

Principais Grupos e Aplicações Biotecnológicas dos Fungos



Benedito Rodrigues da Silva Neto
(Organizador)

Atena
Editora
Ano 2019

Benedito Rodrigues da Silva Neto
(Organizador)

Principais Grupos e Aplicações Biotecnológicas dos Fungos

Atena Editora
2019

2019 by Atena Editora
Copyright © Atena Editora
Copyright do Texto © 2019 Os Autores
Copyright da Edição © 2019 Atena Editora
Editora Chefe: Profª Drª Antonella Carvalho de Oliveira
Diagramação: Rafael Sandrini Filho
Edição de Arte: Lorena Prestes
Revisão: Os Autores



Todo o conteúdo deste livro está licenciado sob uma Licença de Atribuição Creative Commons. Atribuição 4.0 Internacional (CC BY 4.0).

O conteúdo dos artigos e seus dados em sua forma, correção e confiabilidade são de responsabilidade exclusiva dos autores. Permitido o download da obra e o compartilhamento desde que sejam atribuídos créditos aos autores, mas sem a possibilidade de alterá-la de nenhuma forma ou utilizá-la para fins comerciais.

Conselho Editorial

Ciências Humanas e Sociais Aplicadas

Profª Drª Adriana Demite Stephani – Universidade Federal do Tocantins
Prof. Dr. Álvaro Augusto de Borba Barreto – Universidade Federal de Pelotas
Prof. Dr. Alexandre Jose Schumacher – Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia de Mato Grosso
Prof. Dr. Antonio Carlos Frasson – Universidade Tecnológica Federal do Paraná
Prof. Dr. Antonio Isidro-Filho – Universidade de Brasília
Prof. Dr. Constantino Ribeiro de Oliveira Junior – Universidade Estadual de Ponta Grossa
Profª Drª Cristina Gaio – Universidade de Lisboa
Prof. Dr. Deyvison de Lima Oliveira – Universidade Federal de Rondônia
Prof. Dr. Edvaldo Antunes de Faria – Universidade Estácio de Sá
Prof. Dr. Eloi Martins Senhora – Universidade Federal de Roraima
Prof. Dr. Fabiano Tadeu Grazioli – Universidade Regional Integrada do Alto Uruguai e das Missões
Prof. Dr. Gilmei Fleck – Universidade Estadual do Oeste do Paraná
Profª Drª Ivone Goulart Lopes – Istituto Internazionele delle Figlie di Maria Ausiliatrice
Prof. Dr. Julio Candido de Meirelles Junior – Universidade Federal Fluminense
Profª Drª Keyla Christina Almeida Portela – Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia de Mato Grosso
Profª Drª Lina Maria Gonçalves – Universidade Federal do Tocantins
Profª Drª Natiéli Piovesan – Instituto Federal do Rio Grande do Norte
Prof. Dr. Marcelo Pereira da Silva – Universidade Federal do Maranhão
Profª Drª Miranilde Oliveira Neves – Instituto de Educação, Ciência e Tecnologia do Pará
Profª Drª Paola Andressa Scortegagna – Universidade Estadual de Ponta Grossa
Profª Drª Rita de Cássia da Silva Oliveira – Universidade Estadual de Ponta Grossa
Profª Drª Sandra Regina Gardacho Pietrobon – Universidade Estadual do Centro-Oeste
Profª Drª Sheila Marta Carregosa Rocha – Universidade do Estado da Bahia
Prof. Dr. Rui Maia Diamantino – Universidade Salvador
Prof. Dr. Urandi João Rodrigues Junior – Universidade Federal do Oeste do Pará
Profª Drª Vanessa Bordin Viera – Universidade Federal de Campina Grande
Prof. Dr. Willian Douglas Guilherme – Universidade Federal do Tocantins

Ciências Agrárias e Multidisciplinar

Prof. Dr. Alan Mario Zuffo – Universidade Federal de Mato Grosso do Sul
Prof. Dr. Alexandre Igor Azevedo Pereira – Instituto Federal Goiano
Profª Drª Daiane Garabeli Trojan – Universidade Norte do Paraná
Prof. Dr. Darllan Collins da Cunha e Silva – Universidade Estadual Paulista
Profª Drª Diocléa Almeida Seabra Silva – Universidade Federal Rural da Amazônia
Prof. Dr. Fábio Steiner – Universidade Estadual de Mato Grosso do Sul
Profª Drª Girlene Santos de Souza – Universidade Federal do Recôncavo da Bahia
Prof. Dr. Jorge González Aguilera – Universidade Federal de Mato Grosso do Sul
Prof. Dr. Júlio César Ribeiro – Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro
Profª Drª Raissa Rachel Salustriano da Silva Matos – Universidade Federal do Maranhão
Prof. Dr. Ronilson Freitas de Souza – Universidade do Estado do Pará
Prof. Dr. Valdemar Antonio Paffaro Junior – Universidade Federal de Alfenas

Ciências Biológicas e da Saúde

Prof. Dr. Benedito Rodrigues da Silva Neto – Universidade Federal de Goiás
Prof. Dr. Edson da Silva – Universidade Federal dos Vales do Jequitinhonha e Mucuri
Profª Drª Elane Schwinden Prudêncio – Universidade Federal de Santa Catarina
Prof. Dr. Gianfábio Pimentel Franco – Universidade Federal de Santa Maria
Prof. Dr. José Max Barbosa de Oliveira Junior – Universidade Federal do Oeste do Pará
Profª Drª Magnólia de Araújo Campos – Universidade Federal de Campina Grande
Profª Drª Natiéli Piovesan – Instituto Federaci do Rio Grande do Norte
Profª Drª Vanessa Lima Gonçalves – Universidade Estadual de Ponta Grossa
Profª Drª Vanessa Bordin Viera – Universidade Federal de Campina Grande

Ciências Exatas e da Terra e Engenharias

Prof. Dr. Adélio Alcino Sampaio Castro Machado – Universidade do Porto
Prof. Dr. Alexandre Leite dos Santos Silva – Universidade Federal do Piauí
Profª Drª Carmen Lúcia Voigt – Universidade Norte do Paraná
Prof. Dr. Eloi Rufato Junior – Universidade Tecnológica Federal do Paraná
Prof. Dr. Fabrício Menezes Ramos – Instituto Federal do Pará
Prof. Dr. Juliano Carlo Rufino de Freitas – Universidade Federal de Campina Grande
Profª Drª Neiva Maria de Almeida – Universidade Federal da Paraíba
Profª Drª Natiéli Piovesan – Instituto Federal do Rio Grande do Norte
Prof. Dr. Takeshy Tachizawa – Faculdade de Campo Limpo Paulista

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP) (eDOC BRASIL, Belo Horizonte/MG)	
P957	Principais grupos e aplicações biotecnológicas dos fungos [recurso eletrônico] / Organizador Benedito Rodrigues da Silva. – Ponta Grossa, PR: Atena Editora, 2019. Formato: PDF Requisitos de sistema: Adobe Acrobat Reader. Modo de acesso: World Wide Web. Inclui bibliografia ISBN 978-85-7247-730-7 DOI 10.22533/at.ed.307191810 1. Biotecnologia. 2. Fungos – Pesquisa – Brasil. I. Silva, Benedito Rodrigues da. CDD 571.295
Elaborado por Maurício Amormino Júnior – CRB6/2422	

Atena Editora
Ponta Grossa – Paraná - Brasil
www.atenaeditora.com.br
contato@atenaeditora.com.br

APRESENTAÇÃO

Dentre os diversos microrganismos existentes, uma classe peculiar é a dos fungos, pois possuem uma diversidade de características únicas que refletem em seu modo de vida, nas suas interações e na sua aplicabilidade. Para se ter uma ideia já foram identificados cerca de 120.000 espécies de fungos das quais a grande maioria ainda é um vasto campo de estudo para os micologistas e biotecnólogos.

