

**II-160 – ANÁLISE DO CRESCIMENTO DOS FUNGOS *Pleurotus ostreatus florida*, *Lasiodiplodia theobromae* E *Verticillium lecanii* NA PRESENÇA DO AZO CORANTE VERMELHO CONGO**

**Leonardo Augusto Marques<sup>(1)</sup>**

Graduação em Engenharia Ambiental (2013) pela Faculdade de Ciências e Tecnologia da Universidade Estadual Paulista, campus de Presidente Prudente (FCT/UNESP). Estudante de Pós-Graduação “Lato Sensu” e Especialização em Gestão Ambiental pela Universidade Federal de São Carlos (UFSCar).

**Ana Flora Dalberto Vasconcelos**

Graduação em Ciências Biológicas pela Universidade Estadual de Londrina (1994), Especialização em Bioquímica Aplicada (1998) e Mestrado em Genética e Biologia Molecular (2001) pela Universidade Estadual de Londrina. Doutorado em Ciências Biológicas (Microbiologia Aplicada) pela Universidade Estadual Paulista (UNESP) (2009). Professora assistente doutor do Depto de Física, Química e Biologia da FCT-UNESP, Campus de Presidente Prudente/SP.

**Maria de Lourdes Corradi da Silva**

Graduação em Farmácia e Bioquímica pela Universidade Federal do Rio de Janeiro (1980), mestrado (1986) e doutorado (1992) em Ciências (Bioquímica) pela Universidade Federal do Paraná. Professora adjunta do Departamento de Física, Química e Biologia da Faculdade de Ciências e Tecnologia da Universidade Estadual Paulista – UNESP.

**Endereço<sup>(1)</sup>:** Rua Monte Alegre, 982 – Monte Alegre – Ribeirão Preto - SP - CEP: 14051-260 - Brasil - Tel: (18) 98112-3872 - e-mail: [marques.l.a@hotmail.com](mailto:marques.l.a@hotmail.com)

## RESUMO

Os azo corantes são compostos xenobóticos utilizados na indústria, principalmente a têxtil, devido a grande variedade de cores que apresentam, sendo recalcitrantes e altamente tóxicos para animais e seres humanos.

Algumas espécies de fungos filamentosos, principalmente os basidiomicetos, podem apresentar capacidade de descolorir e mineralizar vários tipos de azo corantes, podendo, portanto, ser utilizados na recuperação de ambientes contaminados com resíduos desses corantes.

Nesse sentido, o presente trabalho objetivou avaliar o crescimento dos fungos filamentosos *Pleurotus ostreatus florida*, *Lasiodiplodia theobromae* e *Verticillium lecanii* em meio de cultivo sólido e líquido na presença do azo corante vermelho congo, variando tanto a concentração do azo corante quanto a fonte nutricional (carbono e nitrogênio), visando uma possível aplicação desses micro-organismos na biorremediação de efluentes coloridos.

**PALAVRAS-CHAVE:** Biodegradação, Azo Corante, Vermelho Congo, Fungos Filamentosos.

## 1. INTRODUÇÃO

Nas últimas décadas, o desordenado crescimento populacional e o rápido desenvolvimento industrial desencadearam problemas ambientais que têm atingido dimensões catastróficas. A contaminação de águas naturais tem sido um dos grandes problemas da sociedade moderna, pois diversos impactos ambientais em recursos hídricos são inerentes às características dos efluentes industriais, os quais geralmente contêm uma carga alta de corantes (Kunz et al., 2002; Pereira et al., 2010). Muitas indústrias, como as têxteis, utilizam corantes em seu processo produtivo, o que dificulta o tratamento de seu efluente para a retirada cor intensa causada pela presença desses corantes oriundos dos processos de tingimento e acabamento (Machado et al., 2006).

Os corantes utilizados em indústrias têxteis podem ser de vários tipos e, em geral, são azóicos (presença de ligação N=N). Os azo corantes são compostos altamente tóxicos para animais e seres humanos, podendo ser cancerígenos e de efeito acumulativo (Gill et al 2002, Barreto et al., 2011; Corso, Almeida, 2009). Dentre estes compostos se encontra o azo corante vermelho congo.

Para o tratamento dos efluentes altamente coloridos, diversos processos, principalmente os físico-químicos, vêm sendo estudados com o intuito de remover os corantes e tratar de forma adequada os efluentes têxteis; contudo, geralmente são processos caros e inviáveis economicamente. Entretanto, processos utilizando organismos vivos, como micro-organismos, para remoção da coloração e tratamento desses efluentes tem se mostrado eficazes e economicamente viáveis, uma vez que não dependem de tecnologias avançadas (Barreto et al., 2011; Corso, Almeida, 2009).

Muitos micro-organismos podem ser utilizados para tratar efluentes coloridos e apresentam capacidade de degradar compostos tóxicos. O Brasil é reconhecido como um país que apresenta um dos mais altos índices de biodiversidade vegetal e animal, como bactérias, leveduras ou fungos filamentosos encontrados vivendo em conjunto com as mais de 300.000 espécies vegetais existentes. Dessa forma, é de se esperar que possua também uma enorme diversidade microbiana ainda pouco explorada.

Sabe-se que, em relação às espécies fúngicas, menos de 5% foram descritas, das cerca de 1,5 milhões estimadas (Esposito, Azevedo, 2004, Thompson, Oliveira, 2003), o que mostra que muito ainda pode ser descoberto ou aproveitado em relação a esses organismos.

Analisar, portanto, a biodiversidade fúngica em busca de degradadores eficientes de corantes se faz interessante, pois poderá contribuir para minimizar alterações no meio ambiente causadas por xenobióticos, que levam a interferências diretas e/ou indiretas na saúde humana.

Assim sendo, este trabalho teve como objetivo principal o cultivo dos fungos *Pleurotus ostreatus florida*, *Lasioidiplodia theobromae* e *Verticillium lecani* na presença do azo-corante vermelho congo, visando uma possível aplicação desses micro-organismos na biorremediação de efluentes coloridos.

