZ, A. M. Q.; SILVA, A. L. S.; SANTOS, E. C. L. The fungal ability for biobleaching/biopulping/bioremediation of lignin-like compounds of agro-industrial raw material. **Química Nova**, v. 40, n. 8, p. 916-931. 2017.

LOSS, E. M. O.; YU, J. H. Bioremediation and microbial metabolism of benzo(a)pyrene. **Molecular Microbiology**, v. 109, n. 4, p. 433-444. 2018.

LV, H.; SU, X.; WANG, Y.; DAI, Z.; LIU, M. Effectiveness and mechanism of natural attenuation at a petroleum-hydrocarbon contaminated site. **Chemosphere**, v. 206, p. 293-301. 2018.

MAAMAR, A.; LUCCHESI, M. E.; DEBAETS, S.; VAN LONG, N. N.; QUEMENER, M.; COTON, E.; BOUDERBALA, M.; BURGAUD, G.; MATALLAH-BOUTIBA, A. Highlighting the Crude Oil Bioremediation Potential of Marine Fungi Isolated from the Port of Oran (Algeria). **Diversity**, v. 12, n. 5, p. 196. 2020.

MANOHARACHARY, C.; KUNWAR, I. K.; RAJITHASRI, A. B. Advances in applied mycology and fungal biotechnology. **Kavaka**, v. 43, p. 79-92. 2014.

MARIANO, A. D.; TOMASELLA, R. C.; OLIVEIRA, L. M.; CONTIERO, J.; ANGELIS, D. F. Biodegradability of diesel and biodiesel blends. **African Journal of Biotechnology**, v. 7, n. 9, p. 1323-1328. 2008.

MARTINS, S. S. S.; AZEVEDO, M. O.; SILVA, M. P.; SILVA, V. P. Produção de petróleo e impactos ambientais: algumas considerações. **Holos**, v. 6, p. 54-76. 2015.  
MASALU, R. J. Ligninolytic enzymes of the fungus isolated from soil contaminated with cow dung. **Tanzania Journal of Science**, v. 42, p. 84-92. 2016.

MARIĆ, N.; MATIĆ, I.; PAPIĆ, P.; BEŠKOSKI, V. P.; ILIĆ, M.; GOJGIĆ-CVIJOVIĆ, G.; MILETIĆ, S.; NIKIĆ, Z.; VRVIĆ, M. M. Natural attenuation of petroleum hydrocarbons-a study of biodegradation effects in groundwater (Vitanovac, Serbia). **Environmental Monitoring and Assessment**, v. 190, n. 2, p.89. 2018.

MATHEW, R. A.; ABRAHAM, M. Bioremediation of diesel oil in marine environment. **Oil & Gas Science and Technology – Revue D'ifp Energies Nouvelles**, v. 75, p. 60. 2020.

MCKEW, B. A.; COULON, F.; OSBORN, A. M.; TIMMIS, K. N.; MCGENITY, Terry J. Determining the identity and roles of oil-metabolizing marine bacteria from the Thames estuary, UK. **Environmental Microbiology**, v. 9, n. 1, p. 165-176. 2007.

MEJÍA, P. V. L.; ANDREOLI, F. N.; ANDREOLI, C. V.; SERRAT, B. M. Metodologia para Seleção de Técnica de Fitorremediação em Áreas Contaminadas. **Revista Brasileira de Ciências Ambientais**, n. 31, p. 97-104. 2014.

MELO, I. S.; AZEVEDO, J. L. Microbiologia ambiental. Jaguariúna: Embrapa Meio Ambiente, 2008. 647 p.

MEMIĆ, M.; VRTAČNIK, M.; BOH, B.; POHLEVEN, F.; MAHMUTOVIĆ, O. Biodegradation of PAHs by Ligninolytic Fungi *Hypoxylon fragiforme* and *Coniophora puteana*. **Polycyclic Aromatic Compounds**, v. 40, n. 2, p. 206-213. 2017.