Consideramos como micologia o estudo de microrganismos que possuem aspectos leveduriformes e/ou filamentos assim denominados fungos. Trata-se portanto de uma área de estudo ampla que atrai diversos pesquisadores em diferentes campos científicos, tecnológicos e industriais. O Brasil é uma referência em se tratando de estudos em micologia, principalmente o que onhecemos como micologia médica, tanto pelos pesquisadores precursores quanto pela nova geração armada com as evoluções biotecnológicas e moleculares. Entre os pais da micologia médica brasileira destacamos Adolf Lutz em 1908 seguido por Alfonso Splendore e Floriano Paulo de Almeida na identificação do *Paracoccidioides brasiliensis*, além de Alberto Thomaz Londero, Olga Fischman Gompertz e principalmente o professor Carlos da Silva Lacaz com seu “Tratado de micologia médica” de 2002.

O uso de estratégias biotecnológicas tem sido primordial na pesquisa com fungos. A vasta diversidade fúngica apresenta grande potencial, principalmente associada à estudos de aplicações biotecnológicas, como no campo ambiental, farmacêutico, industrial, agrícola, alimentício, genômico dentre outros.

Sinto-me muito feliz por ver a obra “Principais Grupos e Aplicações Biotecnológicas dos Fungos” publicada pela editora Atena, em primeiro lugar por saber do potencial da micologia e em segundo por evidenciar essa área tão importante para o cenário brasileiro e para um país que tem inúmeras possibilidades de evoluir nos estudos biotecnológicos aplicados aos fungos. Como pesquisador da área desejo que esse primeiro volume seja uma fagulha que desperte o interesse dos acadêmicos e que atraia pesquisadores da micologia médica e áreas correlatas para publicação de novos volumes com esse foco.

Desejo à todos uma excelente leitura!

Benedito Rodrigues da Silva Neto

SUMÁRIO

CAPÍTULO 1	1
FUNGOS: BIODIVERSIDADE E BIOTECNOLOGIA, UM BREVE PANORAMA	
Benedito R. da Silva Neto	
DOI 10.22533/at.ed.3071918101	
CAPÍTULO 2	11
AVALIAÇÃO DA PRODUÇÃO DE AMILASE EM FUNGOS ENDÓFITOS ISOLADOS DE AVELÓS (<i>Euphorbia tirucalli</i> L.)	
Lívio Carvalho de Figueirêdo	
Daniela Rayane da Silva Moraes	
Luana Kelly Carvalho da Silva	
Pablo Igor Lima Vieira	
Francisca das Chagas da Silva Paula Neta	
Ana Letícia Holanda Moraes	
DOI 10.22533/at.ed.3071918102	
CAPÍTULO 3	17
AVALIAÇÃO DA TOLERÂNCIA DE FUNGOS BASIDIOMICETOS AO HERBICIDA GLIFOSATO	
Wagner Mansano Cavalini	
Jaqueline da Silva Coelho Moreira	
DOI 10.22533/at.ed.3071918103	
CAPÍTULO 4	30
IDENTIFICAÇÃO POLIFÁSICA DE ISOLADOS CLÍNICOS DO COMPLEXO <i>Candida Parapsilosis</i>	
Carolina Maria da Silva	
Ana Maria Rabelo de Carvalho	
Danielle Patrícia Cerqueira Macêdo	
Cícero Pinheiro Inácio	
Reginaldo Gonçalves de Lima Neto	
Rejane Pereira Neves	
DOI 10.22533/at.ed.3071918104	
CAPÍTULO 5	41
SUSTENTABILIDADE AGRÍCOLA COM FUNGOS ENTOMOPATOGÊNICOS	
Richard Henrique Siebra Bergamo	
Bruno Vinicius Daquila	
Helio Conte	
DOI 10.22533/at.ed.3071918105	
CAPÍTULO 6	53
TESTE DE ATIVIDADE ENZIMÁTICA DE PROTEASE DE FUNGOS ENDOFÍTICOS DE <i>Euphorbia tirucalli</i> L.	
Lívio Carvalho de Figueirêdo	
Francisca das Chagas da Silva Paula Neta	
Luana Kelly Carvalho da Silva	
Pablo Igor Lima Vieira	
Daniela Rayane da Silva Moraes	
Ana Letícia Holanda Moraes	
DOI 10.22533/at.ed.3071918106	

CAPÍTULO 7 59

ANÁLISE DA PRODUÇÃO DE PROTEASES, AMILASES, UREASES, LIPASES E TANASES POR FUNGOS E BACTÉRIAS ISOLADAS DE ÁREA COSTEIRA DO NORDESTE DO BRASIL

Igor Luiz Vieira de Lima Santos

Mykaella Joyce Silva de Araújo

Amanda Geovana Pereira de Araújo

Maria das Graças Morais de Medeiros

Carliane Rebeca Coelho da Silva

DOI 10.22533/at.ed.3071918107

SOBRE O ORGANIZADOR..... 71

ÍNDICE REMISSIVO 72

AVALIAÇÃO DA TOLERÂNCIA DE FUNGOS BASIDIOMICETOS AO HERBICIDA GLIFOSATO

Wagner Mansano Cavalini

Universidade Estadual de Maringá, Departamento de Biotecnologia, Genética e Biologia Celular
Maringá – Paraná

Jaqueline da Silva Coelho Moreira

Universidade Estadual de Maringá, Departamento de Bioquímica, Maringá – Paraná

RESUMO: O aumento das atividades agrícolas tem intensificado a contaminação ambiental, promovendo a disposição inadequada de diferentes compostos químicos, entre eles os herbicidas, que podem também causar alguns efeitos colaterais indesejáveis, implicando na contaminação do solo, ar, recursos hídricos superficiais e subterrâneos. Dentre as tecnologias mais utilizadas na recuperação de áreas contaminadas, destaca-se a biorremediação, que dispõe principalmente de microrganismos como agentes recuperadores. O glifosato (N-Fosfonometilglicina) é o ingrediente ativo do Roundup, um dos herbicidas mais populares e utilizados não apenas na agricultura, mas também em áreas residenciais. Fungos basidiomicetos, popularmente conhecidos como cogumelos e orelhas-de-pau, são capazes de metabolizar diversos tipos de moléculas, incluindo os xenobióticos, como os pesticidas. Portanto, o objetivo deste trabalho é observar a tolerância desses fungos ao herbicida

glifosato. *Phanerochaete chrysosporium*, *Pleurotus pulmonarius* e *Ganoderma lucidum* foram cultivados em um meio contendo solo contaminados artificialmente com diferentes concentrações de herbicida glifosato e o crescimento micelial foi avaliado. Os resultados mostraram que todos os fungos testados foram tolerantes às concentrações de 2, 5 e 10 mg de glifosato/kg de solo. Também foi observado que o herbicida estimulou o crescimento de *P. chrysosporium* nas concentrações de 50, 100 e 200 mg/kg de solo. Contudo, quando o cultivo foi realizado na presença de glifosato como única fonte de nitrogênio ou fósforo em meio líquido, tal efeito não foi observado. Em vista disso, é provável que *P. chrysosporium* transforme o glifosato por um processo chamado de co-metabolismo, onde há a necessidade de outros nutrientes para suportar o crescimento e metabolismo primário do fungo.

PALAVRAS-CHAVE: Áreas degradadas; Descontaminante. Fungo; Poluentes; Solo.