## 2. MATERIAIS E MÉTODOS

### 2.1. LISTA DE BREVIATURAS

m/v – massa por volume  
MMS – Meio mínimo de sais (VOGEL, 1956)  
M1 – Meio de cultivo 1  
M2 – Meio de cultivo 2  
M3 – Meio de cultivo 3  
M4 – Meio de cultivo 4  
VC – vermelho congo  
nm – nanômetro

### 2.2. MATERIAIS

#### 2.2.1. AZO-CORANTE VERMELHO CONGO

O vermelho congo é um sal sódico do ácido benzidinodiazobis-1-naftilamina-4-sulfônico (fórmula:  $C_{32}H_{22}N_6Na_2O_6S_2$ ; peso molecular: 696.66 g/mol). É um corante diazo aniônico direto, solúvel em água, produzindo uma solução coloidal vermelha. Sua solubilidade é melhor em solventes orgânicos como etanol e seu espectro de absorção UV-VIS mostra uma banda de absorção característica e intensa com máximo em torno de 498 nm na solução aquosa, em concentração baixa do corante (Fu, Y; Viraraghavan, T., 2002). Sua estrutura química é apresentada na figura 1:

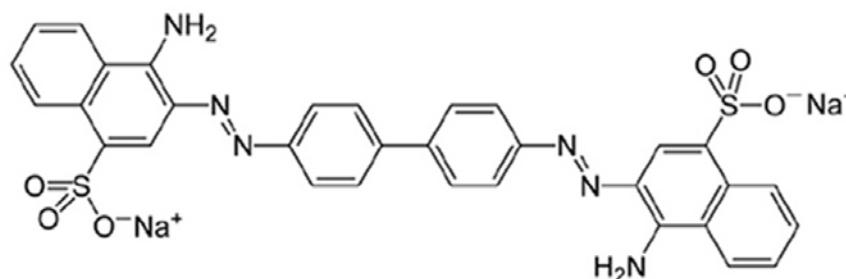


Figura 1 - Estrutura molecular do azo-corante Vermelho Congo.  
Fonte: AXELSON et al., 2008.

### 2.2.2. MICRO-ORGANISMOS

Os micro-organismos utilizados neste trabalho foram o fungo basideomiceto *Pleurotus ostreatus florida*, cedido pela profa Dra Maria Inês Rezende do Depto de Bioquímica e Biotecnologia da UEL/Londrina -PR e os ascomicetos *Lasiodiplodia theobromae*, cedido pelo prof. Dr. Mario A. Cunha (UFTPR -Pr) e o *Verticillium lecanii*, adquirido da Micoteca URM da UFPE-PE.

### 2.2.3. MANUTENÇÃO DOS MICRO-ORGANISMOS

Os três fungos foram mantidos em tubos inclinados contendo meio batata-ágar-dextrose (BDA) a 4°C e repicados (novo inóculo para reativar os micro-organismos) trimestralmente.

### 2.2.4. PREPARO DAS SOLUÇÕES DE CORANTE DE VERMELHO CONGO

Com todo o material esterilizado, inclusive a água, foram preparadas soluções de corante vermelho congo nas seguintes concentrações: 0,001%; 0,01%; 0,1% e 1% (m/v). Em ambiente estéril, as massas de corantes das respectivas concentrações foram diluídas na água destilada e estas soluções foram filtradas à vácuo em membrana de filtração com poros de 47 µm, reservadas em um recipiente estéril para posteriormente serem adicionadas assepticamente aos meios sólido e líquido.

**Tabela 1 – Concentração do azo corante em porcentagem (%) e mg/L.**

Concentração em %	Concentração em mg/L
0,001	10
0,01	100
0,1	1000
1	10000

Após a definição das concentrações do azo corante vermelho congo, as análises do crescimento dos fungos na presença do azo corante foram divididas em duas etapas, cultivo em meio sólido e cultivo em meio líquido, as quais serão descritas a seguir.

## 2.3. MÉTODOS

### 2.3.1. CULTIVO EM MEIO SÓLIDO

Para o cultivo em meio sólido, esferas de aproximadamente 7 mm de diâmetro contendo hifas dos fungos crescidos durante 7 dias, em meio mínimo de saís (VOGEL, 1956) acrescido de glucose 1% (m/v), 0,5% de extrato de levedura e 2% de ágar (m/v) (a  $28 \pm 2^\circ\text{C}$ ), foram transferidas para o centro de placas (Figura 2 A) contendo os meios de cultura descritos a seguir:

M1: MMS acrescido de 1% glucose (m/v), 0,5% de extrato de levedura (m/v) e 2% de ágar (m/v);

M2: MMS acrescido de 0,5% de extrato de levedura (m/v) e 2% de ágar (m/v);

M3: MMS acrescido de 1% glucose (m/v) e 2% de ágar (m/v);

M4: MMS e 2 % de ágar (m/v).

Nas placas com cada meio foram adicionadas, separadamente, soluções aquosas do corante vermelho congo (a 0,001%, 0,01%, 0,1% e 1% m/v). Para controle do cultivo em meio sólido, os fungos foram crescidos nos meios M1, M2, M3 e M4 sem a presença do corante. Os experimentos foram realizados em triplicata para cada micro-organismo e o crescimento fúngico avaliado durante 15 dias, determinado pela medida do diâmetro de crescimento da colônia (cm) em 4 pontos equidistantes a partir do centro de crescimento da colônia.

### 2.3.2. CULTIVO EM MEIO LÍQUIDO

Para os cultivos em meio líquidos (sem adição de ágar), utilizaram-se os meios M1 e M4 com 0,001% (m/v) de vermelho congo. Os meios foram preparados em erlenmeyers de 250 mL, contendo 50 mL de meio de cultivo para manter a proporção 5:1 de ar:meio. Cinco esferas com cerca de 7mm de diâmetro de cada micro-organismo foram inoculadas nos erlenmeyer (Figura 2B). Para controle do cultivo em meio líquido, foram preparados o controle positivo, onde se tinha os meios de cultura na ausência do corante e na presença do micro-organismo, e o controle negativo, onde se tinha os meios de cultura na presença do corante e na ausência do micro-organismo. Os cultivos foram realizados em triplicata em incubadora orbital (shaker) à  $28^\circ\text{C} \pm 2^\circ\text{C}$  durante 10 dias e, após este período, foram centrifugados, filtrados e seus sobrenadantes coletados para

análises de varredura de espectroscopia pelo método UV-VIS a fim de se determinar a remoção da cor do meio de cultivo.