MESQUITA, L. M. S.; VENTURA, S. P. M.; BRAGA, A. R. C.; PISANI, L. P.; DIAS, Ana C. R. V.; ROSSO, V. V. Ionic liquid-high performance extractive approach to recover carotenoids from *Bactris gasipaes* fruits. **Green Chemistry**, v. 21, n. 9, p. 2380-2391. 2019.

MMOM, P. C.; DEEKOR, T. Assessing the Effectiveness of Land farming in the Remediation of Hydrocarbon Polluted Soils in the Niger Delta, Nigeria. **Research Journal of Applied Sciences, Engineering and Technology**, v. 2, n. 7, p. 654-660. 2010.

MOHAMMADIAN, E.; ARZANLOU, M.; BABAI-AHARI, A. Diversity of culturable fungi inhabiting petroleum-contaminated soils in Southern Iran. **Antonie van Leeuwenhoek**, v. 110, n. 7, p. 903-923. 2017.

MOHAMMADI-SICHANI, M.; MAZAHARI ASSADI, M.; FARAZMAND, A.; KIANIRAD, M.; AHADI, A. M.; HADIAN-GHAHDRIJANI, H. Bioremediation of soil contaminated crude oil by *Agaricomycetes*. **Journal of Environmental Health Science and Engineering**, v. 15, p. 1-6. 2017.

MOHAMMADI-SICHANI, M.; MAZAHARI ASSADI, M.; FARAZMAND, A.; KIANIRAD, M.; AHADI, A. M.; HADIAN-GHAHDRIJANI, H. Ability of *Agaricus bisporus*, *Pleurotus ostreatus* and *Ganoderma lucidum* compost in biodegradation of petroleum hydrocarbon-contaminated soil. **International Journal of Environmental Science and Technology**, v. 16, p. 2313-2320. 2018.

MOSCO, M. J.; ZYTNER, R. G. Large-scale bioventing degradation rates of petroleum hydrocarbons and determination of scale-up factors. **Bioremediation Journal**, v. 21, n. 3-4, p. 149-162. 2017.

MOSTAFA, A. A.; HAFEZ, R. M.; HEGAZY, A. K.; FATTAH, A. M. Abd-El; MOHAMED, N. H.; MUSTAFA, Y. M.; GOBOURI, A. A.; AZAB, E. Variations of Structural and Functional Traits of *Azolla pinnata* R. Br. in Response to Crude Oil Pollution in Arid Regions. **Sustainability**, v. 13, n. 4, p. 2142. 2021.

NAAMA, J. H.; ALHUSAINY, N. A. Bioremediation of diesel by soil for fungi. **Pakistan Journal of Biotechnology**, v. 15, n.1, p. 321-331. 2018.

NASCIMENTO, M. F. N. Ecologia molecular de leveduras negras. Dissertação de mestrado. Universidade Federal do Paraná. 2013.

NASCIMENTO, M. F. N. Chaetothyriales: Biodiversity, Infective ability and Biotechnological potential. Tese de doutorado. Universidade Federal do Paraná. 2017.

NAZIFA, T. H.; AHMAD, M. A. B.; HADIBARATA, T.; SALMIATI; ARIS, A. Bioremediation of Diesel Oil Spill by Filamentous Fungus *Trichoderma reesei* H002 in Aquatic Environment. **Innovations in Civil Engineering**, v. 10, n. 9, p. 103-107. 2018.



NERIAH, A. B.; PASTER, A. Enhancing Groundwater Remediation in Air Sparging by Changing the Pulse Duration. **Groundwater Monitoring & Remediation**, v. 39, n. 1, p. 43-53. 2018.

NERO, B. F. Phytoremediation of petroleum hydrocarbon-contaminated soils with two plant species: *Jatropha curcas* and *Vetiveria zizanioides* at Ghana manganese company ltd. **International Journal of Phytoremediation**, v. 23, n. 2, p. 171-180. 2020.

