

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE ALAGOAS
UNIDADE ACADÊMICA CENTRO DE TECNOLOGIA
CURSO DE ENGENHARIA QUÍMICA**

GABRIELLY KARLA SILVA SANTOS

**ISOLAMENTO DE FUNGOS FILAMENTOSOS EM SISTEMA ABERTO DE
TRATAMENTO DO SORO DO LEITE POR MICROALGAS**

Maceió
2023

GABRIELLY KARLA SILVA SANTOS

**ISOLAMENTO DE FUNGOS FILAMENTOSOS EM SISTEMA ABERTO DE
TRATAMENTO DO SORO DO LEITE POR MICROALGAS**

Plano de Trabalho de Conclusão de Curso
apresentado ao curso de Engenharia Química da
Universidade Federal de Alagoas como
requisito parcial para obtenção do título de
Bacharel em Engenharia Química.

Orientador: Prof. Dr. Carlos Eduardo de Farias
Silva

Coorientador: Me. Josimayra Almeida
Medeiros

Maceió
2023

Catálogo na Fonte
Universidade Federal de Alagoas
Biblioteca Central
Divisão de Tratamento Técnico

Bibliotecário: Marcelino de Carvalho Freitas Neto – CRB-4 – 1767

S237i Santos, Gabrielly Karla Silva.
Isolamento de fungos filamentosos em sistema aberto de tratamento do soro do leite por microalgas / Gabrielly Karla Silva Santos. – 2023.
52 f. il. : figs. ; tabs. color.

Orientador: Carlos Eduardo de Freitas Silva.
Co-orientadora: Josimayra Almeida Medeiros.
Monografia (Trabalho de Conclusão de Curso em Engenharia Química).
Universidade Federal de Alagoas. Centro de Tecnologia. Maceió, 2023.

Bibliografia: f. 45-52.

1. Fungos - Identificação. 2. Espalhamento. 3. Indústria do leite. I. Título.

CDU: 637.12

AGRADECIMENTOS

Primeiramente a Deus que permitiu que tudo isso acontecesse, ao longo de minha vida e me deu saúde e discernimento para continuar minha jornada.

Agradeço a minha mãe que sempre me deu amor, carinho e apoio nas horas difíceis de desânimo, cansaço e desespero. Ela foi meu porto seguro durante todos estes anos de vida. Também ao meu pai e meu irmão pelo incentivo e apoio incondicional.

Quero agradecer aos meus amigos e companheiros de graduação, Alice, Samarinha, Lucas, Larissa, Tertu e Leon. As risadas e momentos de desânimo que compartilhei com vocês durante a faculdade estarão sempre na minha memória e coração. Obrigada por tudo.

Gratidão as minhas parceiras de laboratório, Josi, Mica e Francine que sempre me auxiliaram na minha trajetória de pesquisadora e nos momentos difíceis, sempre melhorando o clima do laboratório e me fazendo dar boas gargalhadas. Este TCC também é de vocês!

Ao meu orientador, Professor Doutor Carlos Eduardo, pelo suporte, correções e incentivos.

A todos que direta ou indiretamente fizeram parte da minha formação, o meu muito obrigado.

RESUMO

O soro do leite, subproduto da produção de queijo, contém alto potencial poluidor caso descartado de maneira inadequada. Assim, a biorremediação em sistemas abertos é uma via para o tratamento deste efluente, visto que não requer assepsia do efluente e possibilita a contaminação por microrganismos exógenos que podem fornecer um co-cultivo positivo com outros microrganismos. Diante disso, este trabalho isolou e caracterizou os fungos filamentosos contaminantes exógenos no soro do leite durante o seu tratamento em sistema aberto com a microalga *Tetrademus sp.* em reatores de vaso acrílico transparente (PoliControl©) com diferentes cargas orgânicas (1 e 4% v/v) e intensidade luminosa de $100 \mu\text{mol f\acute{o}tons m}^{-2}\text{s}^{-1}$ em batelada por 7 dias. A identificação dos fungos contaminantes ocorreu utilizando os meios Agar Sabourard, BDA (Batata Dextros e Agar) e Agar Nutriente com diferentes diluições, feitas em água peptonada 0,1% utilizando a técnica do espalhamento e estriamento e a cada 3 dias o crescimento microbiano foi acompanhado por meio da contagem de unidades formadora de colônias (UFC). Foi comprovado que o sistema de tratamento aberto apresenta contaminantes exógenos e que a realimentação acarreta no decaimento na concentração de células microbianas. Ademais, seis fungos filamentosos distintos foram isolados e apresentaram características (morfológicas e microscópicas) que possivelmente os fazem pertencer aos gêneros *Trichophyton*, *Cladosporium*, *Epidermophyton*, *Chrysosporium*, *Nigrospora* e *Penicillium*, sendo uma caracterização molecular necessária para confirma o gênero e espécie desses microrganismos.

Palavras-Chave: Identificação microbiana; Espalhamento; Indústria do leite.

ABSTRACT

Whey, a by-product of cheese production, has a high polluting potential if disposed of improperly. Thus, bioremediation in open systems is a way to treat this effluent, since it does not require asepsis of the effluent and allows contamination by exogenous microorganisms that can provide a positive co-culture with other microorganisms. Therefore, this work isolated and characterized exogenous contaminating filamentous fungi in milk whey during its treatment in an open system with the microalgae *Tetradescmus* sp. in transparent acrylic vessel reactors (PoliControl©) with different organic loads (1 and 4% v/v) and light intensity of 100 $\mu\text{mol photons m}^{-2} \text{s}^{-1}$ in batch for 7 days. The identification of contaminating fungi occurred using Agar Sabourard, PDA (Potato Dextrose and Agar) and Nutrient Agar media with different dilutions, made in 0.1% peptone water using the spreading and striation technique and every 3 days, the microbial growth was followed by counting colony forming units (CFU). It was proved that the open treatment system presents exogenous contaminants and that the feedback causes a decrease in the concentration of microbial cells. Furthermore, six distinct filamentous fungi were isolated and presented characteristics (morphological and microscopic) that possibly make them belong to the genera *Trichophyton*, *Cladosporium*, *Epidermophyton*, *Chrysosporium*, *Nigrospora* and *Penicillium*, being a molecular characterization necessary to confirm the genus and species of these microorganisms.

Key words: Microbial identification; Spreading; Milk industry.

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO.....	10
2 OBJETIVOS.....	12
2.1 Geral.....	12
2.2 Especificos.....	12
3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	13
3.1 Indústria do Leite.....	13
3.2 Produção e características do Soro do Leite.....	14
3.3 Processos de Tratamento Biológico do Soro do Leite.....	14
3.4 Microalgas	15
3.4.1 Microalgas no tratamento de efluentes.....	15
3.5 Fungos Filamentosos no tratamento de efluentes.....	16
3.6 Microalgas e Fungos Filamentosos no Tratamento do Soro do Leite	17
3.6.1 Processos que utilizam microalgas e/ou fungos filamentosos	18
3.7 Isolamento e Caracterização de Fungos Filamentosos	20
3.7.1 Técnica de isolamento e meios de cultura	20
3.7.2 Caracterização morfológica.....	21
4 METODOLOGIA.....	23
4.1 Isolamento dos Fungos filamentosos.....	24
4.2 Caracterização Macroscópica	24
4.3 Caracterização Microscópica.....	25
4.4 Medidas de biossegurança.....	25
5 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	26
5.1 Acompanhamento de contaminação	26
5.1.1 Isolamento dos fungos	28
5.2 Caracterização e identificação dos fungos.....	29
5.2.1 Identificação do Fungo 1 (F1), Fungo 5 (F5) e Fungo 8 (F8).....	29
5.2.2 Identificação do Fungo 2 (F2).....	31
5.2.3 Identificação do Fungo 4 (F4).....	34
5.2.4 Identificação do Fungo 6 (F6).....	36
5.2.5 Identificação do Fungo 9 (F9).....	38
5.2.6 Identificação do Fungo 10 (F10).....	40
6 CONCLUSÃO.....	44
REFERÊNCIAS	45

LISTA DE TABELAS

Tabela 1-Características dos efluentes da indústria de laticínios.....	13
Tabela 2 - Vantagens e desvantagens de sistemas abertos e fechados para cultivo de microalga.....	15
Tabela 3 - Vantagens e limitações atuais da copeletização de microalgas com fungos filamentosos.....	19
Tabela 4 – Diluições utilizadas durante o experimento.....	23