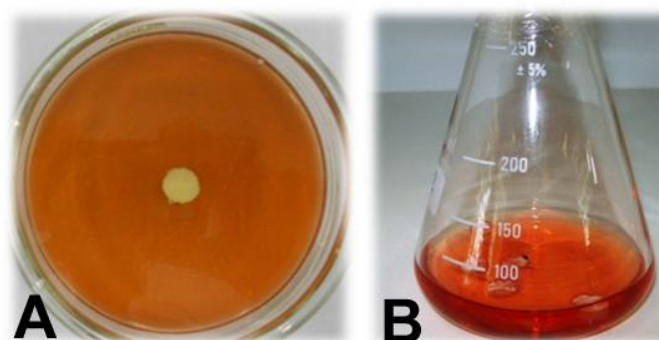


Figura 2 – Inóculo dos micro-organismos: A) em meio de cultivo sólido; B) em meio de cultivo líquido.

### 3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

#### 3.1. CULTIVO EM MEIO SÓLIDO

A análise em meio sólido é importante, pois serve para avaliar a toxicidade da concentração do azo corante para o micro-organismo.

O *P. ostreatus florida* tem sido estudado como um fungo ligninolítico capaz de degradar compostos aromáticos sendo que algumas espécies do gênero *Pleurotus* apresentam capacidade biodegradação e/ou biosorção de corantes (Zhao et al., 2006). Em relação aos fungos *L. theobromae* e o *V. lecanii*, não foram encontrados na literatura estudos que os relacionem com degradação específica de corantes. Contudo, o gênero *Lasiodiplodia* (*Botryodiplodia*) apresenta espécies produtoras de lacases (Vasconcelos et al. 2000, Vasconcelos et al., 2001), que são enzimas relacionadas com processos de detoxificação de xenobióticos.

Para ilustrar o crescimento dos micro-organismos em meio de cultivo sólido (Figura 3), foram utilizadas imagens das placas de cada fungo no meio de cultivo M4 e na concentração de vermelho congo de 1,0%, pois se subentende que, se foram capazes de crescerem no meio ausente de fontes nutricionais iniciais e maior concentração do azo corante, são capazes de crescer nos outros meios descritos.

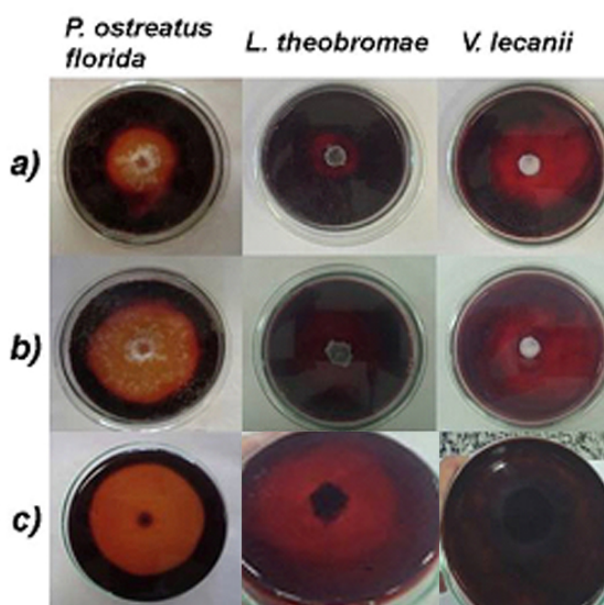
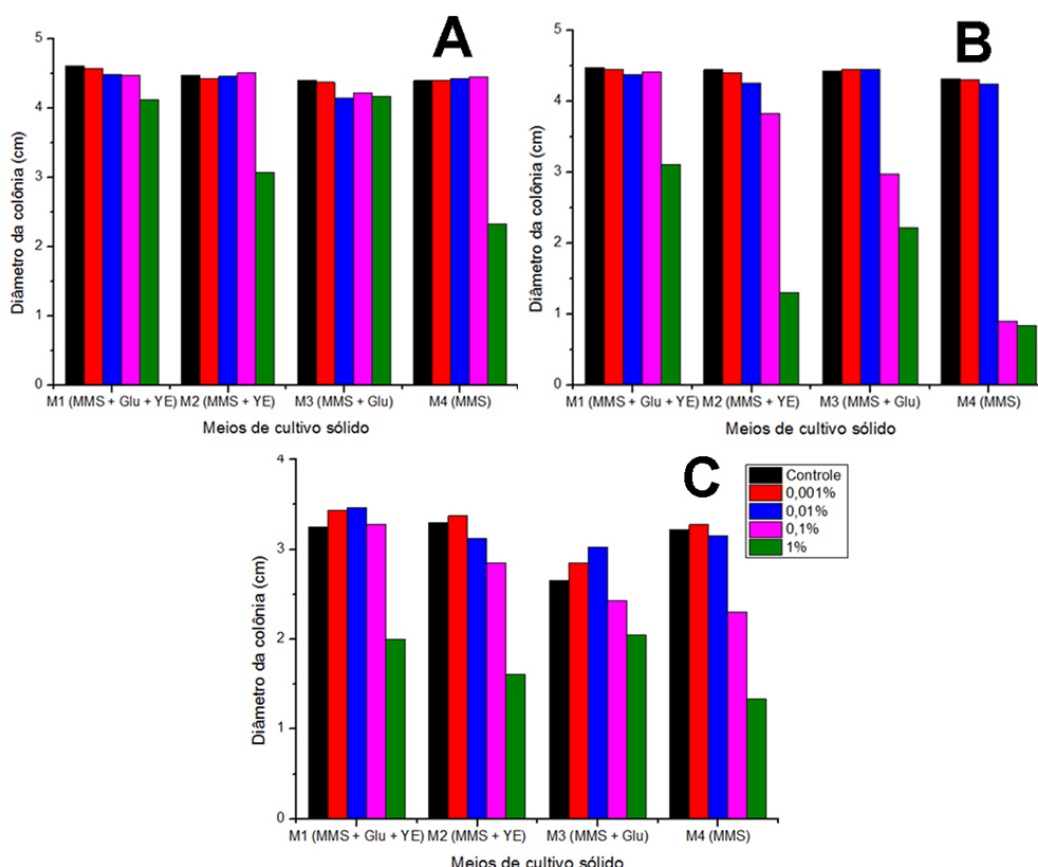


Figura 3 – a) e b) Crescimento dos micro-organismos no meio de cultivo M4 com 1% de vermelho congo após 7 e 15 dias, respectivamente; c) Descoloração ao redor do micélio do meio de cultivo M4 com 1% de vermelho congo após 15 dias.