NETO, P. Q. C. **Isolamento e identificação de fungos endofíticos da pupunha (*Bactris gasipaes* Kunth) e caracterização por marcadores moleculares**. 2002. Dissertação (Mestrado em Genética e Evolução) – Universidade Federal de São Carlos, São Carlos (SP), 2002. Disponível em: <https://repositorio.ufscar.br/handle/ufscar/5450>. Acesso em: 4 abr. 2021.

NEVES, E. J. M.; SANTOS, A. F.; MARTINS, E. G.; RODIGHIERI, H. R.; BELLETTINI, S.; JÚNIOR, C. C. **Manejo de Pupunheira (*Bactris gasipaes* Kunth) para Palmito em Áreas sem Restrições Hídricas**. Colombo: Circular Técnica, 2004.

NKEREUWEM, M. E.; FAGBOLA, O.; OKON, I. E.; ADELEYE, A. O.; NZAMOUHE, M. Bioremediation potential of mycorrhiza fungi in crude oil contaminated soil planted with *Costus lucanusianus*. **Amazonian Journal of Plant Research**, v. 4, n. 1, p. 441-455. 2020.

NWAICHI, E. O.; CHUKWUERE, C. O.; ABOSI, P.J.; ONUKWURU, G. I. Phytoremediation of Crude Oil Impacted Soil Using Purple Nutsedge. **Journal of Applied Sciences and Environmental Management**, v. 25, n. 3, p. 475-479. 2021.

NWANKWEGU, A. S.; ORJI, M. U.; ONWOSI, C. O. Studies on organic and inorganic biostimulants in bioremediation of diesel-contaminated arable soil. **Chemosphere**, v. 162, p. 148-156. 2016.

NWANKWEGU, A. S.; ONWOSI, C. O. Bioremediation of gasoline contaminated agricultural soil by bioaugmentation. **Environmental Technology & Innovation**, v. 7, p. 1-11. 2017.

OBI, L.; ATAGANA, H.; ADELEKE, R.; MAILA, M.; BAMUZA-PEMU, E. Potential microbial drivers of biodegradation of polycyclic aromatic hydrocarbons in crude oil sludge using a composting technique. **Journal of Chemical Technology & Biotechnology**, v. 95, n. 5, p. 1569-1579. 2020.

OBUKOHWO, K.; VANTSAWA, P. A.; DIBAL, D. M.; IJAH, U. J. J.; ONWUMERE, G. B.; NDIBE, T. O. Screening of Fungi Isolates from Kaduna Refinery Effluent and Romi River and Their Potential for Bioremediation. **Journal of Applied Sciences and Environmental Management**, v. 24, n. 9, p. 1655-1662. 2020.

ODIYI, B. O.; GIWA, G. O.; ABIYA, S. E.; BABATUNDE, O. S. Effects of crude oil pollution on the morphology, growth and heavy metal content of maize (*Zea mays*

Linn.). **Journal of Applied Sciences and Environmental Management**, v. 24, n. 1, p. 119. 2020.

OJO, B. O. I.; SRIDHAR, M. K. C. Phytoremediation potential of *Nauclea diderrichii* (De Wild and Th. Dur.) seedlings grown in spent engine oil contaminated soil. **Bangladesh Journal of Scientific and Industrial Research**, v. 55, n. 4, p. 261-272. 2020.

OKONOFUA, E. S.; LASISI, K. H.; ATIKPO, E. Factorial design study of total petroleum contaminated soil treatment using land farming technique. **Sustainable Environment Research**, v. 31, n. 5, p. 1-13. 2021.

OLIVEIRA, K. M.; BOAS, E. V.; BONETT, L. P.; JÚNIOR, E. L. C.; BERNARDI-WENZEL, J. Isolamento e atividade antibacteriana de fungos endofíticos de *Piper glabratum* Kunth. **Arq. Cienc. Saúde UNIPAR**, Umuarama, v. 19, n. 1, p. 3-9. 2015.

OLIVEIRA, L. M.; LOPES, P. R. M.; BIDOIA, E. D.; CONTIERO, J. Biodegradação de óleo lubrificante automotivo usado pela aplicação de surfactante químico e biosurfactante produzido por *Pseudomonas aeruginosa*. **Revista Acadêmica Oswaldo Cruz**, n. 1, p. 1-13. 2014.