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figuras

Figura 1- Interação entre fungo e microalga.....	17
Figura 2- Características morfológicas dos fungos: macroscópicas e microscópicas.....	22
Figura 3-Fluxograma da metodologia utilizada.....	24
Figura 4- Placas de Petri da fase inicial do experimento.....	26
Figura 2-Microrganismos contaminantes.....	28
Figure 6 – Isolamento dos fungos contaminantes.....	29
Figura 7 - Imagens macro e microscópicas do F1, F5 e F8.....	30
Figura 8 - Mudança de cor do F5.....	31
Figura 9- Características morfológicas do fungo <i>Cladosporium</i>	32
Figura 10-Morfologia do <i>Cladosporium</i>	33
Figura 11 - Características microscópicas do fungo <i>Cladosporium</i>	33
Figura 12 - Características macro e microscópicas do F4.....	35
Figura 13 - Figura 13 - Processo de mudança de cor do F4.....	36
Figura 14 - Características macroscópicas F6.....	37
Figura 15 - Características microscópicas do F6.....	37
Figura 16-Características Microscópicas.....	38
Figura 17-Imagem microscópica do F9.....	39
Figura 18 - <i>Nigrospora sp.</i> endofíticas de bromélias do Parque Nacional da Restinga de Jurubatiba, RJ.....	40
Figura 19- Comparação do Fungo 10 (F10) isolado como o <i>Penicillium spp.</i>	41
Figura 20-Fungo isolado F10.....	41
Figura 21-F10 no microscópio.....	42
Figura 22-Conidióforos de <i>Penicillium sp.</i> observado mediante microscopio óptico (40X).....	42

Gráficos

Gráfico 1 - Crescimento microbiano.....	27
Gráfico 2 -Crescimento microbiano BDA e Agar Nutriente.....	27

1 INTRODUÇÃO

A indústria de laticínios, que constitui uma parcela importante da indústria alimentícia, é responsável pelo processamento do leite e seus derivados como queijo, manteiga, iogurte, entre outros. Este setor consome uma quantidade considerável de água na fabricação dos produtos e procedimentos de limpeza dos equipamentos, gerando um elevado volume de efluentes com alta carga orgânica. O tratamento dos resíduos deste setor alimentício consiste geralmente em um tratamento físico primário para a sedimentação de sólidos suspensos seguidas de um tratamento químico ou biológico secundário para a remoção da matéria orgânica dissolvida e de nutrientes (ANDRADE, 2011; KARAPANAGIOTI, 2016).

O soro do leite, principal subproduto da fabricação de queijo, possui grande potencial poluidor caso descartado de maneira inadequada, causando problemas como a poluição do solo, das águas superficiais e subterrâneas e a eutrofização (OCDE/FAO, 2022). Em vista disto, existem diversos tipos de tratamento que podem ser utilizados para a remediação do soro do leite sendo métodos físicos e químicos são pouco viáveis para a indústria por exigirem um alto custo. Em contrapartida, a biorremediação se apresenta como uma alternativa, pois consiste na utilização de organismos biológicos capazes de absorver ou degradar determinado poluente, utilizando-o como fonte de carbono e nutrientes (BARBOSA, 2022).

As microalgas são microrganismos adequados para o tratamento biológico de efluentes por consumirem nitrato e fosfato, além de transformarem carbono inorgânico em biomassa por meio da fotossíntese (AHMAD et al., 2021). Os principais fatores que governam o crescimento e cultivo de microalgas são luz, CO₂/ar, nutrientes, parâmetros de processo (pH, temperatura, meio de crescimento) e o tipo de sistema usado para o cultivo (SONG et al., 2022). Os sistemas usualmente empregados para o cultivo de microalgas são o sistema aberto, sistema fechado, também comumente conhecido como fotobiorreatores, e sistema híbridos (JAISWAL et al., 2021).

O sistema de tratamento em tanque aberto é muito utilizado para o cultivo de microalgas por ser de simples operação e ainda, permitir que o meio seja contaminado por alguns tipos de microrganismos que atuam, na maioria das vezes, favorecendo o processo de tratamento. Dentre estes contaminantes estão os fungos, organismos heterotróficos adequados para a absorção biológica de minerais e para o tratamento biológico de poluentes de águas residuais industriais graças a sua capacidade de degradar a matéria orgânica presente no meio. A interação microalga-fungo, é evidenciada em vários estudos em razão da relação sinérgica que ocorre

entre estes microrganismos, favorecendo o crescimento de ambos e assim otimizando o processo de biorremediação (FARHAN; ABID; DELLAS, 2022; LAM et al., 2018).

A identificação e caracterização do fungo contaminante é uma etapa muito importante para compreender as rotas metabólicas que ocorrem durante o processo de tratamento e melhorar a eficiência do sistema. A taxonomia de fungos é baseada principalmente na classificação morfológica, a qual inicialmente compreende abordagens fenotípicas, seguidas de outras metodologias como análises moleculares, químicas, ecológicas ou fisiológicas (HYDE et al. 2010; MANAWASINGHE et al. 2019; SENANAYAKE et al., 2020).

Dessa forma, é promissor o estudo de fungos filamentosos contaminantes presentes no soro do leite durante seu tratamento para entender sua relação com a microalga presente visando assim a otimização deste processo.

2 OBJETIVOS

2.1 Geral

Isolar e caracterizar os fungos filamentosos contaminantes no soro do leite durante o seu tratamento em sistema aberto.

2.2 Específicos

- Isolar os fungos filamentosos presentes no soro do leite durante seu tratamento utilizando a microalga;
- Caracterizar macroscopicamente e microscopicamente os fungos filamentosos isolados;
- Identificar com base em banco de dados os possíveis gêneros das espécies isoladas.

3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

3.1 Indústria do Leite

A indústria de laticínios é um setor do ramo alimentício responsável pelo processamento de leite e produção de seus derivados. Durante a pandemia de COVID-19 esse setor provou ser notavelmente resiliente, visto que natureza perecível do leite líquido fresco e dos produtos lácteos frescos os tornou particularmente vulneráveis a interrupções na cadeia de abastecimento (OCDE/FAO, 2021). No Brasil, esse setor da indústria possui grande importância social e econômica, de maneira que a quantidade de leite cru adquirido no segundo trimestre de 2022 foi de 5.397.811 mil litros, sendo a quantidade de leite cru industrializado de 5.389.682 mil litros (IBGE, 2022). Internacionalmente, o leite é comercializado principalmente na forma de produtos lácteos processados e sua produção mundial cresceu 1,4% em 2020. Na Índia, o maior produtor mundial de leite, a produção aumentou 2,1% neste mesmo ano (OCDE/FAO, 2021).

O processamento de produtos lácteos pode resultar em resíduos da fermentação do leite ou subprodutos do processo, que podem ser utilizados na preparação de outros produtos lácteos, como concentrados de soro do leite. Os resíduos lácteos, em geral, possuem sólidos em suspensão, matéria orgânica, alto teor de nitrogênio e fósforo e presença de óleos e graxas, conforma a Tabela 1. Além disso, podem conter resíduos dos produtos de limpeza utilizados na higienização de utensílios e equipamentos. A poluição causada pela indústria de laticínios afeta a qualidade do ar, do solo e da água. (AHMAD et al., 2019).

Tabela 2-Características dos efluentes da indústria de laticínios.

Tipo de efluente	DQO (mg/L)	DBO (mg/L)	pH
Fábrica de laticínios árabe	3.383 ± 1.345	1941±864	7,9 ± 1,3
Efluente de laticínios	1.900-2.700	1200-1800	7,2-8,8
Águas residuais de laticínios	2.500-3.000	1.300-1.600	7,2-7,5
Soro do Leite prensado	80.000-90.000	120.000- 135.000	6
Água de lavagem da indústria de laticínios Aavin	2.500-3.300	-	6,4 -7,1

DQO -Demanda Química de Oxigênio; **DBO** - Demanda Biológica de Oxigênio. Fonte: Adaptado de SHETE; SHINKAR (2013).