As análises do crescimento de cada fungo foram feitas diariamente com um intervalo de 24h e foram iniciadas a partir do inóculo, sendo analisado o comportamento do micro-organismo na presença do corante, como se dava seu desenvolvimento (se era de forma abundante ou mais disperso) e houve, também, a quantificação do crescimento de cada micro-organismo a partir de quatro medidas eqüidistantes do centro da placa (Figura 4).

De maneira geral, todos os micro-organismos apresentaram desenvolvimento na presença do azo corante vermelho congo, na seguinte ordem *P. ostreatus florida* > *L. theobromae* > *V. lecanii*. Contudo, houve diferença neste crescimento em relação a concentração máxima de corante suportada por cada um dos micro-organismos.



**Figura 4 - Crescimento dos micro-organismos nos meios de cultivo sólido em diferentes concentrações do azo-corante vermelho congo após o período de 15 dias, em que a) *Pleurotus ostreatus florida*, b) *Lasiodiplodia theobromae* e c) *Verticillium lecanii*. Os valores foram obtidos a partir da média e desvio padrão do crescimento de cada triplicata.**

*P. ostreatus florida* apresentou crescimento por toda a placa na maioria dos meios de cultivo sólido e concentrações do corante, com exceção dos meios M2 e M4 na concentração de 1% devido, provavelmente, a falta de fonte de carbono inicial. *L. theobromae* e *V. lecanii* apresentaram bom crescimento também; entretanto, com maior dificuldade de desenvolvimento quando comparados ao *P. ostreatus florida*. Na ausência de glucose, as hifas dos três micro-organismos cresceram de forma irregular (não esféricas) e esparsas, o que mostrou que a fonte de carbono é mais necessária para o desenvolvimento do que a fonte de nitrogênio.

Na concentração de 1% do corante, os três micro-organismos foram capazes de se desenvolver e descoloriram o meio de cultura (Figura 3C), o que sugere a possibilidade de estarem utilizando o vermelho congo como fonte de carbono e/ou nitrogênio.



Além de descolorirem o meio de cultura, *L. theobromae* e *V. lecanii* alteraram a coloração do meio para tons de roxo nos meios M3 e M4. Essa coloração pode indicar uma mudança de pH no meio de cultivo devido a alguma substância produzida pelo micro-organismo nessa condição, visto que o vermelho congo também pode ser utilizado como indicador de pH.

### 3.2. CULTIVO EM MEIO LÍQUIDO

O crescimento dos fungos pode ser afetado pela presença de corantes em concentrações tóxicas que, por sua vez, afeta a eficiência de descoloração dos corantes. Assim, a classe do corante que define as suas estruturas é tão influente na decisão de sua concentração quanto do grau em que será descolorido. Observou-se que, quanto maior a concentração do corante, mais tempo leva para uma descoloração eficaz (Kaushik, P.; Malik, A., 2009).

Neste trabalho, a escolha da concentração de 0,001% do azo corante foi realizada baseando-se nos resultados do cultivo sólido, os quais mostraram que, nesta concentração, todos os micro-organismos desenvolveram-se bem, e também por concentrações maiores do corante precisarem ser diluídas para as análises do espectro de absorção, o que poderia comprometer os resultados apresentados.

É importante ressaltar a necessidade de se avaliar também o crescimento dos fungos em meio líquido, pois os resultados dão subsídio para determinar a descoloração microbiana por meio da redução e/ou deslocamento da banda de absorção máxima dos corantes (Pereira et al, 2010). Isso se deve ao fato de o micro-organismo ter um contato maior e direto com o corante, o que facilita a excreção de enzimas, as quais podem degradar o corante para a utilização do corante como fonte nutricional ou facilitar sua adsorção ou absorção pelo micélio.

Por se tratar de micro-organismos aeróbicos, os cultivos foram realizados sob agitação, pois facilita a oxigenação do meio de cultivo, favorecendo o desenvolvimento dos fungos (Esposito et al., 2004) e, consequentemente, pode facilitar a descoloração do corante.

De modo geral, os três micro-organismos se desenvolveram no meio líquido na presença do azo corante (Figura 5). O *P. ostreatus florida*, mesmo com o menor crescimento dos três fungos, descoloriu o meio de cultura e o deixou com coloração semelhante do seu controle positivo. Já o *L. theobromae* e o *V. lecanii* cresceram de forma mais abundante e espalhando seu micélio pelo meio líquido dificultando observar se houve descoloração.