TOLERANCE EVALUATION OF BASIDIOMYCETE FUNGI TO HERBICIDE GLYPHOSATE

ABSTRACT: The increase in farm activities has intensified environmental pollution, promoting the improper disposal of different chemicals

among them herbicides, which can also cause some unwanted side effects, resulting in the contamination of soil, air, surface and underground water resources. Among the most used technologies in the recovery of contaminated areas, stands out bioremediation, this has as recovery agents primarily microorganisms. Glyphosate (N-phosphonomethyl glycine) is the active ingredient of Roundup, one of the most popular herbicides and used not only in agriculture but also in residential areas. The Basidiomycete fungi are able to metabolize various types of chemicals, including xenobiotics, such as pesticides. Therefore, the objective of this work is to observe the tolerance of Basidiomycetes fungi to the glyphosate herbicide. *Phanerochaete chrysosporium*, *Pleurotus pulmonarius* and *Ganoderma lucidum* were cultivated on solid medium with artificially contaminated soil with different glyphosate concentrations and evaluated mycelial growth. The results showed that all the fungi tested were tolerant to the concentrations of 2, 5 and 10 mg glyphosate/kg soil. It was also observed that the herbicide stimulated the growth of *P. chrysosporium* at the concentrations of 50, 100 and 200 mg/kg of soil. However, this process was not observed when the fungus was cultivated in the presence of glyphosate as the only source of nitrogen or phosphorus in liquid medium. It is possible that *P. chrysosporium* transforms the glyphosate herbicide by the cometabolism process, which needs the addition of other nutrients to support the growth and primary metabolism of the fungi.

KEYWORDS: Degraded areas; Decontaminant; Fungus; Pollutants; Soil.

1 | INTRODUÇÃO

O intenso aumento da população mundial gera uma busca cada vez maior de alimentos, espaço e condições para sobrevivência, fazendo com que as ações antrópicas ao meio ambiente sejam, ao longo do tempo, cada vez maiores (Alves, 2006). Entre estas ações destaca-se a prática da agricultura, que está entre as principais fontes responsáveis pela liberação de compostos perigosos no ambiente (Harms *et al.*, 2011). Entre estes compostos, os pesticidas (fungicidas, herbicidas, inseticidas) têm sido usados por décadas sem nenhum controle, o que resulta em uma séria contaminação do solo e da água, bem como de alimentos.

Em 2008, o Brasil ultrapassou os Estados Unidos tomando o posto de maior mercado mundial de agrotóxicos. Nos últimos dez anos, enquanto o mercado mundial de pesticidas cresceu 93%, o mercado brasileiro cresceu 190%. Neste contexto, existe uma concentração do mercado de agrotóxicos em determinadas categorias de produtos. Como os herbicidas que são os mais usados, representando 45%, os fungicidas 14%, os inseticidas 12% e as demais categorias de agrotóxicos 29% do total comercializado. (Anvisa & UFPR, 2012). Assim, a maioria dos agrotóxicos utilizados no combate às pragas é representada por herbicidas e fungicidas de difícil degradação e com grande capacidade de movimentação entre o solo e as águas, o que facilmente pode provocar uma variedade de efeitos tóxicos.

Em função do uso intensivo de produtos químicos na agricultura moderna e da

formação de grandes quantidades de resíduos, nos últimos anos tem havido uma maior preocupação em se conhecer o comportamento e destino dos pesticidas, nos diversos ecossistemas (Araújo, 2002). Os pesticidas possuem as finalidades de aumento da produtividade e garantia da produção de alimentos para a humanidade que se encontra em contínuo crescimento.

Atualmente, sítios contaminados são amplamente reconhecidos como potenciais ameaças à saúde humana, o que tem gerado grandes esforços na remediação destes ambientes. Algumas tecnologias que têm sido usadas são a incineração a altas temperaturas e vários tipos de decomposição química, como a oxidação por luz ultravioleta. Apesar de serem efetivas na redução dos níveis de contaminantes, estas técnicas possuem várias desvantagens, como os altos custos de aplicação, altos riscos ambientais e alta probabilidade de exposição de trabalhadores aos contaminantes. Portanto, é necessária a remoção destes compostos do ambiente através do desenvolvimento de técnicas eficientes, ecológicas e financeiramente viáveis. Neste aspecto a biorremediação é uma estratégia atrativa que consiste na aplicação de sistemas biológicos, como plantas, bactérias, fungos e enzimas para remover compostos químicos perigosos no ambiente (Vidali, 2001). Por ser uma forma natural de degradação de compostos químicos, a biorremediação promove um tratamento adequado, tendo um impacto ambiental desprezível e baixo custo (Ruggaber *et al.*, 2001).

Nas últimas décadas, a utilização de fungos basidiomicetos em estratégias de biorremediação tem sido crescente nas pesquisas. Isso se deve, pelo menos em parte, à habilidade destes fungos de degradar uma grande variedade de poluentes ambientais por meio de enzimas extracelulares de ampla especificidade. Entre os basidiomicetos mais utilizados estão os que causam a podridão branca da madeira. Estes fungos apresentam uma ampla atividade de degradação, pois produzem uma grande diversidade de enzimas extracelulares, o que os torna capazes de metabolizar os mais diversos tipos de moléculas, incluindo compostos químicos estranhos lançados no ambiente (xenobióticos), como os pesticidas. Os fungos da podridão branca são capazes de degradar todos os polímeros da madeira, incluindo a lignina, por isso são conhecidos como fungos ligninolíticos (Barr & Aust 1994).

As enzimas extracelulares microbianas mais importantes nos processos de biorremediação são a lignina peroxidase, manganês peroxidase e lacase. A natureza inespecífica do processo de degradação permite que essas enzimas sejam utilizadas na degradação de poluentes ambientais. Contudo, em alguns casos a degradação de xenobióticos por estes micro-organismos pode proceder intracelularmente, através do complexo enzimático citocromo P450 (Harms *et al.*, 2011). Logo, a diversidade metabólica dos fungos e suas características particulares de crescimento (Ex.: rapidez relativa de colonização de substratos) indicam que eles são bem adequados para biorremediação de solos.

Os estudos referentes à degradação de poluentes por fungos basidiomicetos

tiveram início em 1980 com linhagens de *Phanerochaete chrysosporium*. Desde então, vários autores evidenciaram a capacidade desse organismo em degradar, além da lignina, um amplo espectro de poluentes como DDT [1,1-bis (4clorofenol)-2,2,2-tricloetano], lindano (hexaclorociclohexano), hidrocarbonetos aromáticos policíclicos (PAH), dioxinas (Cameron *et al.*, 2000) e outros poluentes orgânicos clorados (Zouari *et al.*, 2002). O sucesso desta espécie de basidiomiceto tem estimulado estudos sobre outros fungos ligninolíticos com potencial para a biorremediação. É o caso de *Pleurotus pulmonarius*, *Coriolus versicolor* e *Tremetes versicolor* (Masaphy *et al.*, 1996, Hiratsuka *et al.*, 2001, Uhnáková *et al.*, 2009).

O Glifosato (N-Fosfonometilglicina) é o ingrediente ativo do Roundup, um dos herbicidas mais populares e utilizados não apenas na agricultura, mas também em áreas residenciais. Ele causa inibição enzimática da via metabólica do ácido chiquímico, resultando em depleção de aminoácidos aromáticos essenciais necessários para o crescimento e sobrevivência da planta (Andrea *et al.*, 2003). A meia-vida do glifosato no solo varia de alguns dias até 3 meses, porém há relatos de períodos maiores de persistência, que variam de 100 a 1.000 dias (Andrea *et al.*, 2003).