3.2 Produção e características do Soro do Leite

O queijo geralmente é produzido por coalhada direta do leite cru integral sem nenhum tratamento preventivo. Após este processo resta uma parte aquosa do leite, denominada soro do leite, um subproduto/coproduto que se destaca pelo seu grande volume, alto valor nutricional e elevado potencial poluidor, se descartado sem o tratamento adequado. (TILOCCA et al., 2020) O despejo do soro do leite em rios e lagos resulta no aumento do processo de eutrofização, resultando em crescimento excessivo de micróbios, bem como de plantas aquáticas (DE JESUS et al., 2015)

O soro do leite tem uma cor amarelo-esverdeada devido à presença de riboflavina e contém cerca de 65 g de sólidos totais por litro, sendo a sua composição influenciada pela origem do leite, dos tipos de queijo fabricados e, geralmente, por fatores relacionados ao animal como raça, ciclos sazonais, alimentação e fase de lactação. De forma geral, o soro de leite contém lipídios, carboidratos, vitaminas solúveis, minerais e proteínas. Sua demanda bioquímica de oxigênio (DBO) é de cerca de 435.000 mg.L⁻¹ e sua demanda química de oxigênio (DQO) é de 460.000 mg.L⁻¹, podendo estes valores variar para mais ou para menos (AHMAD et al., 2019; AKANSHA et al., 2020; KRRISHNA., 2022; LEÓN-LÓPEZ et al., 2022; PIRES et al., 2021).

3.3 Processos de Tratamento Biológico do Soro do Leite

Os sistemas de tratamento de efluentes de laticínios que usam métodos biológicos clássicos removem compostos orgânicos, fósforo e nitrogênio do efluente a um custo relativamente baixo. Esses métodos são geralmente a escolha principal para os engenheiros ambientais. Tratamento aeróbico ou anaeróbico são utilizadas para lidar com efluentes lácteos de forma eficiente. No entanto, o lodo produzido durante a biodegradação aeróbica pode causar problemas de descarte significativos e caros (KRISHNA et al., 2022).

A biorremediação é um tratamento biológico que utiliza uma vasta gama de microrganismos para desintoxicar, reduzir, degradar, mineralizar ou transformar poluentes mais tóxicos ou instáveis em formas que se adequem aos padrões dados pelos órgãos ambientais. A eficiência do processo de bioremediação de poluentes depende principalmente das características dos poluentes orgânicos ou inorgânicos, como agroquímicos, corantes, hidrocarbonetos, metais pesados, plásticos, entre outros. Este processo é referido como o método mais eficiente, econômico e ecológico, sendo assim uma alternativa adequada (PATEL et al., 2022).

3.4 Microalgas

As microalgas são pequenos grupos de algas que só podem ser identificadas ao microscópio e que usam fotossíntese para transformar carbono inorgânico em biomassa e consumir nutrientes como nitrato e fosfato (SONG et al., 2022; JAISWAL et al., 2021).

Existem duas abordagens principais para o cultivo de microalgas em larga escala: cultivo aberto ou fechado. As principais diferenças entre os sistemas abertos e fechados estão relacionadas à forma como eles operam, vulnerabilidade a influências externas e custos de construção de operação (JERNEY; SPILLING, 2018). Segundo a literatura, ambos os sistemas possuem algumas vantagens e desvantagens, conforme ilustra a Tabela 2.

Tabela 2 - Vantagens e desvantagens de sistemas abertos e fechados para cultivo de microalga.

Vantagens	Desvantagens
Sistemas Abertos	
Construção, operação e manutenção são fáceis (limpeza fácil)	Alto risco de contaminação pelos predadores e heterótrofos
Requer baixa energia	Exigência de grande área/espço
Melhor para o cultivo em massa de microalgas	Pouco controle de cultura e dependência climática
Sistemas fechados	
Pouca ou nenhuma dependência do clima	Mais caro em relação ao sistema aberto
Maior densidade de microalgas	Há dificuldade no aumento de microalgas
Nenhum ou pouco risco de contaminação	Tensões de cisalhamento podem danificar as células

Fonte: Adaptado de AHMAD et al. (2021).

3.4.1 Microalgas no tratamento de efluentes

A microalgas podem realizar o processo de remediação do efluente por três vias principais: bioadsorção, bioabsorção e biodegradação. A bioadsorção de microalgas ocorre quando os contaminantes são adsorvidos aos componentes da parede celular ou em substâncias orgânicas excretadas pelas células, enquanto a bioabsorção envolve o transporte ativo do contaminante para dentro da célula, onde se liga a proteínas intracelulares e outros compostos. No caso da biodegradação de contaminantes pela microalga, tem-se processos que envolve a transformação de compostos complexos em moléculas de degradação mais simples através da

degradação metabólica catalítica. A biodegradação fornece uma das tecnologias mais promissoras para a remediação de contaminantes preocupantes, pois pode transformar o contaminante em compostos menos tóxicos, em vez de atuar como um biofiltro (SUTHERLAND; RALPH, 2019).

O uso de microalgas para o tratamento biológico de nutrientes, como nitrogênio, fósforo e carbono, de vários fluxos de águas residuais foi demonstrado com sucesso em várias escala, além disso é notório a capacidade deste microrganismo de possuir relações sinérgicas com outros tipos de microrganismos (AHMAD et al., 2019).

Xie et al. (2018) utilizou a microalga *Chlorella vulgaris* e bactérias nativas para tratamento de efluentes de digestão anaeróbica com inicialmente 16,17 mg/L de nitrogênio total e 7,47 mg/L de fósforo total e obteve uma remoção de 100% e 99%, respectivamente. Assim como, Fito et al (2019), que utilizou as microalgas *Chlorella sp.*, *Chlamydomonas sp.*, *Scenedesmus sp.* e uma bactéria nativa para tratar as águas residuais municipais com uma quantidade de fósforo total de 7,2 mg/L, conseguindo um percentual de remoção de 59,4%.

3.5 Fungos Filamentosos no tratamento de efluentes

Os fungos têm se destacado no campo da biorremediação pelo fato de serem os principais microrganismos responsáveis pela degradação da matéria orgânica no meio ambiente, possuírem uma capacidade única de remover poluentes por fenômenos de absorção e por produzirem enzimas intracelulares e extracelulares inespecíficas com alta capacidade catalítica de transformar poluentes em compostos menos tóxicos ou inócuos. Além disso, apresentam resultados sinérgicos quando co-cultivados com outros grupos de microrganismos, como as microalgas (TOMASINI; LÉON-SANTIESTEBAN, 2019; FERREIRA; VARJANI; TAHERZADEH, 2020).

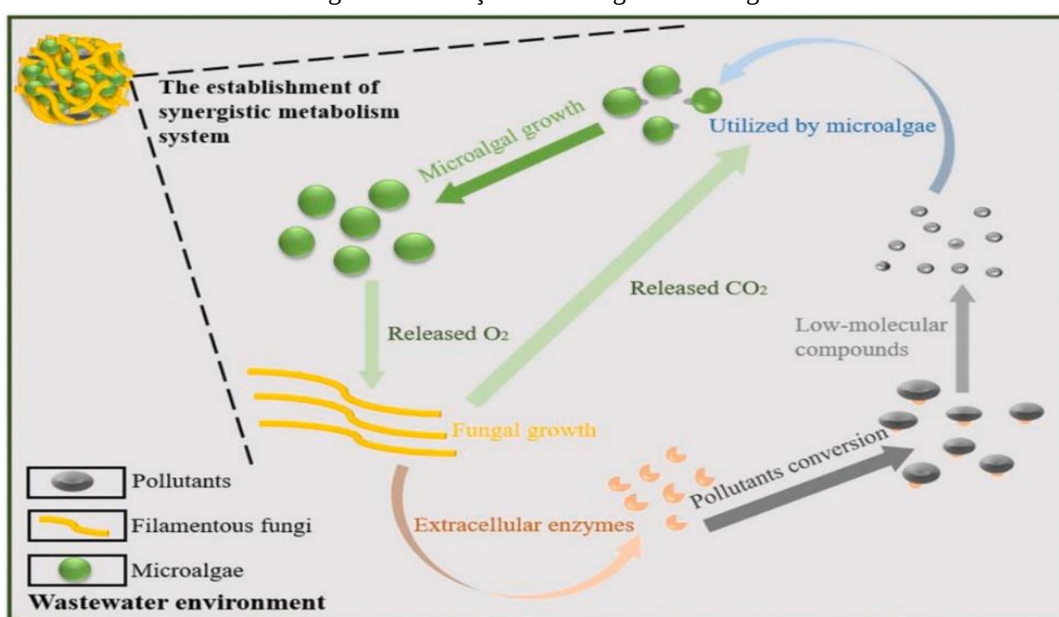
Okoro (2008) utilizou o fungo *Penicillium sp.* para reduzir frações de hidrocarbonetos na água produzida (n-alcanos 608 mg/L, aromáticos 13,88 mg/L) alcançando uma remoção de n-alcanos de 89,3% e compostos aromáticos de 93%. Além disso, também estudou o fungo *Aspergillus niger* para o mesmo efluente que atingiu percentuais de remoção de 90,7% para n-alcanos e de 95,32% para os compostos aromáticos. Ademais, Rani (2014) estudou a biorremediação de corantes têxteis utilizando os fungos *Aspergillus niger* e *Phanerochaete chrysosporium*, ambos isolados do solo contaminado por este efluente, tendo esse apresentado uma descoloração de nigrosina de 90,15%, enquanto aquele obteve uma descontaminação de 77,47% sobre o mesmo composto. Scherer e Barreto-Rodrigues (2022) avaliaram o potencial do tratamento biológico utilizando o fungo *Pleurotus florida* combinado

com ozonização catalítica, que resultou na remoção de 96,2% de lignina solúvel.