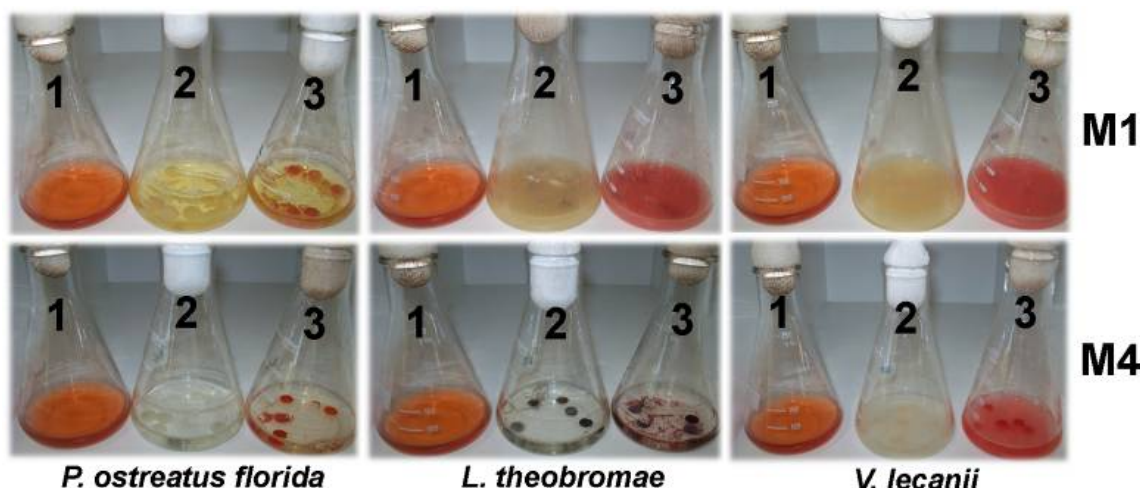


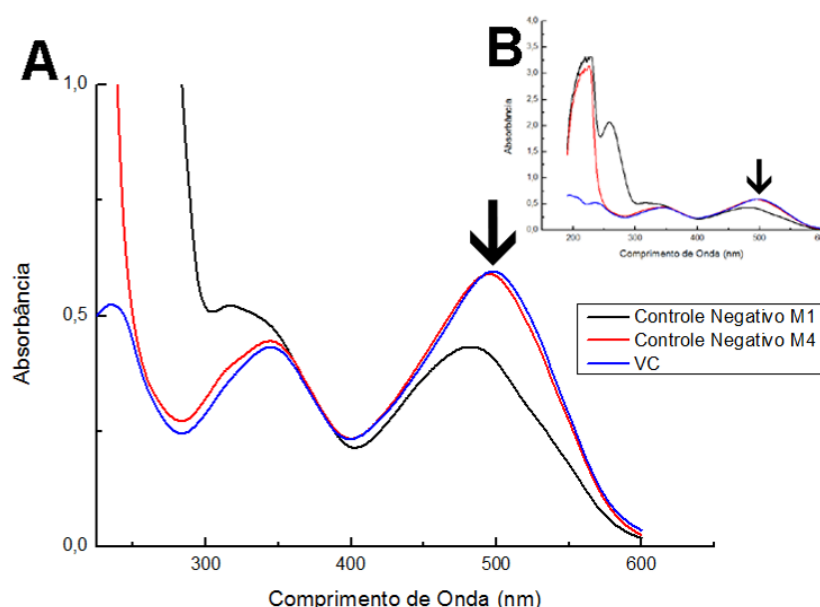
Figura 5 – Crescimento dos micro-organismos nos meios de cultivo M1 e M4 na presença de 0,001% de vermelho congo após 10 dias. 1: controle negativo (meio de cultura na presença de corante e ausência de micro-organismo); 2: controle positivo (meio de cultura na ausência do corante e presença do micro-organismo); 3: cultivo presença do corante e do micro-organismo.

Após avaliar o aspecto dos cultivos, os sobrenadantes obtidos da centrifugação e filtração foram utilizados para análises preliminares de descoloração, realizadas através de espectroscopia de UV-VIS, aplicada para a determinação de remoção da cor de corantes e/ou efluentes coloridos.

Por meio da varredura de uma solução aquosa a 0,001% do azo corante (Figura 6), observou-se que o vermelho congo tem mais de uma banda de absorção. Contudo, de acordo com a literatura, para a análise de biodegradação deste corante, é levada em consideração a sua banda de absorção com máximo em 498 nm. (Telkeet al., 2010).

A figura 6 também mostra a varredura realizada para os controles negativos (presença de corante e ausência de micro-organismos) dos meios de cultivo M1 e M4, visando detectar se há interferência do meio de cultura no espectro de absorção do vermelho congo. Notou-se que não houve interferência dos meios de cultivo na banda de absorção máxima do vermelho congo (498 nm).

Em se tratando da descoloração do corante, é importante observar se houve a redução da sua banda de absorção máxima após o período de cultivo. Quando há a redução dessa banda, supõe-se que o azo corante foi retirado do meio de cultivo, seja por processos degradativos, adsorptivos ou absorptivos (Kamidaet al., 2005).

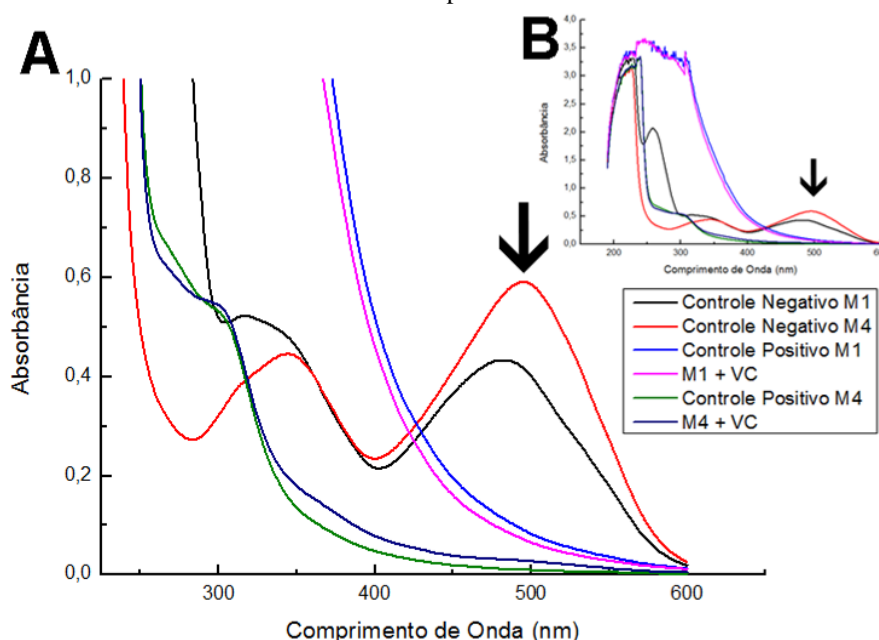


**Figura 6 – Varredura do espectro de absorção UV-VIS dos meios de M1 (MMS + Glu + YE) e M4 (MMS), em que: controle negativo: com corante e sem inóculo; VC: solução aquosa do corante a 0,001% (m/v). A: espectro de 225 a 650nm; B: varredura total (190-600 nm). A seta indica a banda de absorção em seu máximo para o vermelho congo (498 nm).**