O glifosato é metabolizado por plantas via duas rotas semelhantes e presentes em micro-organismos (Fig. 1). Uma destas rotas envolve a quebra da ligação carbono-nitrogênio (C-N) para produção de ácido aminometilfosfônico (AMPA), e a outra quebra a ligação carbono-fósforo (C-P) por uma C-P liase para gerar o N-metilglicina (sarcosina) (REDDY *et al.*, 2004).

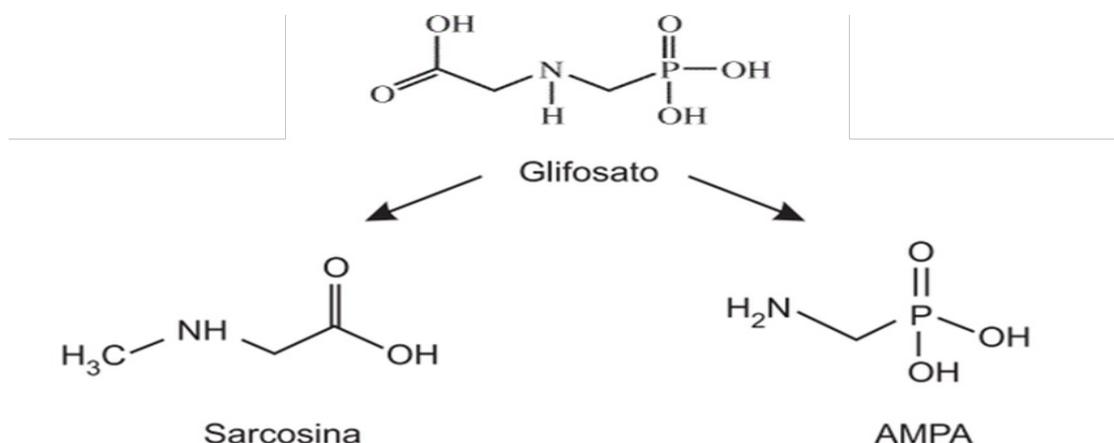


Figura 1 – Rota de metabolização do Glifosato.

Fonte: AMARANTE JR., 2002.

Devido as suas propriedades físico-químicas específicas, o glifosato é fortemente adsorvido ao solo (Many & Barriuso, 2005). Na maioria dos solos, é essencialmente imóvel, mas a mobilidade varia conforme o pH do solo. O AMPA se decompõe rapidamente, e resulta na lixiviação de quantidades mínimas nos solos (Solomon & Thompson, 2003).

A degradação do glifosato por microrganismos que utilizam o produto como

fonte de energia, fósforo, nitrogênio e carbono, se faz por meio de duas rotas catabólicas, produzindo o AMPA como o principal metabólito, e sarcosina como metabólito intermediário na rota alternativa (Dick & Quinn, 1995). O AMPA é o produto da biodegradação do glifosato em sistemas naturais antes da mineralização final e a quebra do produto em complexos fosfonados (Barja & Afonso, 2005). O AMPA por sua vez é degradado em dióxido de carbono e amônia (Rueppel *et al.*, 1977).

Este trabalho teve como objetivo analisar a tolerância de fungos da podridão branca da madeira em meios de cultivo contendo solo contaminado com o herbicida glifosato.

2 | MATERIAIS E MÉTODOS

2.1 Coleta do solo

O solo foi obtido de um local livre de aplicação recente de pesticidas, sendo coletado nas intermediações do campus da Universidade Estadual de Maringá. As amostras de solo foram coletadas e armazenadas conforme metodologia descrita por Pramer & Bartha (1972). Detritos como pedras foram removidos manualmente e passando o solo por uma peneira de aproximadamente 2 mm de diâmetro e estocado em frascos de polietileno e armazenados sob refrigeração a 4°C até a realização dos estudos.

2.2 Herbicida

A solução estoque de glifosato foi preparada pela diluição do herbicida comercial Roundup Original® (360 g/l de glifosato) em água, atingindo a concentração de 3,6 g/l (21,2 mM). A solução foi esterilizada por filtração através de uma membrana Milipore (0,45 µm) e estocada a 4°C até o uso.

2.3 Micro-organismos e inóculo

Os fungos *Phanerochaete chrysosporium*, *Pleurotus pulmonarius*, *Ganoderma lucidum* e *Trametes sp.*, obtidos de culturas mantidas no Laboratório de Bioquímica e Fisiologia da Universidade Estadual de Maringá, que foram cultivados em meio batata-dextrose-ágar (BDA) por até duas semanas a 28°C em estufa incubadora tipo BOD. Quando as placas de Petri estavam completamente cobertas com o micélio, discos miceliais (18 mm de diâmetro) foram feitos e usados como inóculo.

2.4 Cultivos sólidos na presença de solo e glifosato

Em um dos meios de cultivo foi utilizada uma solução mineral (Vogel, 1956) suplementada com glicose (1%) e adicionada de ágar (1,8%) e solo (8% p/v). O conjunto foi autoclavado a 121 °C por 20 min. Após resfriamento, estes meios foram

contaminados artificialmente com diferentes concentrações de glifosato. Em seguida os meios foram vertidos em placas de Petri (90x15 mm) em condições estéreis. Inoculou-se, no centro geométrico de cada placa de Petri, em câmara de fluxo laminar contínuo, um disco de inóculo. As placas foram mantidas a 28 °C no escuro em estufa incubadora tipo BOD, observando-se o desenvolvimento do micélio. Para cada concentração de glifosato, realizaram-se três replicatas. Meios de cultivo sem adição de herbicida foram utilizados como controle.

Os fungos foram testados em três diferentes concentrações de glifosato, sendo: 2 mg de glifosato/kg de solo, 5 mg de glifosato/kg de solo e 10 mg de glifosato/kg de solo. Posteriormente, foram testadas concentrações maiores de glifosato (50 mg de glifosato/kg de solo, 100 mg de glifosato/kg de solo e 200 mg de glifosato/kg de solo) somente para o fungo *P. chrysosporium*.

2.5 Cultivos em meio líquido

A capacidade de *P. chrysosporium* de utilizar a molécula de glifosato como nutriente foi avaliada em condições líquidas estacionárias a 28°C e no escuro. Três discos miceliais (inóculo) foram transferidos para frascos Erlenmeyer de 125 ml contendo 25 ml de solução mineral (Vogel, 1956) suplementada com 1% de glicose e glifosato. Quando o herbicida foi usado como única fonte de nitrogênio e fósforo, nitrato de amônia (NH_4NO_3) e fosfato de potássio monobásico (KH_2PO_4) foram substituídos por glifosato a uma concentração final de 2mM. O controle consistiu na solução mineral completa suplementada com glicose e com as concentrações de fósforo ou nitrogênio ajustadas segundo a quantidade fornecida por 2mM de glifosato. Os meios de cultivo sem glifosato foram previamente esterilizados por autoclavagem a 121 °C por 15 minutos. Realizou-se a pesagem da massa seca após 7 dias e 14 dias de cultivo.

2.6 Avaliação do crescimento micelial em placas de Petri

Para avaliação do crescimento micelial, foram feitas medições com régua milimétrica a cada 12 ou 24 h, tomadas a partir da borda do disco do inóculo até o limite de crescimento do micélio. Em cada placa de Petri, tomaram-se quatro registros de crescimento por leitura (um em cada quadrante), registrando-se o diâmetro em milímetros das colônias até que a placa estivesse totalmente colonizada (Fig. 2), sendo estes valores utilizados para a determinação da média de crescimento fúngico de cada meio de cultivo. A média e o desvio padrão do crescimento do micélio foram calculados e as diferenças determinadas pela análise de variância e teste de Tukey ($p < 0,05$).