3.6 Microalgas e Fungos Filamentosos no Tratamento do Soro do Leite

As microalgas possuem a capacidade de remover, principalmente, nitrogênio, fósforo e íons metálicos pelos mecanismos de assimilação e bioadsorção, o que envolve adsorção e absorção. Enquanto a remediação realizada pelos fungos ocorre através de processos de bioadsorção e biotransformação. Dessa forma, o oxigênio (O_2) liberado da fotossíntese de microalgas pode ser fornecido aos fungos para sua respiração, que por sua vez disponibilizam o dióxido de carbono (CO_2) às células das algas. Além disso, os fungos também liberam enzimas extracelulares que agem na deterioração dos sólidos em suspensão, devolvendo o CO_2 para o meio, e assim disponibilizando mais CO_2 para a fotossíntese (WANG et al., 2022; CHU et al., 2021). As interações mútuas envolvidas entre fungos e microalgas são expressas na Figura 1.

Figura 3- Interação entre fungo e microalga.



Fonte: CHU et al. (2021).

Kaur e Chaman (2014) empregaram o fungo *Alternaria sp.* no tratamento biológico de efluentes de laticínios e observaram uma remoção de DQO (Demanda Química de Oxigênio) de 90,59% em condições aeróbicas e 83,07% em anaeróbicas, assim como Al-wasify, Ali e Hamed (2017) analisaram as cepas fúngicas *Alternaria sp.*, *Fusarium sp.* e *Aspergillus sp.* no tratamento de águas residuais de laticínios obtendo uma remoção de DQO de 74,7%. Ademais, Hassan, El-Said e Mohamed (2020) estudaram os fungos isolados *Aspergillus sp.*, *Cladosporium sp.* e *Fusarium sp.* para a biodegradação dos efluentes das fábricas de laticínios,

obtendo uma remoção de poluentes orgânicos de 72,5%.

Em relação as microalgas, Sreekanth et al. (2014) analisa a viabilidade do tratamento de águas residuais de laticínios em cultivos abertos e fechados utilizando *Chlorella vulgaris* e *Botryococcus braunii*, nesse a DQO (Demanda Química de Oxigênio) foi reduzida para 90% por *C. vulgaris* e 90% por *B.braunii*, enquanto nitrato foi reduzido para 91% e 90% e a amônia em 93% e 92%, respectivamente. No cultivo aberto a DQO foi reduzida para 95% por *C. vulgaris* e 90% por *B.braunii* e para nitrato a redução foi de 96% e 94 e amônia 95% e 93%, respectivamente. Assim como, Patel, Joun e Sim (2020) acredita que a *Chlorella protothecoides* exibe crescimento promissor em soro de leite pré-tratado, e junto a alguns tratamentos reduz os poluentes orgânicos deste efluente em 99%.

A respeito do consórcio no tratamento do soro do leite, este ainda é pouco abordado na literatura. Entretanto, Medeiros (2022) estudou o tratamento biológico deste efluente utilizando o reator coluna de bolhas através do consórcio entre o fungo filamentosos *Cunninghamella echinulata* e a microalga *Tetrademus sp.* obtendo resultados muito satisfatórios, com a remoção de 91,3% para DQO, 77% para nitrogênio total e 90,46% para fósforo total.

3.6.1 Processos que utilizam microalgas e/ou fungos filamentosos

O sistema de co-cultivo de microalgas-fungos filamentosos tem sido estudado na colheita de biomassa e tratamento de efluentes, bem como na subsequente produção de biocombustíveis. Ao longo das últimas décadas, as microalgas têm sido utilizadas com sucesso como biorremediador para a remoção de nutrientes excessivos em águas residuais, como nitrogênio, fósforo e carbono (CHU et al., 2021). A relação mutuamente benéfica entre microalgas e fungos pode melhorar a produção de biomassa e a eficiência do processo, além de reduzir os custos de cultivo (WANG et al., 2022). Yang, Li e Wang (2019) utilizaram o consórcio entre o fungo *Aspergillus sp.* e a microalga *Chlorella sp.* para tratar águas residuais de melão e obtiveram uma remoção de 70,68% da DQO, 67,09% do NT e 88,39% do PT. Algumas vantagens do uso dessa simbiose são mostradas na Tabela 3.

Tabela 3 - Vantagens e limitações atuais da copeletização de microalgas com fungos filamentosos

Vantagens	Limitações
Relação superfície-volume relativamente baixa e taxa de transferência de massa acelerada.	O custo de manutenção das condições de cultivo.
Estabelecimento de sistema de simbiose para melhor troca de gases (CO ₂ e O ₂), utilizam os nutrientes disponíveis e acumulam mais biomassa.	Efeitos adversos no acúmulo de biomassa total podem ocorrer devido à interação competitiva entre fungos e algas.
Melhoria da eficiência de colheita, floculação sem produtos químicos e biomassa de separação conveniente do meio de cultura.	O alto tempo de retenção para a formação do <i>copellet</i> pode afetar a composição bioquímica.
O desempenho do co-cultivo na remoção de poluentes é melhor do que o tratamento por algas ou fungos.	A qualidade da biomassa depende de vários fatores com resultados incertos.
O controle da poluição, a produção de biocombustíveis e a economia de custos podem ser alcançados através do co-cultivo em ambiente de águas residuais.	A maioria das aplicações de copeletização ainda está em nível de laboratório.

Fonte: Adaptado CHU et al. (2021).

Nesse sentido, isolar fungos filamentosos que mantenham naturalmente uma relação sinérgica no próprio sistema de tratamento ajuda a projetar processos de co-cultivo com espécies já adaptadas ao meio, conduzindo de forma não axênica (aberto) e tendo uma relação de interação dominante com respeito a outras espécies que possam porventura contaminar o biorreator.

3.7. Isolamento e Caracterização de Fungos Filamentosos

Isolamento de fungos significa obter uma entidade geneticamente pura de um morfo sexual ou assexual de um ou uma mistura destes microrganismos (MUELLER et al., 2004, NOMAN et al., 2018, SENANAYAKE et al., 2020). As culturas podem fornecer importantes caracteres morfológicos úteis para fins de identificação, bem como o material de partida para extração de DNA útil para estudos moleculares, sendo assim estas são uma das principais fontes para estudar e compreender a biologia de uma espécie.

Assress et al. (2019) investigou três estações de tratamento de águas residuais com o objetivo de descobrir a diversidade da comunidade fúngica presente nestas estações, desse modo encontrou 6 filos e 361 gêneros, com destaque para os filos Basidiomycota e Ascomycota. Além disso, encontrou fungos que podem ser utilizados na biorremediação (*Trichoderma*, *Acremonium*, *Talaromyces*, entre outros), como também detectou fungos patogênicos para o ser humano e vegetais (*Olpidium*, *Paecilomyces*, *Aspergillus*, *Rhodotorula*, por exemplo).

Do mesmo modo, Juárez-Hernández (2021) isolou e caracterizou seis cepas de fungo do efluente proveniente da indústria têxtil, além de avaliar o potencial destes microrganismos para degradação de corantes. O isolamento foi realizado utilizando diluições seriadas em água estéril e a inoculação ocorreu em placas de Petri contendo o meio Agar Saboraud dextrose, enquanto a identificação utilizou parâmetros morfológicos e identificação molecular. Como resultado obteve dois filos principais (*Basidiomycota* e *Zygomycota*) e se mostraram promissoras para o tratamento de efluentes das fábricas têxteis.