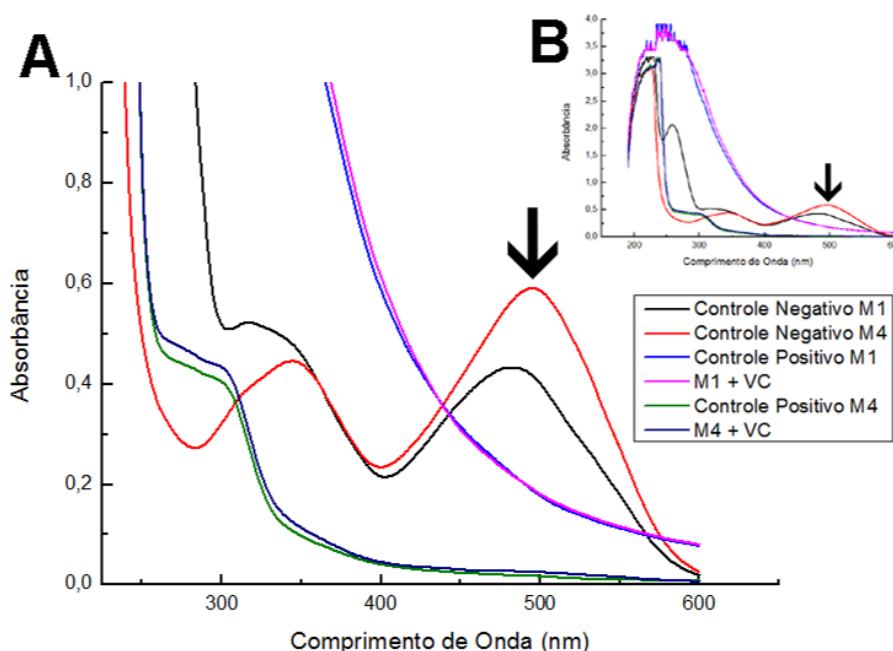
As figuras 7, 8 e 9 mostram a varredura do sobrenadante dos meios de cultivo do *P. ostreatus florida*, *L. theobromae* e *V. lecanii*, respectivamente, após centrifugação e filtração. Essa varredura teve a finalidade de determinar se houve mudança no espectro de absorção do corante, visando detectar a redução da banda de absorção máxima do corante.

Pode-se observar que houve a redução da banda de absorção com máximo em 498 nm do vermelho congo para os meios M1 e M4 para os três fungos. Em sua banda de absorção secundária (aproximadamente 346 nm), o meio M1 apresentou um aumento dela para todos os fungos, provavelmente devido à coloração amarelada do extrato de levedura; enquanto que no meio M4, houve, também, uma redução desta banda de absorção, provavelmente devido à ausência do extrato.

Embora o *L. theobromae* seja um fungo produtor de lacases (Saldanha et al., 2007), a clarificação de seus meios de cultivo e redução da banda espectral do corante pode ser resultado de uma possível adsorção e/ou absorção do corante. O mesmo resultado foi observado para os meios de cultivo do *V. lecanii*.

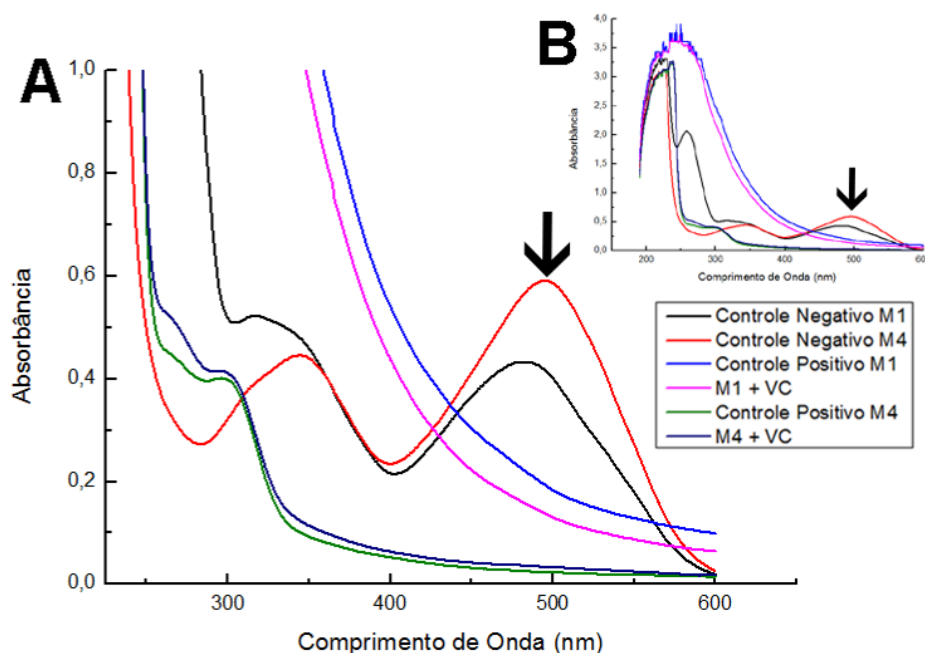


**Figura 7 - Varredura do espectro de absorção UV-VIS do sobrenadante dos meios de M1 (MMS + Glu + YE) e M4 (MMS) do *P. ostreatus florida*, em que: controle negativo: com corante e sem inóculo; controle positivo: sem corante e com inóculo; M1 (MMS + Glu + YE) + VC e M4 (MMS) + VC são, respectivamente, os meios de cultivo M1 e M4 após o crescimento do micro-organismo na presença do azo corante. A: espectro de 225 a 650nm; B: varredura total (190-600 nm). A seta a banda de absorção em seu máximo para o vermelho congo (498 nm).**