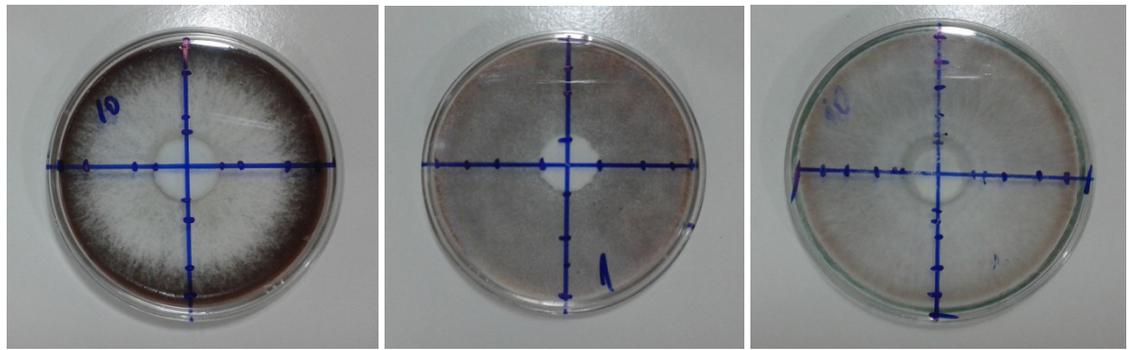


Figura 2 - Medidas do crescimento do micélio em meio de cultivo sólido contendo solo.

3 | RESULTADOS

Todas as três espécies de fungo testadas foram tolerantes ao herbicida glifosato nas concentrações de 2 mg/kg de solo, 5mg/kg solo e 10 mg/kg solo. Isto pode ser evidenciado pelo fato de que não houve alteração significativa no crescimento fúngico quando os tratamentos foram comparados ao controle, como mostrado na figura 3 para o fungo *P. pulmonarius*.

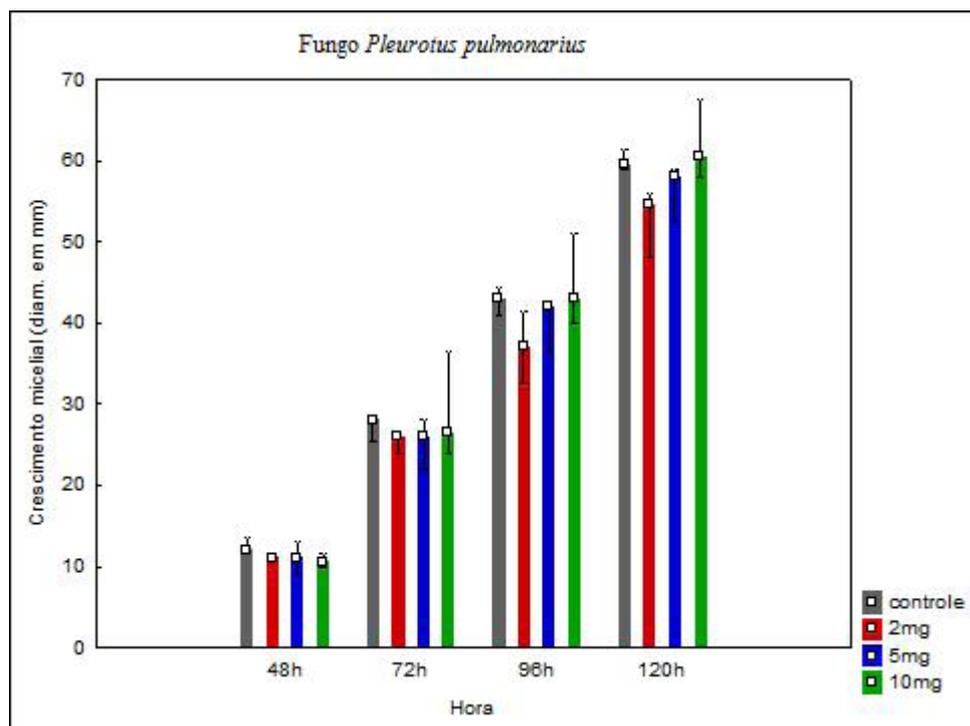


Figura 3 - Crescimento de *P. pulmonarius* em placa de Petri contendo solução mineral suplementada com ágar (1,8%) e glicose (1%) e solo (8%).

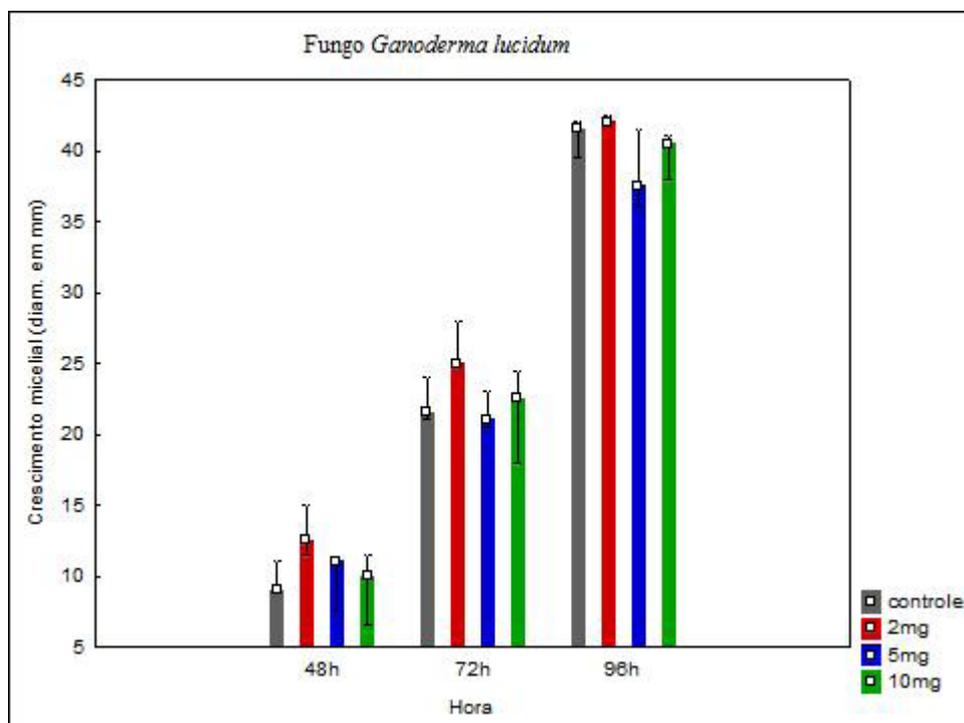


Figura 4 - Crescimento de *G. lucidum* em placa de Petri contendo solução mineral suplementada com ágar (1,8%) e glicose (1%) e solo (8%).