OLIVIA, L. C.; MINERVA, G. C.; ROCÍO, P. J.; JOSÉ, M. P. F. Assessment of biopiles treatment on polluted soils by the use of *Eisenia andrei* bioassay. **Environmental Pollution**, v. 275, p. 116642. 2021.

OMOSIOWHO, U. E. Comparative analysis of composting and landfarming as bioremediation techniques in hydrocarbon degradation. **International Journal of Science**, v. 3, n. 6, p. 1977-1995. 2014.

OSTOVAR, M.; GHIASSI, R.; MEHDIZADEH, M. J.; SHARIATMADARI, N. Effects of Crude Oil on Geotechnical Specification of Sandy Soils. **Soil and Sediment Contamination: An International Journal**, v. 30, n. 1, p. 58-73. 2020.

OYIBO, J. N.; WEGWU, M. O.; UWAKWE, A. A.; OSUOHA, J. O. Analysis of total petroleum hydrocarbons, polycyclic aromatic hydrocarbons and risk assessment of heavy metals in some selected finfishes at Forcados Terminal, Delta State, Nigeria. **Environmental Nanotechnology, Monitoring & Management**, v. 9, p. 128-135. 2018.

PARK, G.; SHIN, H. S.; KO, S. O. A Laboratory and Pilot Study of Thermally Enhanced Soil Vapor Extraction Method for the Removal of Semi-Volatile Organic Contaminants. **Journal Of Environmental Science and Health, Part A**, v. 40, n. 4, p. 881-897. 2005.

PIETRO-SOUZA, W.; PEREIRA, F. C.; MELLO, I. S.; STACHACK, F. F. F.; TEREZO, A. J.; CUNHA, C. N.; WHITE, J. F.; LI, H.; SOARES, M. A. Mercury resistance and bioremediation mediated by endophytic fungi. **Chemosphere**, v. 240, p. 124874. 2020.

PILON-SMITS, E. PHYTOREMEDIATION. **Annual Review of Plant Biology**, v. 56, n. 1, p. 15-39. 2005.

POINTING, S. Qualitative methods for the determination of lignocellulolytic enzyme production by tropical fungi. **Fungal Diversity**, v. 2, p. 17-33. 1999.

POINTING, S. B.; PELLING, A. L.; SMITH, G. J. D.; HYDE, K. D.; REDDY, C. A. Screening of basidiomycetes and xylariaceous fungi for lignin peroxidase and laccase gene-specific sequences. **Mycological Research**, v. 109, n. 1, p. 115-124. 2005.

POSTEN, C. H.; COONEY, C. L. Growth of microorganisms. **Biotechnology**, p. 111-162. 1993.

POYNTNER, C.; BLASI, B.; PRENAFETA, F.; STERFLINGER, K. Screening of extremotolerant fungi for the bioremediation of hydrocarbon contaminated sites. **Geophysical Research Abstracts**, v. 17. 2015.

PRENAFETA-BOLDÚ, F. X.; BALLERSTEDT, H.; GERRITSE, J.; GROTENHUIS, J. T. C. Bioremediation of BTEX hydrocarbons: Effect of soil inoculation with the toluene-growing fungus *Cladophialophora* sp. strain T1. **Biodegradation**, v. 15, p. 59-65. 2004.

PRENAFETA-BOLDU, F. X.; ROCA, N.; VILLATORO, C.; VERA, L.; DE HOOG, G. S. Prospective application of melanized fungi for the biofiltration of indoor air in closed bioregenerative systems. **Journal of Hazardous Materials**, v. 361, p. 1-9. 2018.

RADWAN, O.; RUIZ, O. N. Black Yeasts Genomes Assembled from Plastic Fabric Metagenomes Reveal an Abundance of Hydrocarbon Degradation Genes. **Microbiology Resource Announcements**, v. 10, n. 14. 2021.