3.7.1 Técnica de isolamento e meios de cultura

As técnicas de isolamento são numerosas e muitas vezes complicadas. Boas técnicas precisam isolar um número máximo de cepas de um espécime e obter o táxon desejado, excluindo todos os outros. Os espécimes coletados são os representantes dos táxons. Portanto, espécimes muito maduros, prematuros ou muito danificados são evitados porque alguns caracteres podem ter sido perdidos (HYDE et al., 2010).

O método de diluição em série estima a concentração (número de colônias, organismos, bactérias ou vírus) de uma amostra desconhecida contando o número de colônias cultivadas a partir de diluições em série da amostra (BEN-DAVID; DAVIDSON, 2014). Está técnica combinada aos métodos de espalhamento e estriamento em placas são uma ótima ferramenta de pesquisa. Aquele consiste na inoculação da amostra através da pressão da alça de Drigalsky

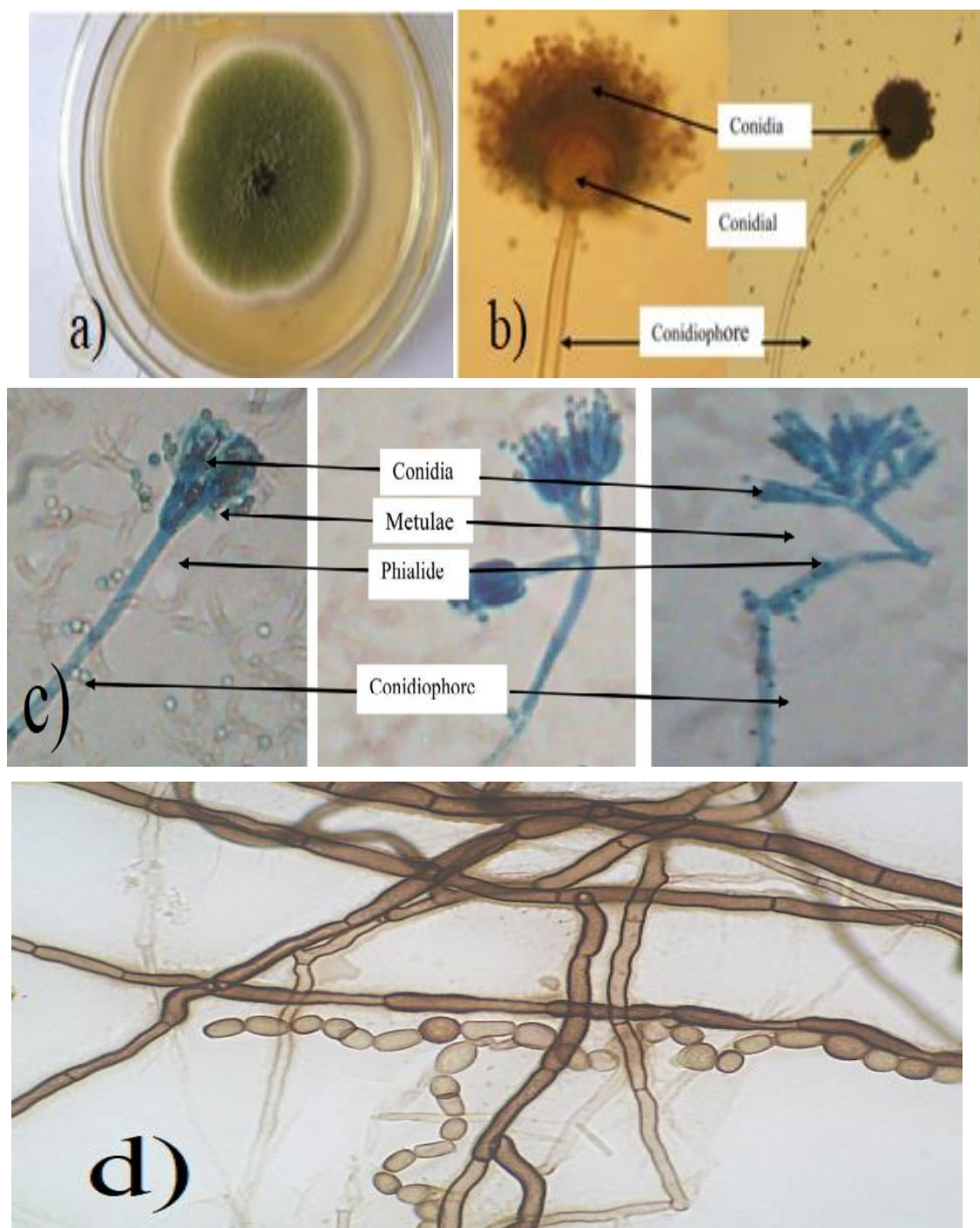
sobre toda superfície do meio, enquanto essa utiliza alças que deslizam em formas de estrias pela placa (SCHIMIDELL et al., 2001).

Diferentes meios são usados para diferentes grupos de fungos e a seleção de meios depende do grupo que está sendo estudado. Geralmente, suspensões de esporos são usadas para isolamento e podem conter diferentes esporos. Portanto, os esporos são cuidadosamente examinados em um estereomicroscópio e os esporos em germinação são transferidos para novos meios logo após a formação dos tubos germinativos. Meios deficientes em nutrientes, como ágar-água, são adequados para isso. Se meios ricos em nutrientes forem usados para isolamento, os esporos contaminantes podem germinar mais rapidamente do que as espécies-alvo (BASU et al., 2015; SU; QI; CAI, 2012).

3.7.2 Caracterização morfológica

Os estudos morfológicos dos fungos consistem no crescimento do micélio, cor, conteúdo celular e caracteres dos corpos de frutificação dos fungos (SHANAKHT; SHAHID; ALI, 2014). Desse modo, quando se procede à identificação morfológica dos fungos filamentosos é necessário ter em conta características macroscópicas e microscópicas, sendo as últimas, as que detêm uma maior importância. A macromorfologia pode ser exemplificada como cor, diâmetro da colônia e textura, enquanto a micromorfologia envolve esporos, conídios, conidióforos, esporângios, ascos, entre outros. Características macroscópicas e microscópicas são ilustradas na Figura 2 (FAIA, 2011).

Figura 2- Características morfológicas dos fungos: macroscópicas e microscópicas. a) Imagem cultura de fungos isolados do efluente da refinaria. b) Características microscópicas de espécies de *Aspergillus* (ampliação $\times 40$) c) Características microscópicas de Espécies de *Penicillium*, *Fusarium* e *Trichoderma* (ampliação de 40x). d) hifas septadas fungo *Scytalidium* spp.



Fonte: Adaptado de EZEONUEGBU et al. (2022). Disponível em: <https://pncq.org.br/wp-content/uploads/2021/01/Paulo-Murillo-Neufeld-1.pdf>.

4 METODOLOGIA

Com o processo de biorremediação do soro do leite em operação, o qual se realizou em batelada com sistema aberto utilizando a microalga *Tetrademus sp.* em reatores de vaso acrílico transparente (PoliControl©) com diferentes cargas orgânicas (1 e 4% v/v) e intensidade luminosa de $100 \mu\text{mol f\u00f3tons m}^{-2} \text{s}^{-1}$ foram retiradas amostras a cada 48 horas durante 7 dias. Em seguida, 10 mL dessas amostras sofreram centrifugação de 3500 rpm por 15 minutos (Centrifuga ACB Labor Dry-Bloch) com o intuito de separá-las (EZEONUEGBU et al., 2022; SENANAYAKE et al., 2020). Em seguida, o concentrado foi submetido as diluições conforme mostra a Tabela 4, utilizando água peptonada 0,1%.