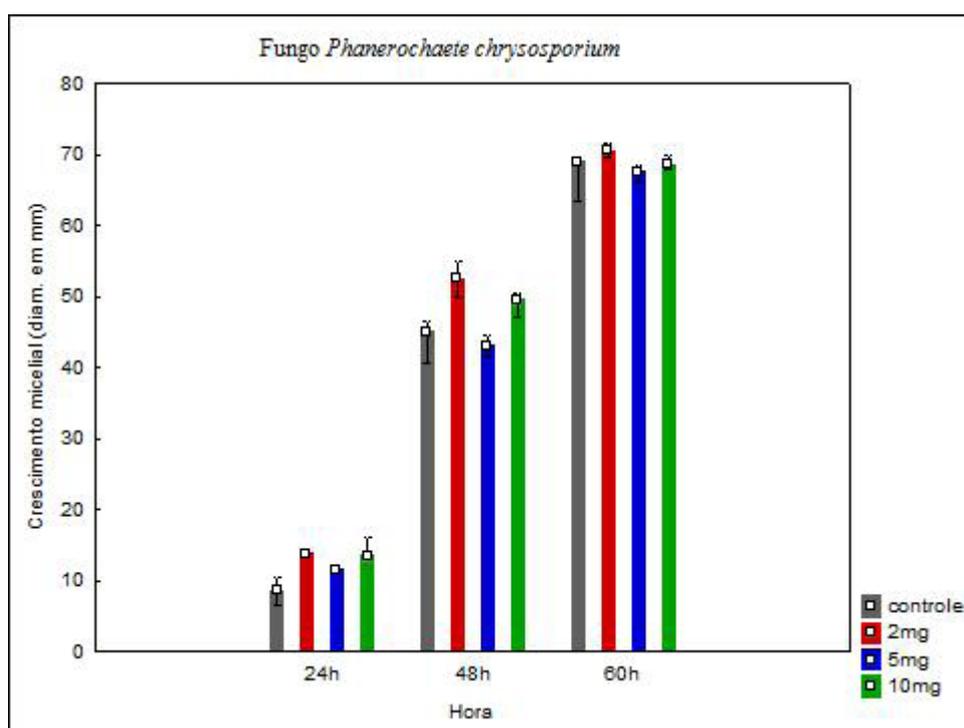


Figura 5 - Crescimento de *P. chrysosporium* em placa de Petri contendo solução mineral suplementada com ágar (1,8%) e glicose (1%) e solo (8%).

Phanerochaete chrysosporium é considerado um fungo modelo em estudos de biorremediação e os testes mostraram um crescimento mais rápido do que os outros fungos testados, este fato pode ser demonstrado, visto que após 24 horas de cultivo já foi possível realizar as medições do micélio (figura 5), enquanto que para *G. lucidum*, figura 4, e *P. pulmonarius*, figura 3, a primeira medida pôde ser realizada somente

após 48 horas. Por este motivo, *P. chrysosporium* foi escolhido para experimentos subsequentes com glifosato. Em um deles, as concentrações do herbicida foram aumentadas para 50 mg/kg de solo, 100 mg/kg de solo e 200 mg/kg de solo. O crescimento do fungo não foi inibido por estas concentrações de glifosato, o que sugere que este fungo pode facilmente crescer em um meio suplementado com o herbicida sem sofrer nenhum efeito tóxico. Surpreendentemente, o crescimento foi estimulado pela adição do herbicida (Tabela 1). Enquanto que o controle atingiu a borda da placa de Petri após 60 horas, os cultivos contendo glifosato cresceram rapidamente, atingindo o mesmo nível após 48 horas (50 mg/kg de solo) e 36 horas (100 e 200 mg/kg de solo). Adicionalmente, no tempo de 24 horas é possível observar que na presença de glifosato o crescimento foi cerca de 3,5 vezes maior comparado ao controle.

Glifosato/kg de solo	Crescimento micelial (mm)			
	24 hs	36 hs	48 hs	60 hs
0 (controle)	8,5 ± 2,0	ND	44 ± 3,1	67,1 ± 3,1
50 mg	27,6 ± 0,7*	46,0 ± 0,5	64,1 ± 1,2*	**
100 mg	32,5 ± 3,4*	56,8 ± 4,2	**	**
200 mg	25,5 ± 4,9*	59,2 ± 1,0	**	**

Tabela 1. Crescimento de *P. chrysosporium* em meio sólido contendo diferentes concentrações de glifosato

Asterisco sobrescrito indica os tratamentos de diferem significativamente do controle ($P < 0,05$) quando analisados pelo teste de Tukey.

ND: não determinado

** Não determinado devido ao micélio já ter atingido o limite da placa de Petri.

A possível utilização de glifosato como única fonte de fósforo ou nitrogênio por *P. chrysosporium* também foi analisada em meios líquido sem adição de solo. O cultivo controle apresentou um ligeiro crescimento, atingindo uma biomassa seca de 60 mg após 7 dias de cultivo, a qual praticamente não se alterou após 14 dias de cultivo. Contrariamente, na presença de glifosato como única fonte de nitrogênio ou fósforo, o fungo *P. chrysosporium* não apresentou nenhum desenvolvimento micelial.

4 | DISCUSSÃO

A tolerância *in vitro* de fungos da podridão branca a pesticidas potencialmente tóxicos tem sido reportada com frequência na literatura (Fratila-apachitei *et al.*, 1999, Torres-Duarte *et al.*, 2009; Coelho *et al.*, 2010). Contudo, estudos envolvendo o solo adicionado aos meios de cultivo são escassos, porém não menos importantes, visto que permitem a extrapolação do potencial de crescimento fúngico em determinados ambientes, sendo este um dos requisitos para a biorremediação de sítios contaminados. Sucessivas aplicações de glifosato na mesma área diminui o potencial de degradação dos micro-organismos nativos do solo, resultando em poluição devido a uma dificuldade

de metabolizar a molécula (Andrea *et al.*, 2003).

Neste estudo foi possível demonstrar a tolerância de três espécies de fungos ligninolíticos (*Phanerochaete chrysosporium*, *Pleurotus pulmonarius* e *Ganoderma lucidum*) ao herbicida glifosato adicionado aos meios de cultivo contendo solo, com o objetivo de se aproximar o máximo do ambiente natural onde estes fungos poderiam ser utilizados como agentes de biorremediação.

Grande parte dos trabalhos evidencia a degradação de glifosato por bactérias (Kryuchkova *et al.*, 2014, Sharifi *et al.*, 2015), sendo a utilização de fungos em estudos muito escassa. Contudo alguns trabalhos demonstraram a utilização de fungos, na maioria das vezes em cultivos líquidos, não envolvendo meios adicionados de solo (Eman *et al.*, 2013).

Araújo *et al.* (2003) observaram que solos tratados constantemente com glifosato (2,16 mg/kg de solo) têm sua população de fungos aumentada. Os resultados com *P. chrysosporium* mostraram que o crescimento micelial é estimulado na presença de glifosato, o que também está de acordo com estudos realizados com os fungos *Trichoderma viridae*, *Aspergillus niger* e *Fusarium oxysporum* em cultivos líquidos sob agitação (Adelowo *et al.*, 2014). Uma possível razão para isto pode ser a utilização do glifosato como fonte de nutrientes, como fósforo e nitrogênio, como já demonstrado em estudos com fungos filamentosos (Adelowo *et al.*, 2014) e a bactéria *Enterobacter cloacae*, que utiliza glifosato como fonte de fósforo (Kryuchkova *et al.*, 2014). Um dos caminhos possíveis para realizar este processo é pela quebra da ligação C-P ou C-N da molécula do herbicida pelo micro-organismo.

Nos experimentos em líquido, onde se utilizou a molécula de glifosato como única fonte de fósforo ou nitrogênio, não houve crescimento de *P. chrysosporium*, demonstrando que a molécula do herbicida não pode ser primariamente catabolizada pelo fungo. A partir destes resultados, parece provável que esteja ocorrendo um processo de degradação muito comum entre micro-organismos, no qual a biotransformação de uma molécula depende da presença de substratos capazes de suportar o crescimento microbiano, processo chamado de cometabolismo. Caso não haja o substrato principal, a degradação mediada pelos micro-organismos não ocorre para uma dada molécula, neste caso, o herbicida. Por outro lado, na presença destas fontes, a metabolização do substrato primário poderá gerar enzimas capazes de atuar na degradação do contaminante de interesse. Em comunidades microbianas no solo, o produto da quebra por cometabolismo pode ser utilizado por outras espécies, levando a uma completa degradação (mineralização) do composto (Vidali, 2001).