RAJENDRAN, R. K.; LIN, C. C.; HUANG, S. L.; KIRSCHNER, R. Enrichment, isolation, and biodegradation potential of long-branched chain alkylphenol degrading non-ligninolytic fungi from wastewater. **Marine Pollution Bulletin**, v. 125, n. 1-2, p. 416-425. 2017.

ROMAULD, S. I.; VENKATARAGHAVAN, R.; YUVARAJ, D.; DEVI, V. I.; HASHIKA, S. Mycoremediation of Hydrocarbon and its products using *Fusarium oxysporum*. **Research Journal of Pharmacy and Technology**, v. 12, n. 9, p. 4216. 2019.

ROMERO-SILVA, R.; SÁNCHEZ-REYES, A.; DÍAZ-RODRÍGUEZ, Y.; BATISTA-GARCÍA, R. A.; HERNÁNDEZ-HERNÁNDEZ, D.; ROBLES, J. T. Bioremediation of soils contaminated with petroleum solid wastes and drill cuttings *Pleurotus* sp. strains under different treatment scales. **BioRxiv**. 2019.

ROY, A.; DUTTA, A.; PAL, S.; GUPTA, A.; SARKAR, J.; CHATTERJEE, A.; SAHA, A.; SARKAR, P.; SAR, P.; KAZY, S. K. Biostimulation and bioaugmentation of native microbial community accelerated bioremediation of oil refinery sludge. **Bioresource Technology**, v. 253, p. 22-32. 2018.

SAWANT, A.; RODRIGUES, B. F. Biodegradation of residual petroleum hydrocarbons by using fungal endophytes from the mangrove ecosystem. **Journal of Advanced Scientific Research**, v. 11, n. 4, p. 257-264. 2020.

SCHULZ, B.; BOYLE, C.; DRAEGER, S.; RÖMMERT, A. K.; KROHN, K. Endophytic fungi: a source of novel biologically active secondary metabolites. **Mycological Research**, v. 106, n. 9, p. 996-1004. 2002.

SEYEDMOUSAVI, S.; BADALI, H.; CHLEBICKI, A.; ZHAO, J.; PRENAFETA-BOLDU, F. X.; DE HOOG, G. S. *Exophiala sideris*, a novel black yeast isolated from environments polluted with toxic alkyl benzenes and arsenic. **Fungal Biology**, v. 115, n. 10, p. 1030-1037. 2011.

SHOME, R. Role of microbial enzymes in Bioremediation. **eLifePress**, v. 1, p. 15-20. 2020.

SILVA, E. M.; PESO-AGUIAR, M. C.; NAVARRO, M. F. T.; CHASTINET, C. B. A. Impact of petroleum pollution on aquatic coastal ecosystems in Brazil. **Environmental Toxicology and Chemistry**, v. 16, n. 1, p. 112-118. 1997.

SING, N. N.; ZULKHARNAIN, A.; ROSLAN, H. A.; ASSIM, Z.; HUSAINI, A. Bioremediation of PCP by *Trichoderma* and *Cunninghamella* Strains Isolated from Sawdust. **Brazilian Archives of Biology and Technology**, v. 57, n. 6, p. 811-820. 2014.

SOLDI, E.; CASEY, C.; MURPHY, B. R.; HODKINSON, T. R. Fungal Endophytes for Grass Based Bioremediation: an endophytic consortium isolated from agrostis stolonifera stimulates the growth of *Festuca arundinacea* in lead contaminated soil. **Journal of Fungi**, v. 6, n. 4, p. 254. 2020.

SOUZA, C. S.; MIRANDA, R. C. M.; DE SENA, K. X. F. R, ARAÚJO, J. M.; CHIAPPETA, A. A.; SOUSA, M. F. V. Q. Isolamento e seleção de micro-organismos degradadores de derivados de petróleo. In: 3º Congresso Brasileiro de P & D em Petróleo e Gás. Salvador, p. 1-7. 2005.

SOUZA, D. B.; BRITO, G. C. B.; VASCONCELOS, F. C. W.; BRAGA, L. C. Estudo de micro-organismos presentes em uma área contaminada por gasolina comercial. **Revista de Estudos Ambientais**, v. 12, n. 2, p. 38-46. 2010.