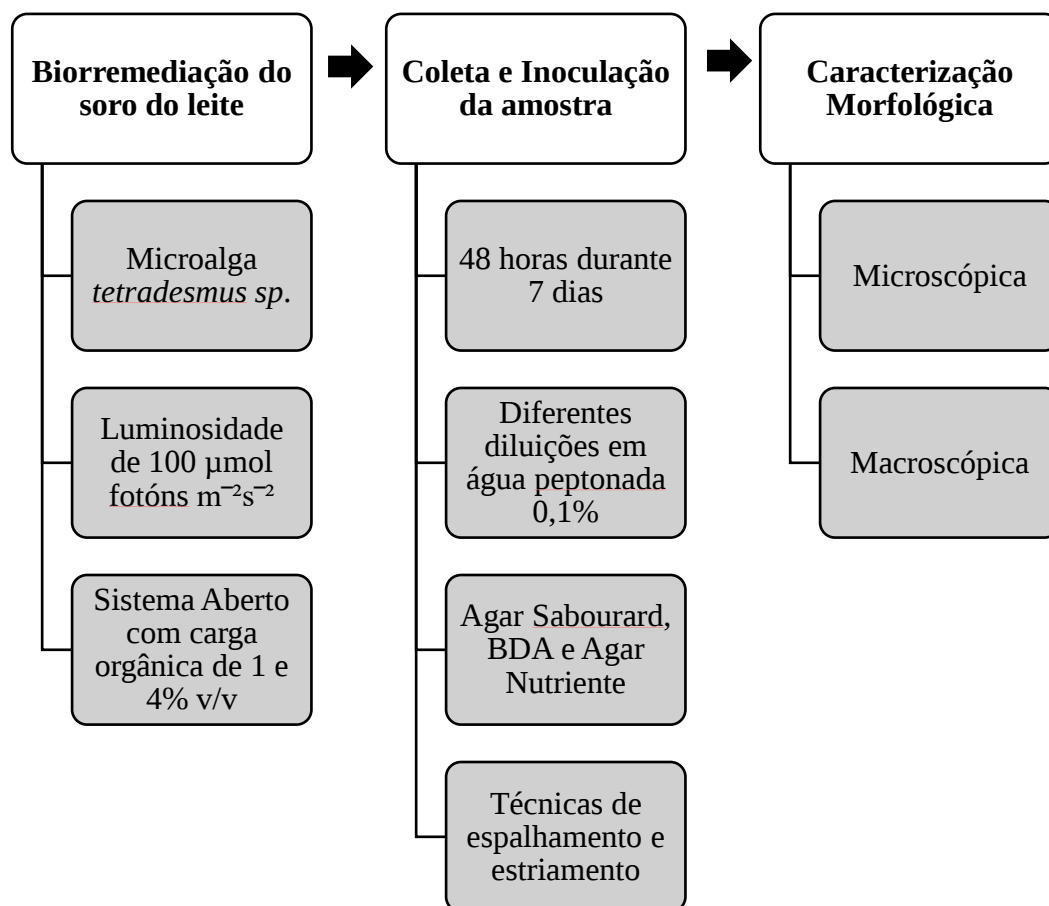
Tabela 4 – Diluições utilizadas durante o experimento.

COLETA	DILUIÇÕES
1º	0 e 10^{-2}
2º e 3º	10^{-2} e 10^{-4}
4º em diante	10^{-4} e 10^{-6}

Fonte: AUTORA (2022).

Um volume de 0,1 mL de cada diluição foi inoculado utilizando os métodos de espalhamento e de estriamento em placas de Petri (RAKHMANIA; IBRAHIM; ABBA, 2022) com diferentes meios, como Agar Sabourard (66 g/L, pH 5,6), BDA (Batata Dextrose e Agar – 39g/L pH 5,6) e Agar Nutriente (28 g/L, pH 7,3), os quais foram esterilizados em autoclave a 120°C por 15 minutos (SENANAYAKE et al., 2020). Por fim, as placas foram incubadas em temperatura ambiente (30°C) por 7 a 10 dias. Além disso, durante este período foi realizado o acompanhamento do seu crescimento microbiano, após 3 dias de coleta, através da contagem de Unidades Formadoras de Colônia (UFC) (SHANAKHT; SHAHID; ALI, 2014). Posteriormente, se realizou as etapas de caracterização macro e microbiológica. Um fluxograma geral com todas as etapas da metodologia é mostrado na Figura 3.

Figura 3-Fluxograma da metodologia utilizada.



Fonte: AUTORA (2023).

4.1 Isolamento dos fungos filamentosos

O isolamento dos fungos ocorre utilizando a técnica de estriamento, que consiste em disseminar o inóculo em linhas horizontais por toda a placa de Petri com o auxílio de uma alça de platina devidamente flambada no bico de Bunsen, e a técnica de espalhamento, em que se espalha a suspensão de células através de uma alça de Drigalski, flambada no bico de Bunsen, por toda a placa de Petri. A suspensão de células foi obtida por meio de diluições seriadas, descritas na Tabela 4, com o objetivo de obter colônias isoladas (RAKHMANIA; IBRAHIM; ABBA, 2022; SCHIMIDELL et al., 2001).

4.2 Caracterização Macroscópica

As características macroscópicas dos fungos isolados em diferentes meios a 25°C foram observadas, como o crescimento da colônia do fungo, cor da colônia na parte versa e reversa na placa de Petri, a textura da superfície, assim como o formato e cor da borda/margem da colônia

(circular e branca, por exemplo) para identificação de acordo com os dados de Barnett & Hunter (1998) (EZEONUEGBU et al., 2022; SHANAKHT; SHAHID; ALI, 2014; SENANAYAKE et al., 2020).

4.3 Caracterização Microscópica

Uma porção das colônias cultivadas em cada meio foram coletadas com o uso de fita adesiva e inseridas em uma lâmina limpa e estéril com uma gota de lactofenol azul de algodão, posteriormente coberta com lamínula contendo óleo de imersão e examinada por meio do microscópio eletrônico com lente objetiva com um aumento de 1000x (MANGAL; BANSAL; SHARMA, 2014; SHANAKHT; SHAHID; ALI, 2014). Os fungos isolados foram caracterizados e identificados de acordo com Barnett & Hunter (1998) e os aspectos observados foram as formas e superfícies dos conídios, fixação destes com os conidióforos como também a esporulação dos fungos em estudo (EZEONUEGBU et al., 2022; SHANAKHT; SHAHID; ALI, 2014; SENANAYAKE et al., 2020; HUMBER, 1997).

4.4 Medidas de biossegurança

A Agência Nacional de Segurança Sanitária (ANVISA) define normas e legislações que foram seguidas durante este experimento, visto que existem fungos filamentosos patológicos ao ser humano. Sendo assim, utilizou-se equipamentos de proteção individual (EPI) como luvas, jalecos e máscaras, como também todos os procedimentos eram realizados na capela de fluxo laminar. Ao fim dos experimentos a higienização desta era realizada com álcool 70% e luz ultravioleta por 15 minutos. As placas de Petri eram devidamente lacradas antes de serem inseridas na estufa (SCHIMIDELL et al., 2001).

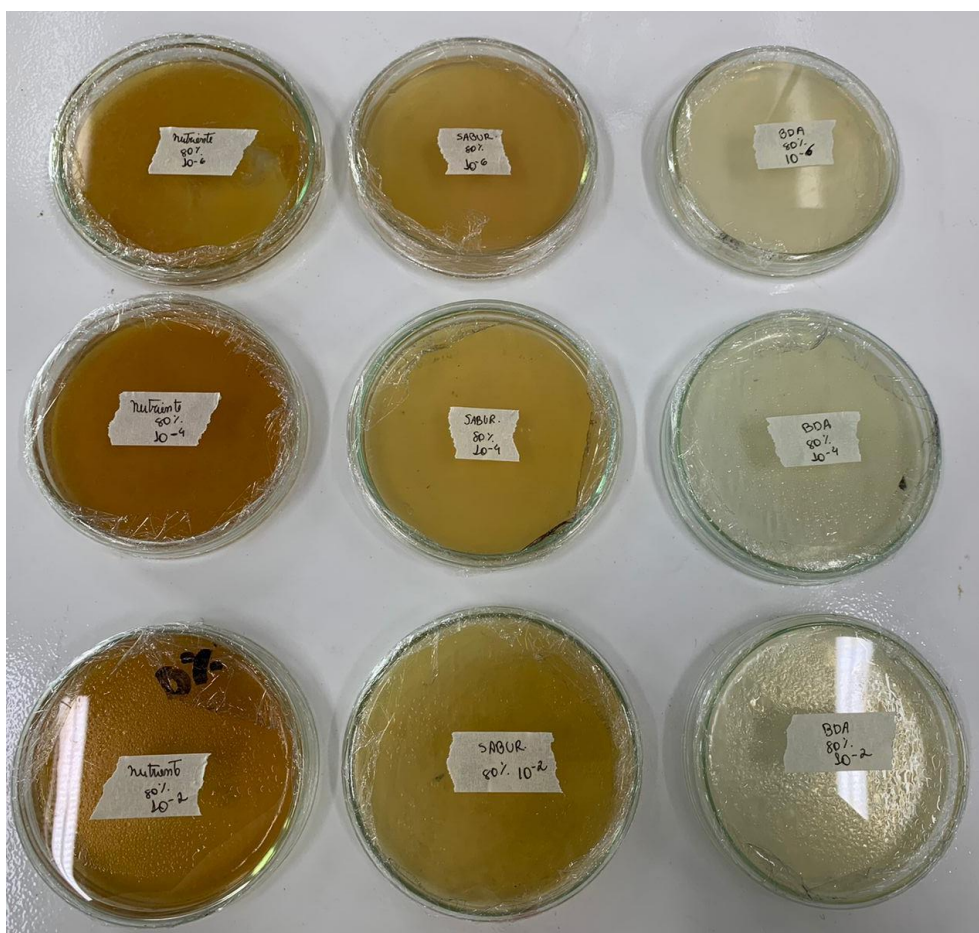
5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Nessa seção serão mostrados os resultados obtidos durante o processo de acompanhamento da contaminação presente no sistema aberto de tratamento semi-contínuo do soro do leite por microalga, assim como, as características macro e microscópicas utilizadas na identificação dos fungos encontrados.