**Figura 8 - Varredura do espectro de absorção UV-VIS do sobrenadante dos meios de M1 (MMS + Glu + YE) e M4 (MMS) do *L. theobromae*, em que: controle negativo: com corante e sem inóculo; controle positivo: sem corante e com inóculo; M1 (MMS + Glu + YE) + VC e M4 (MMS) + VC são, respectivamente, os meios de cultivo M1 e M4 após o crescimento do micro-organismo na presença do azo corante. A: espectro de 225 a 650nm; B: varredura total (190-600 nm). A seta indica a banda de absorção em seu máximo para o vermelho congo (498 nm).**





**Figura 9 – Varredura do espectro de absorção UV-VIS do sobrenadante dos meios de M1 (MMS + Glu + YE) e M4 (MMS) do *V. lecanii*, em que: controle negativo: com corante e sem inóculo; controle positivo: sem corante e com inóculo; M1 (MMS + Glu + YE) + VC e M4 (MMS) + VC são, respectivamente, os meios de cultivo M1 e M4 após o crescimento do micro-organismo na presença do azo corante. A: espectro de 225 a 650nm; B: varredura total (190-600 nm). A seta indica a banda de absorção em seu máximo para o vermelho congo (498 nm).**

Sabendo-se que a absorbância é diretamente proporcional a concentração do corante, calculou-se quanto cada micro-organismo reduziu a sua banda de absorção máxima por meio da seguinte fórmula:

$$P = \left(1 - \frac{ABS_{Cultivo}}{ABS_{Controle}}\right) \times 100, \text{ em que:}$$

P: porcentagem de redução da absorbância;

ABS<sub>Cultivo</sub>: absorbância do cultivo após o período de crescimento;

ABS<sub>Controle</sub>: absorbância dos meios de controle negativo M1 e M4.

Os valores utilizados para realizar os cálculos para cada micro-organismo foram obtidos dos gráficos apresentados nas figuras 7, 8 e 9. Através deste cálculo, obtiveram-se os percentuais de remoção para cada micro-organismo nos meios de cultura M1 e M4. Os valores estão dispostos na tabela 2.

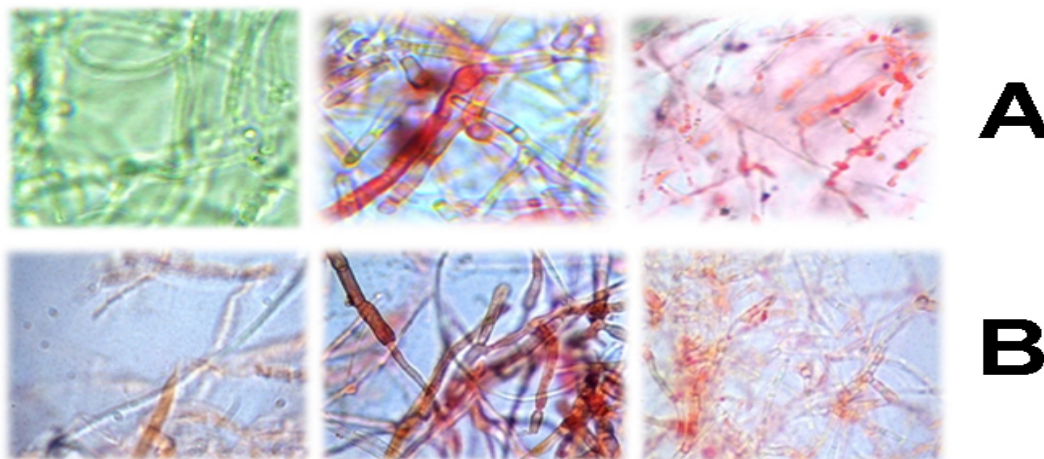
**Tabela 2 – Percentual de redução da absorbância para os micro-organismos nos meios de cultivo M1 e M4.**

	Redução da banda de absorção (%)	
	M1	M4
<i>P. ostreatus florida</i>	83,26	95,45
<i>L. theobromae</i>	54,66	95,54
<i>V. lecanii</i>	67,4	94,42

Os resultados mostraram que, para o meio de cultivo M1, o percentual da remoção da banda máxima de absorção é dado pela seguinte ordem: *P. ostreatus florida* > *V. lecanii* > *L. theobromae*. Para o meio de cultivo M4, os percentuais foram muito próximos entre os três micro-organismos. Estes resultados sugerem que na

ausência de fonte nutricionais comuns, como a glucose e o extrato de levedura, os micro-organismos provavelmente utilizaram o corante como fonte de carbono para desenvolver suas estruturas celulares.

É importante ressaltar que durante o crescimento dos fungos nos meios sólidos e líquidos foi observado mudança de cor das hifas. A partir dessa observação, foram feitas microscopias ópticas do material celular dos três micro-organismos nessas condições de cultivo (Figura 10).



**Figura 10 – Microscopia óptica do micélio dos fungos *P. ostreatus florida*, *L. theobromae* e *V. lecanii*, respectivamente, após 10 dias de crescimento em meio sólido (aumento de 1000x), em que: A – cultivo em meio sólido; B – cultivo em meio líquido.**

As micrografias mostraram que o corante estava presente dentro das células de *L. theobromae* e *V. lecanii*, o que pode ser possível indicio de adsorção ou absorção da substância. Entretanto, nas micrografias do micélio do *P. ostreatus florida* não se observou essa coloração em meio sólido, apesar do halo de degradação, e no meio líquido foi menos aparente do que para os outros micro-organismos, o que pode indicar que talvez esteja ocorrendo absorção e/ou adsorção do corante por este fungo. Esses resultados, assim como os observados em relação a variação das bandas de absorção do vermelho congo após os cultivos líquidos, também podem reforçar a ideia de degradação, absorção ou adsorção do corante pelos fungos estudados. Entretanto, outras análises são ainda necessárias, como por exemplo a determinação enzimática (lacases, peroxidases), ou cromatografia líquida para determinação de derivados, para que estes fungos sejam utilizados em futuros processos de biorremediação de ambientes contaminados com resíduos coloridos

#### 4. CONCLUSÕES

Após a análise dos resultados obtidos, conclui-se que:

O corante não se mostrou tóxico para os três micro-organismos, permitindo seu crescimento e provável uso do vermelho congo como fonte nutricional. Além da descoloração por provável quebra das ligações do grupamento azo ( $N=N$ ), também é possível que os fungos adsorvam e/ou absorvam o corante para manutenção de seus metabolismos. Dessa forma, os micro-organismos *P. ostreatus florida*, *L. theobromae* e *V. lecanii* tem potencial para serem aplicados em ensaios de biodegradação e biorremediação.