SOUZA, H. M. L.; BARRETO, L. R.; MOTA, A. J.; OLIVEIRA, L. A.; BARROSO, H. S.; ZANOTTO, S. P. Tolerance to Polycyclic Aromatic Hydrocarbons (PAHs) by filamentous fungi isolated from contaminated sediment in the Amazon region. **Acta Scientiarum. Biological Sciences**, v. 39, n. 4, p. 481. 2017.

SRIVASTAVA, S.; KUMAR, M. Biodegradation of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons (PAHs): A Sustainable Approach. **Sustainable Green Technologies for Environmental Management**, p. 111-139. 2019.

STELIGA, T.; KLUK, D. Application of *Festuca arundinacea* in phytoremediation of soils contaminated with Pb, Ni, Cd and petroleum hydrocarbons. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 194, p. 110409. 2020.

STERFLINGER, K. *Black Yeasts and Meristematic Fungi: Ecology, Diversity and Identification*. Springer, 2006.

STOKES, C. E. **Effects of *in-situ* biosparging on pentachlorophenol (PCP) degradation and bacterial communities in PCP**. 2011. Tese (Doutorado em Recursos Florestais – Departamento de Produtos Florestais, Universidade Estadual do Mississippi (Mississippi), 2011. Disponível em: <https://ir.library.msstate.edu/handle/11668/17839>. Acesso em: 15 abr. 2021.

STONE, J. K.; POLISHOOK, J. D.; WHITE, J. F. *Biodiversity of Fungi: Endophytic Fungi*. Elsevier Academic press, 2004.

STROBEL, G.; DAISY, B. Bioprospecting for Microbial Endophytes and Their Natural Products. **Microbiology and Molecular Biology Reviews**, v. 67, n. 4, p. 491-502. 2003.

SUN, S.; SHI, W.; TANG, Y.; HAN, Y.; DU, X.; ZHOU, W.; HU, Y.; ZHOU, C.; LIU, G. Immunotoxicity of petroleum hydrocarbons and microplastics alone or in combination to a bivalve species: synergic impacts and potential toxication mechanisms. **Science of the Total Environment**, v. 728, p. 138852. 2020.

SURYANARAYANAN, T. S.; THIRUNAVUKKARASU, N.; GOVINDARAJULU, M. B.; SASSE, F.; JANSEN, R.; MURALI, T. S. Fungal endophytes and bioprospecting. **British Mycological Society**, v. 23, p. 9-19. 2009.

TADROS, A. F. F. Environmental aspects of petroleum storage in above ground tank. **E3S Web of Conferences**, v. 166, p. 01006. 2020.

TOGHUEO, R. M. K.; ZABALGOGEAZCOA, I.; ALDANA, B. R. V.; BOYOM, F. F. Enzymatic activity of endophytic fungi from the medicinal plants *Terminalia catappa*, *Terminalia mantaly* and *Cananga odorata*. **South Africa Journal Botany**, v. 109, p. 146-153. 2017.

TOLMASQUIM, M. T.; GUERREIRO, A.; GORINI, R. Matriz Energética Brasileira. **Novos Estudos**, v. 79, p. 47-69. 2007.

TRIPATHI, P.; SINGH, P. C.; MISHRA, A.; CHAUHAN, P. S.; DWIVEDI, S.; BAIS, R. T.; TRIPATHI, R. D. *Trichoderma*: a potential bioremediator for environmental clean up. **Clean Technologies and Environmental Policy**, v. 15, p. 541-550. 2013.

TURNER, N. R.; RENEGAR, D. A. Petroleum hydrocarbon toxicity to corals: a review. **Marine Pollution Bulletin**, v. 119, n. 2, p. 1-16. 2017.

USMAN, M.; FAURE, P.; HANNA, K.; ABDELMOULA, M.; RUBY, C. Application of magnetite catalyzed chemical oxidation (Fenton-like and persulfate) for the remediation of oil hydrocarbon contamination. **Fuel**, v. 96, p. 270-276. 2012.