5.1 Acompanhamento de contaminação

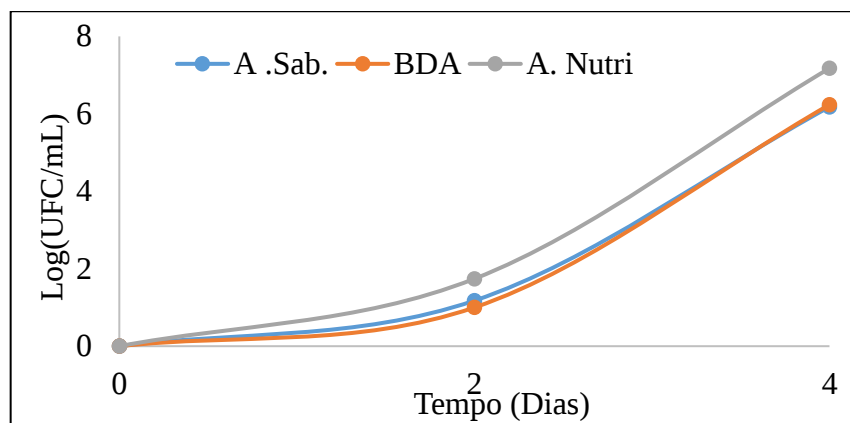
As placas de Petri contendo diferentes meios de cultura e amostras foram acompanhadas com o objetivo de visualizar o crescimento de diferentes tipos de microrganismos contaminantes. As placas iniciais são ilustradas na Figura 4, enquanto os resultados do acompanhamento da contaminação são mostrados nas Figuras 5 e 6.

Figura 4- Placas de Petri da fase inicial do experimento.



Fonte: AUTORA (2022)

Gráfico 1 - Crescimento microbiano

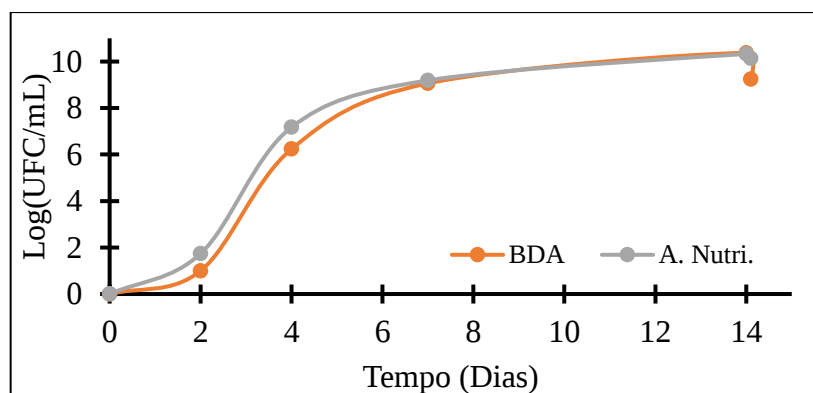


UFC – Unidade de Formação de Colônia; A. Sab. – Ágar Sabourard; BDA - Batata Dextrose e Agar; A. Nutri. - Agar Nutriente. Fonte: AUTORA (2023).

Os dados demonstrados pelo Gráfico 1, comprovam que o meio ágar Sabourard obteve resultados muito similares ao do meio BDA. Desse modo, visando a otimização do experimento e levando em consideração o uso comumente do meio BDA no cultivo de fungos realizados no Laboratório de Tecnologia de Bebidas e Alimentos da Universidade Federal de Alagoas (LTBA – UFAL), o meio Ágar Sabourard não foi mais utilizado no experimento.

Em seguida, o Gráfico 2 mostra que o crescimento microbiano se manteve até o dia 14. Neste último dia houve um decréscimo após a realimentação, onde essa remove de parte do efluente que estava sendo tratado neste processo. Além disso, o crescimento do meio Ágar Nutriente sobressai o do BDA, esta característica é esperada em razão da neutralidade desse meio de cultura, permitindo o crescimento de diversos tipos de microrganismos, como bactérias, fungos filamentosos e leveduras.

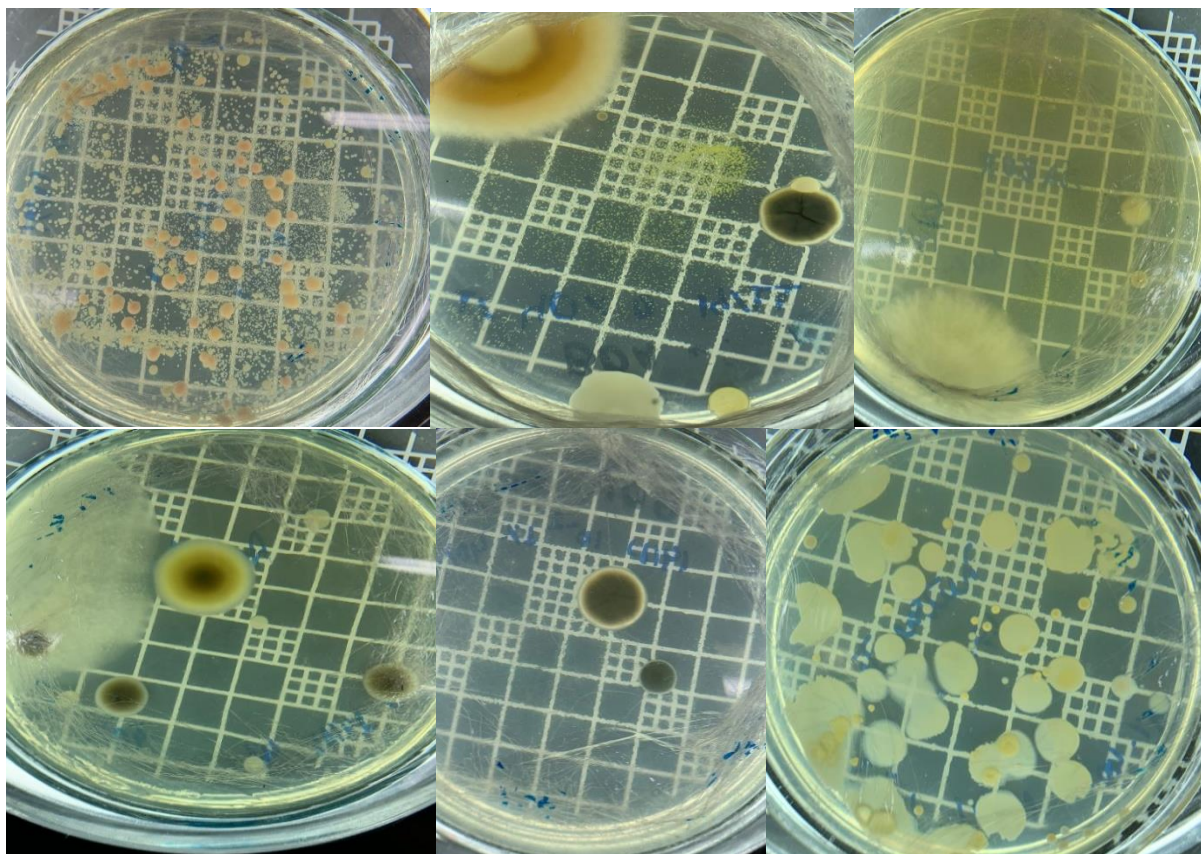
Gráfico 2 -Crescimento microbiano BDA e Agar Nutriente.