#### 5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. AXELSON, G.K; GIORGADZE, T; YOUNGBERG, G.A. Evaluation of the use of Congo red staining in the differential diagnosis of Candida vs. various other yeast-form fungal organisms. *Journal of Cutaneous Pathology*. V.35, p.27-30, 2008.
2. BARRETO, W. J.; BERNARDINO, N. D.; Afonso, R.; DOI, S. M. O. Biodegradação de uma mistura de corantes têxteis usando o fungo *ganoderma* sp: um estudo cinético. *Quim. Nova*, Londrina, v. 34, p. 568-572, 2011

3. CORSO, C. R.; ALMEIDA, A. C. M. Bioremediation of Dyes in Textile Effluents by *Aspergillus soryzae*. *MicrobEcol*, v. 57, p. 384-390, 2009.
4. ESPOSITO, E.; AZEVEDO, J. L. Introdução. In: ESPOSITO, E.; AZEVEDO, J. L. **Fungos: uma introdução à biologia, bioquímica e biotecnologia**. Caxias do Sul: Educs, 2004.
5. FU, Y.; VIRARAGHAVAN, T. Removal of Congo Red from an aqueous solution by fungus *Aspergillusniger*. *Advances in Environmental Research*, v. 7, p. 239 - 247, 2002
6. GILL, P. K.; ARORA, D. S.; CHANDER, M. Biodecolourization of azo and triphenylmethane dyes by *Dichomitus squalens* and *Phlebia spp.* *Journal of Industrial Microbiology & Biotechnology*, v. 28, p. 201 -203, 2002.
7. KAMIDA, H. M.; DURRANT, L. R.; MONTEIRO, R. T. R.; ARMAS, E. D. Biodegradação de efluente textile por *Pleurotus sajor-caju*. *Quim. Nova*, v. 28, p. 629-632, 2005.
8. KAUSHIK, P.; MALIK, A. Fungal dye decolourization: Recent advances and future potential. *Environment Internacional*, v. 25, p. 127 – 141, 2009.
9. KUNZ, A.; PERALTA-ZAMOURA, P.; MORAES, S. G.; DURÁN, N. Novas tendências no tratamento de efluentes têxteis. *Quim. Nova*, v. 25, p. 78 – 82, 2002.
10. MACHADO, K. M. G.; COMPART, L. C. A.; MORAIS, R. O.; ROSA, L. H.; SANTOS, M. H. Biodegradation of reactive textile dyes by basidiomycetous fungi from brazilian ecosystems. *Brazilian Journal of Microbiology*, v. 37, p. 481-487, 2006.
11. PEREIRA, A. R. B.; BUENO, F. L.; SANTOS, S. C.; LIMA, C. A. A.; DIAS, A. L. T. Biodegradação de corantes e efluentes têxteis por fungos. *HOLOS Environment*, v. 10, p. 165, 2010.
12. REZENDE, M. I.; BARBOSA, A. M.; VASCONCELOS, A. F. D.; HADDAD, R.; DEKKER, R. F. H. Growth and production of laccases by the ligninolytic fungi, *Pleurotus ostreatus* and *Botryosphaeria rhodina*, cultured on basal medium containing the herbicide, Scepter® (imazaquin). *J. Basic Microbiol*, Londrina, v. 45, p. 460-469, 2005.
13. SALDANHA, R.L.; GARCIA, J.E.; DEKKER, R.F.H.; VILAS-BOAS, L.A.; BARBOSA, A.M. Genetic diversity among *Botryosphaeria* isolates and their correlation with cell wall-lyticenzyme production. *Brazilian Journal of Microbiology*, São Paulo, v.38, p.259-264, 2007.
14. TELKE, A. A.; JOSHI, S. M.; JADHAV, S. U.; TAMBOLI, D. P.; GOVINDWAR, S. P. Decolorization and detoxification of Congo red and textile industry effluent by an isolated bacterium *Pseudomonas sp.* SU-EBT. *Biodegradation*, v. 21, p. 283-296, 2010.
15. THOMPSON, F. L.; OLIVEIRA, V. M. Taxonomia microbiana (doc). 2003 In: Diretrizes e estratégias para a modernização de coleções biológicas brasileiras e a consolidação de sistemas integrados de informação sobre biodiversidade (disponível em [www.cria.org.br/cgee/col/documentos/microtax.doc](http://www.cria.org.br/cgee/col/documentos/microtax.doc)).
16. VASCONCELOS, ANA FLORA D., BARBOSA, ANELI M., DEKKER, ROBERT F.H., SCARMINIO, IEDA S., REZENDE, MARIA INÊS. Optimization of laccase production by *Botryosphaeria sp.* in the presence of veratryl alcohol by the response-surface method. *Process Biochemistry* , v.35, p.1131 - 1138, 2000.
17. VASCONCELOS, ANA FLORA DALBERTO, DEKKER, ROBERT F H, BARBOSA, ANELI DE MELO, PACCOLAMEIRELLES, L. Comparasion of the laccases, taxonomic marker proteins, and induction of pycnidia by three species of botryosphaeriaceous fungi. *Mycoscience (Tokyo)*. , v.42, p.543 - 548, 2001.
18. VOGEL, H. J. *Genetc Bull.*, v. 13, p. 42-43, 1956.
19. ZHAO, X.; HARDIN, I. R.; HWANG, H. M. Biodegradation of a model azo disperse dye by the white rot fungus *Pleurotus ostreatus*. [\*International Biodeterioration & Biodegradation\*](#), v. 57, p. 1 – 6, 2006.