VICENTE, V. A.; ATTILI-ANGELIS, D.; PIE, M.R.; QUEIROZ-TELLES, F.; CRUZ, L. M.; NAJAFZADEH, M. J.; HOOG, G. S.; ZHAO, J.; PIZZIRANI-KLEINER, A. Environmental isolation of black yeast-like fungi involved in human infection. **Studies In Mycology**, v. 61, p. 137-144, 2008.

VIRK, V.; DEEPAK, H.; TANEJA, K. Endophytic Fungi: Futuristic tool for bioremediation. **Journal of Natural Remedies**, v. 21, n. 12, p. 20-34. 2021.

VOGLMAYR, H.; MAYER, V.; MASCHWITZ, U.; MOOG, J.; DJIETO-LORDON, C.; BLATRIX, R. The diversity of ant-associated black yeasts: insights into a newly discovered world of symbiotic interactions. **Fungal Biology**, v. 115, n. 10, p. 1077-1091. 2011.

VOIDALESKI, M. F. **Bioprospeção de *Fonsecaea pedrosoi* em amostras ambientais por amplificação em círculo rolante (RCA)**. 2018. Dissertação (Mestrado em Microbiologia, Parasitologia e Patologia) – Setor de Ciências Biológicas, Universidade Federal do Paraná, Curitiba (PR), 2018. Disponível em: <https://www.prppg.ufpr.br/signa/visitante/trabalhoConclusaoWS?idpessoal=42099&idpograma=40001016044P0&anobase=2018&idtc=1366>. Acesso em: 10 abr. 2021.

WANG, Y.; FENG, G.; LI, H.; DU, L.; ZENG, D. Biodegradation of 4-chloro-2-methylphenoxyacetic acid by endophytic fungus *Phomopsis* sp. in liquid medium and soil. **Applied Ecology and Environmental Research**, v. 19, n. 2, p. 1295-1307. 2021.

WEI, Y.; HAN, J.; WANG, Y.; WANG, H.; SUN, Y.; YAN, B. Effects of Oil Pollution on Water Movement in Soils with Different Textures. **Water, Air and Soil Pollution**, v. 231, p. 148. 2020.

WIEDEMEIER, T. H.; RIFAI, H. S.; NEWELL, C. J.; WILSON, J. T. Natural Attenuation of Fuels and Chlorinated Solvents in the Subsurface. John Wiley & Sons Ltda. 1999.

WYSZKOWSKI, M.; WYSZKOWSKA, J.; BOROWIK, A.; KORDALA, N. Contamination of Soil with Diesel Oil, Application of Sewage Sludge and Content of Macroelements in Oats. **Water, Air and Soil Pollution**, v. 231, p. 546. 2020.

XIANAGANG, M.; IYOBOSA, E.; JUN, N. H.; FANG, S.; ZHENNAN, W. Biodegradation of petroleum hydrocarbon polluted soil. **Indian Journal of Microbiology Research**, v. 7, n. 2, p. 104-112. 2020.

XIAO, M.; ZYTNER, R. G. The effect of age on petroleum hydrocarbon contaminants in soil for bioventing remediation. **Bioremediation Journal**, v. 23, n. 4, p. 311-325. 2019.

XU, J.; PANCRAS, T.; GROTENHUIS, T. Chemical oxidation of cable insulating oil contaminated soil. **Chemosphere**, v. 84, n. 2, p. 272-277. 2011.

YAKOP, F.; TAHA, H.; SHIVANAND, P. Isolation of fungi from various habitats and their possible bioremediation. **Current Science**, v. 116, n.5, p. 733-740. 2019.

YANG, Y.; LI, J.; XI, B.; WANG, Y.; TANG, J.; WANG, Y.; ZHAO, C. Modeling BTEX migration with soil vapor extraction remediation under low-temperature conditions. **Journal of Environmental Management**, v. 203, p. 114-122. 2017.