Um dos grandes objetivos de estudos sobre a tolerância de micro-organismos a poluentes presentes no solo é a aplicação nestes organismos na técnica bioaugmentação, onde ocorre um aumento da microbiota através da inoculação de micro-organismos alóctones (exógenos) no sítio contaminado (Vidali, 2001). Segundo Andrade *at al.* (2010), o emprego da bioaugmentação depende, primeiramente, da concordância e da autorização de órgãos governamentais e de agências de fiscalização ambiental.

5 | CONCLUSÃO

O estudo do crescimento fúngico em meios contendo solo é muito importante para a extrapolação do potencial de colonização destes micro-organismos em ambientes contaminados. Os resultados observados neste trabalho mostraram que *Phanerochaete chrysosporium*, *Pleurotus pulmonarius* e *Ganoderma lucidum* foram tolerantes à faixa de concentração do herbicida testado. O herbicida glifosato pode ser utilizado por *P. chrysosporium* como fonte de nutrientes, já que estimulou o crescimento do fungo. Contudo, este processo não foi observado quando se cultivou o fungo na presença de glifosato como única fonte de nitrogênio ou fósforo. É possível que o fungo necessite da adição de substratos para suportar seu crescimento e, posteriormente, transforme glifosato por co-metabolismo. Contudo, mais experimentos devem ser realizados a fim de confirmar estas hipóteses.

REFERÊNCIAS

ADELOWO, F.E.; OLU-AROTIOWA O.A, AMUDA, O.S. **Biodegradation of Glyphosate by Fungi Species.** *Advances in Bioscience and Bioengineering* ISSN 2201-8336 v.2, n.1, 2014, p. 104-118

ALVES, M.C. **Recuperação dos solos degradados pela agricultura.** In: *Encontro Nacional sobre Educação Ambiental na Agricultura*, v.5, 2006, Campinas. Anais. Campinas: Instituto Agrônomo, 2006. 1-CD-ROM.

AMARANTE JR., O. P. et al. *Química Nova*, São Paulo, v.25, n.3, 2002 (adaptado).

ANDRADE, J. A.; AUGUSTO, F.; JARDIM, I. C. S. F. **Biorremediação de solos contaminados por petróleo e seus derivados.** *Eclética Química*, São Paulo, v.35, n.3 – setembro, 2010.

ANDREA MM, PERES TB, LUCHINI LC, BAZARIN S, PAPINI S, MATALLO MB, et al. **Influence of repeated application of glyphosate on its persistence and soil bioactivity.** *Pesq Agropec Bras* 2003; 38:1329–35.

ANVISA. **Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Agrotóxicos e toxicologia: programa de análise de resíduos de agrotóxicos em alimentos.** Disponível em: http://www.anvisa.gov.br/toxicologia/residuos/resultados_PARA_2008.pdf Acesso em 17 de outubro de 2009.

ANVISA & UFPr. **Seminário de mercado de agrotóxico e regulação.** ANVISA, Brasília, 11 abril de 2012.

ARAÚJO, A. S. F. **Biodegradação, extração e análise de glifosado em dois tipos de solos.** 2002. Dissertação (Mestrado) Escola Superior de Agricultura de Luiz de Queiroz, Piracicaba, 2002.

ARAÚJO A.S.F., MONTEIRO R.T.R, ABARKELI R.B. **Effect of glyphosate on the microbial activity of two Brazilian soils.** *Chemosphere* 52 (2003) p. 799–804.

BARJA, B. C.; AFONSO, M. S. **Aminomethylphosphonic acid and glyphosate adsorption onto goethite: a comparative study.** *Environmental Science & Technology, Iowa*, v.39, n.2, p.585-592, 2005.

BARR DP AND AUST SD. **Mechanisms white rot fungi use to degrade pollutants** (1994). *Environment Science Technology*, v.28 n.2, p. 79-87.

- CAMERON, M.D.; TIMOFEEVSKI, S.; AUST, S.D. **Enzimology of *Phanerochaete chrysosporium* with respect to the degradation of recalcitrant compounds and xenobiotics.** *Applied Microbiology Biotechnology*, v.54, p.751-758, 2000.
- COELHO JS, SOUZA CGM, OLIVEIRA AL, BRACHT A, COSTA MAF, PERALTA RM. **Comparative Removal of Bentazon by *Ganoderma lucidum* in Liquid and Solid State Cultures.** *Current Microbiology* (2010) v.60 p .350–355
- DICK, R. E.; QUINN, J. P. **Glyphosate-degrading isolates from environmental samples: occurrence and pathways of degradation.** *Applied Microbiology Biotechnology*, Berlin, v.43, n.3, p.545-550, 1995.
- EMAN A, ABDEL-MEGEED A, SULIMAN AA, SADIK MW, SHOLKAMY E. **Biodegradation of Glyphosate by fungal strains isolated from herbicides polluted-soils in Riyadh area.** *International Journal of Current Microbiology and Applied Science*. v.2, n.8, (2013) p. 359-381
- FRATILA-APACHITEI LE, HIRST JA, SIEBEL MA, GIJZEN HJ. **Diuron degradation by *Phanerochaete chrysosporium* BKM-F-1767 in synthetic and natural media.** *Biotechnology Letters* 1999 v.21, p. 147-154.
- HARMS H, SCHLOSSER D, WICK LY. 2011. **Untapped potential: exploiting fungi in bioremediation of hazardous chemicals.** *Nature Reviews Microbiology*, v.9 n.3, p. 177-192.
- HIRATSUKA N, WARIISHI N, TANAKA H. **Degradation of diphenyl ether herbicides by the lignin-degrading basidiomycete *Coriolus versicolor*** (2001). *Applied Microbiology and Biotechnology*, v.57, p. 563–571.
- INCA. **Posicionamento do instituto nacional de câncer José Alencar Gomes da Silva acerca dos agrotóxicos** (2015). http://www1.inca.gov.br/inca/Arquivos/comunicacao/posicionamento_do_inca_sobre_os_agrotoxicos_06_abr15.pdf. Acesso em 26 de março de 2015.
- KRYUCHKOVA YV, BURYGINA GL, GOGOLEVAB NE, GOGOLEVB YV, CHERNYSHOVA MP, MAKAROVA OE, FEDOROVA EE, TURKOVSKAYA OV. **Isolation and characterization of a glyphosate-degrading rhizosphere strain, *Enterobacter cloacae* K7.** *Microbiological Research* 169 (2014), p. 99– 105.
- MANY, L.; BARRIUSO, E. **Glyphosate adsorption in soil compared to herbicides replaced with the introduction of glyphosate resistant crops.** *Chemosphere*, Oxford, v.61, n.6, p.844-855, 2005.
- MASAPHY S, LEVANON D, HENIS Y. **Degradation of atrazine by the lignocellulolytic fungus *Pleurotus pulmonarius* during solid-state fermentation** (1996). *Bioresource Technology*, p. 56, 207-214.
- PRAMER, D., BARTHA, R. **Preparation and Processing of Soil Samples for Biodegradation Studies** (1972). *Environmental Letters*, v.2, p. 217-224.
- REDDY, K. N.; RIMANDO, A. M.; DUKE, S. O. **Aminomethylphosphonic acid, a metabolite of glyphosate, causes injury in glyphosate-treated, glyphosate-resistant soybean.** *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, California, v.52, n.16, p.5139-5143, 2004.
- RUEPPEL, M. L.; BRIGHTWELL, B. B.; SCHAEFER, J.; MARVEL, T. T. **Metabolism and degradation of glyphosate in soil and water.** *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, California, v.25, n.3, p.517-528, 1977.
- RUGGABER TM, ASCE M, TALLEY JW. **Enhancing bioremediation with enzymatic processes: a review (2001).** *Practice periodical of hazardous, toxic and radioactive waste management*, v.10 n.2, p. 73-85.