YAO, M.; BAI, J.; CHANG, Y.; QIN, C.; LI, F.; YANG, X.; ZHAO, Y. Effects of air flowrate distribution and benzene removal in heterogeneous porous media during air sparging remediation. **Journal of Hazardous Materials**, v. 398, p. 122866. 2020.

YU, Y.; LIU, L.; YANG, C.; KANG, W.; YAN, Z.; ZHU, Y.; WANG, J.; ZHANG, H. Removal kinetics of petroleum hydrocarbons from low-permeable soil by sand mixing and thermal enhancement of soil vapor extraction. **Chemosphere**, v. 236, p. 124319. 2019.

ZAFRA, G.; ABSALÓN, Á. E.; CUEVAS, M. D. C.; CORTÉS-ESPINOSA, D. V. Isolation and Selection of a Highly Tolerant Microbial Consortium with Potential for PAH Biodegradation from Heavy Crude Oil-Contaminated Soils. **Water, Air, & Soil Pollution**, v. 225, n. 2. 2014.

ZAFRA, G.; CORTÉS-ESPINOSA, D. Biodegradation of polycyclic aromatic hydrocarbons by *Trichoderma* species: a mini review. **Environmental Science and Pollution Research**, v. 22, p. 19426-19433. 2015.

ZAFRA, G.; MORENO-MONTAÑO, A.; ABSALÓN, A. E.; CORTÉS-ESPINOSA, D. Degradation of polycyclic aromatic hydrocarbons in soil by a tolerant strain of *Trichoderma asperellum*. **Environmental Science and Pollution Research**, v. 22, p. 1034-1042. 2014.

ZHANG, C.; SIRIJOVSKI, N.; ADLER, L.; FERRARI, B. C. *Exophiala macquariensis* sp. nov., a cold adapted black yeast species recovered from a hydrocarbon contaminated subAntarctic soil. **Fungal Biology**, v. 123, p. 151-158. 2018.

ZHANG, B.; GUO, Y.; HUO, J.; XIE, H.; XU, C.; LIANG, S. Combining chemical oxidation and bioremediation for petroleum polluted soil remediation by BC-nZVI activated persulfate. **Chemical Engineering Journal**, v. 382, p. 123055. 2020a.

ZHANG, T.; LIU, Y.; ZHONG, S.; ZHANG, L. AOPs-based remediation of petroleum hydrocarbons-contaminated soils: efficiency, influencing factors and environmental impacts. **Chemosphere**, v. 246, p. 125726. 2020b.

ZAHED, M. A.; SALEHI, S.; MADADI, R.; HEJABI, F. Biochar as a sustainable product for remediation of petroleum contaminated soil. **Current Research in Green and Sustainable Chemistry**, v. 4, p. 100055, 2021.

ZUO, Lei. Bioremediation of Crude-Oil Polluted Soil Using Immobilized Microbes. **Iop Conference Series: Earth and Environmental Science**, v. 510, p. 042047. 2020.

## ANEXOS

ANEXO 1 - PERFIL ENZIMÁTICO DOS FUNGOS ENDOFÍTICOS ISOLADOS DE *Bactris gasipaes* Kunth (ARECACEAE).

CMRP	ATIVIDADE ENZIMÁTICA	
	Fenoloxidase	Lacase
3926	-	-
3593	-	-
3598	-	-
3613	-	+
3611	-	-
3925	+	+
3597	-	-
3918	-	-
3587	-	-
3600	-	-
3603	-	-
3922	-	-
3920	+	+
3608	+	-
3590	-	+
3924	+	-
3607	-	-
3594	-	-
3596	+	+
3595	-	+
3921	-	+
3606	-	-
3592	-	+
3602	-	-
3586	-	-
3585	-	-
3588	-	-
3589	-	+
3591	-	-
3913	-	+
3599	-	-
3601	+	-
3914	+	-
3915	-	+
3604	-	-
3605	-	-
3609	-	-
3610	-	-
3612	-	-
3916	-	-
3927	+	-
3923	+	+

Linhagens com atividade enzimática (+) e sem atividade enzimática (-).