SHARIFI Y, POURBABAEI AA, JAVADI A, ABDOLMOHAMMADI MH, SAFFARI M, MOROVVATI A. **Biodegradation of Glyphosate by fungal strains isolated from herbicides polluted-soils in Riyadh área.** *Int.J.Curr.Microbiol.App.Sci* (2013) v.2 n.8, p. 359-381.

SHARIFI Y, POURBABAEI AA, JAVADI A, HOSSEIN M, ABDOLMOHAMMADI MH, SAFFARI M, MOROVVATI A. **Biodegradation of glyphosate herbicide by *Salinicoccus* spp isolated from Qom Hoze-soltan lake, Iran.** *Environmental Health Engineering and Management Journal* 2015, v.2 n.1, p. 31–36.

SOLOMON, K. R.; THOMPSON, D. G. **Ecological risk assessment for aquatic organisms from over-water uses of glyphosate.** *Journal of Toxicology and Environmental Health B*, Philadelphia, v.6, n.3, p.211-246, 2003.

TORRES-DUARTE C, ROMAN R, TINOCO R, VAZQUEZ-DUHALT R. **Halogenated pesticide transformation by a laccase-mediator system.** *Chemosphere* 2009 p. 77,687-692.

UHNÁKOVÁ B, PETŘÍČKOVÁ A, BIEDERMANN D, HOMOLKA L, VEJVODA V, BEDNÁŘ P, PAPOUŠKOVÁ B, SULC M, MARTÍNKOVÁ L. **Biodegradation of brominated aromatics by cultures and laccase of *Trametes versicolor*** (2009). *Chemosphere*, v.79 n.6, p. 826-832.

VIDALI M. **Bioremediation. An overview** (2001). *Pure Applied Chemical*. v.73 n.7, p.1163-1172.

VOGEL HA (1956) **A convenient growth medium for *Neurospora crassa*.** *Microb Genet Bull* v.13, p.42–43

ZOUARI, H.; LABAT, M.; SAYADI, S. **Degradation of 4-chorophenol by the white rot fungus *Phanerochaete chrysosporium* in free and immobilized cultures.** *Bioresource Technology*, v.84, p.145-150, 2002.

SOBRE O ORGANIZADOR

BENEDITO RODRIGUES DA SILVA NETO Possui graduação em Ciências Biológicas pela Universidade do Estado de Mato Grosso (2005), com especialização na modalidade médica em Análises Clínicas e Microbiologia (Universidade Candido Mendes - RJ). Em 2006 se especializou em Educação no Instituto Araguaia de Pós graduação Pesquisa e Extensão. Obteve seu Mestrado em Biologia Celular e Molecular pelo Instituto de Ciências Biológicas (2009) e o Doutorado em Medicina Tropical e Saúde Pública pelo Instituto de Patologia Tropical e Saúde Pública (2013) da Universidade Federal de Goiás. Pós-Doutorado em Genética Molecular com concentração em Proteômica e Bioinformática (2014). O segundo Pós doutoramento foi realizado pelo Programa de Pós-Graduação Stricto Sensu em Ciências Aplicadas a Produtos para a Saúde da Universidade Estadual de Goiás (2015), trabalhando com o projeto Análise Global da Genômica Funcional do Fungo *Trichoderma Harzianum* e período de aperfeiçoamento no Institute of Transfusion Medicine at the Hospital Universitätsklinikum Essen, Germany. Seu terceiro Pós-Doutorado foi concluído em 2018 na linha de bioinformática aplicada à descoberta de novos agentes antifúngicos para fungos patogênicos de interesse médico.

Palestrante internacional com experiência nas áreas de Genética e Biologia Molecular aplicada à Microbiologia, atuando principalmente com os seguintes temas: Micologia Médica, Biotecnologia, Bioinformática Estrutural e Funcional, Proteômica, Bioquímica, interação Patógeno-Hospedeiro.

Sócio fundador da Sociedade Brasileira de Ciências aplicadas à Saúde (SBCSaúde) onde exerce o cargo de Diretor Executivo, e idealizador do projeto “Congresso Nacional Multidisciplinar da Saúde” (CoNMSaúde) realizado anualmente, desde 2016, no centro-oeste do país.

Atua como Pesquisador consultor da Fundação de Amparo e Pesquisa do Estado de Goiás - FAPEG. Atuou como Professor Doutor de Tutoria e Habilidades Profissionais da Faculdade de Medicina Alfredo Nasser (FAMED-UNIFAN); Microbiologia, Biotecnologia, Fisiologia Humana, Biologia Celular, Biologia Molecular, Micologia e Bacteriologia nos cursos de Biomedicina, Fisioterapia e Enfermagem na Sociedade Goiana de Educação e Cultura (Faculdade Padrão). Professor substituto de Microbiologia/Micologia junto ao Departamento de Microbiologia, Parasitologia, Imunologia e Patologia do Instituto de Patologia Tropical e Saúde Pública (IPTSP) da Universidade Federal de Goiás. Coordenador do curso de Especialização em Medicina Genômica e Coordenador do curso de Biotecnologia e Inovações em Saúde no Instituto Nacional de Cursos. Atualmente o autor tem se dedicado à medicina tropical desenvolvendo estudos na área da micologia médica com publicações relevantes em periódicos nacionais e internacionais. Contato: dr.neto@ufg.br ou neto@doctor.com

ÍNDICE REMISSIVO

A

Áreas degradadas 17

Avelós 11, 12, 14, 15, 53, 54, 56

B

Bactérias 2, 6, 8, 19, 26, 59, 60, 61, 62, 65, 66, 67

C

Candida parapsilosis 30, 31, 32, 34, 37, 38, 40

Controle-biológico 41

Culturas 4, 5, 7, 21, 41, 43, 44, 47, 49, 62, 63

D

Descontaminante 17

E

Enzimas 1, 2, 3, 6, 7, 11, 12, 13, 14, 19, 26, 41, 46, 48, 53, 54, 55, 56, 59, 61, 62, 63, 64, 65, 66, 67, 68, 69

Enzymes 12, 16, 42, 50, 54, 57, 60, 68, 69, 70

F

Fungal metabolites 12, 54

Fungo 4, 5, 6, 7, 8, 9, 17, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 41, 46, 47, 48, 50, 53, 54, 59, 62, 64, 71

I

Infecções fúngicas 30, 31

M

Meio-ambiente 41

Metabólitos fúngicos 12, 54

Microrganismos 1, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 12, 13, 17, 20, 31, 35, 36, 41, 45, 53, 54, 57, 59, 60, 61, 62, 64, 65, 67

P

Poluentes 7, 17, 19, 20, 26

Produção enzimática 60, 67

S

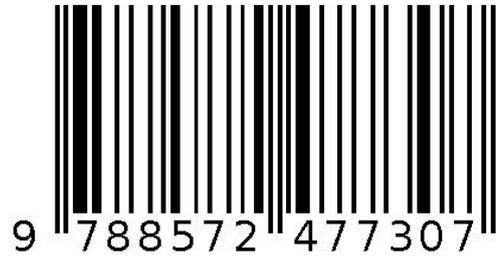
Solo 4, 15, 17, 18, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 43, 49, 56, 61, 69, 70

T

Taxonomia 30, 34, 35

Tecnologia 2, 3, 41, 51, 61, 69

Agência Brasileira do ISBN
ISBN 978-85-7247-730-7



9 788572 477307