UFC – Unidade de Formação de Colônia; BDA - Batata Dextrose e Agar; A. Nutri. - Agar Nutriente. Fonte: AUTORA (2023)

O processo de acompanhamento de contaminação permitiu visualizar o crescimento de diferentes tipos de microrganismos como bactérias, leveduras e fungos filamentosos nos meios utilizados, como mostrado na Figura 5. Entretanto, apenas os fungos são interesse de estudo nesse trabalho e em razão disso foram isolados e caracterizados.

Figura 5-Microrganismos contaminantes

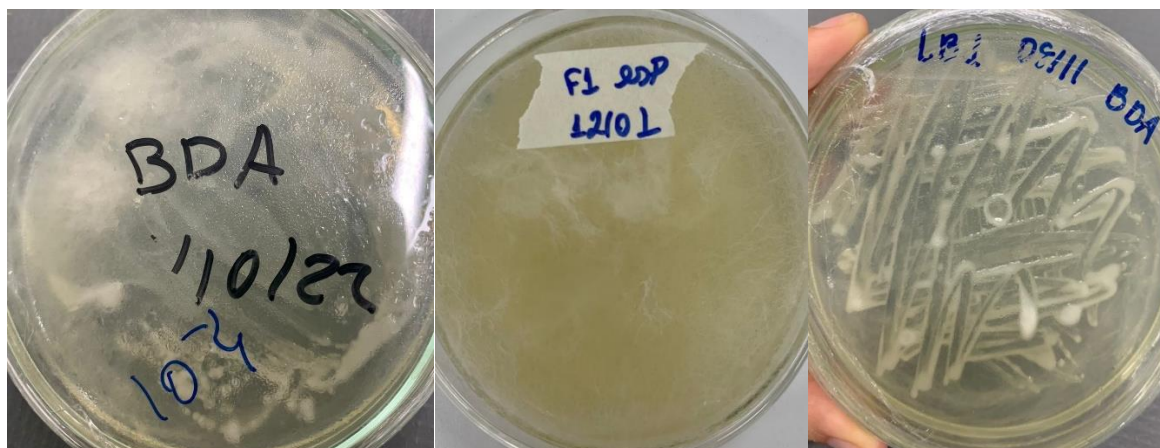


Fonte: AUTORA (2022)

5.1.1 Isolamento dos fungos

Os fungos contaminantes que cresceram nos meios de cultura foram separados utilizando, principalmente, a técnica de espalhamento com diluição seriada com o intuito de obter um isolamento eficaz. Na Figura 6, temos o fungo crescendo com leveduras presentes no meio, enquanto na Figura 6 observa-se o fungo e as leveduras isoladas.

Figure 6 – Isolamento dos fungos contaminantes



Fonte: AUTORA (2023)

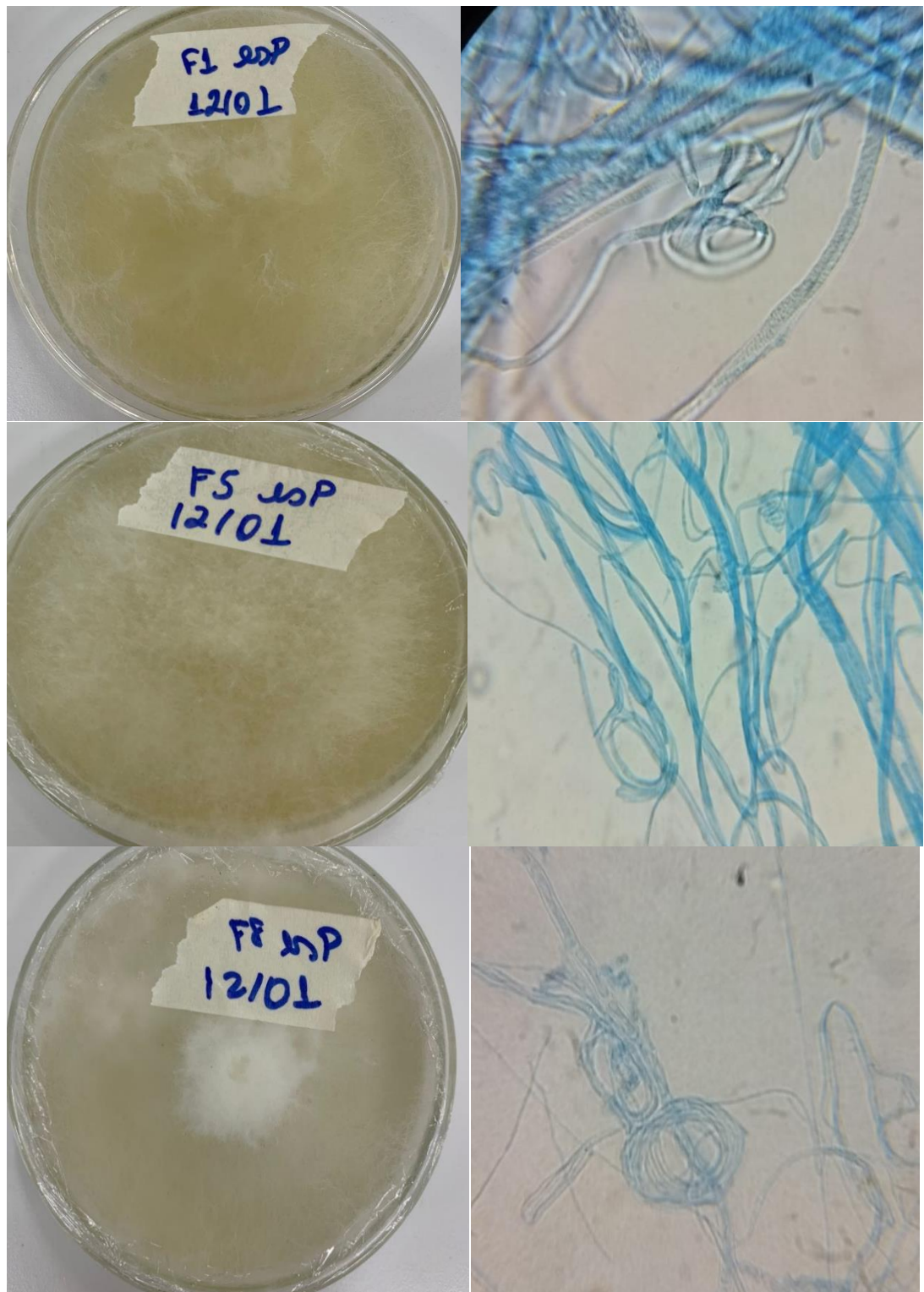
5.2 Caracterização e identificação dos fungos

Nessa etapa os fungos encontrados durante o processo de acompanhamento de contaminação do sistema de tratamento e posteriormente isolados são caracterizados macro e microscopicamente tendo sua possível classe determinada.

5.2.1 Identificação do Fungo 1 (F1), Fungo 5 (F5) e Fungo 8 (F8)

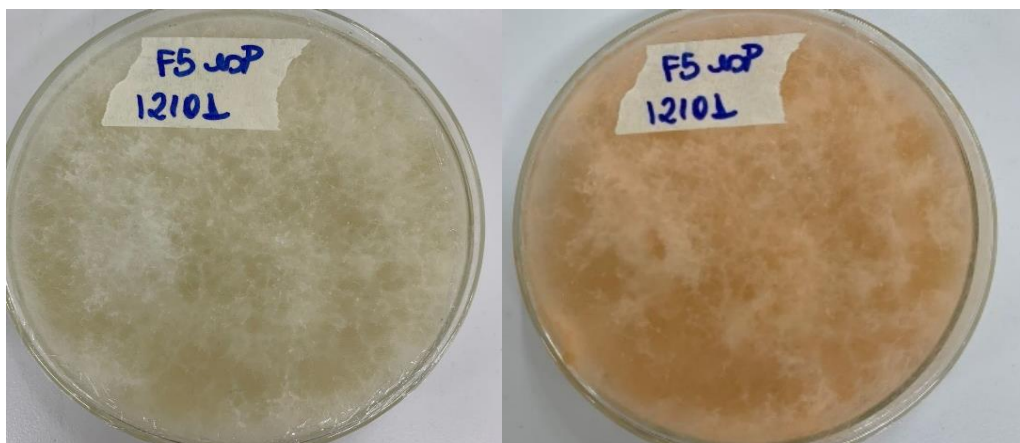
Os fungos nomeados como F1, F5 e F8 foram isolados em meio BDA, a temperatura ambiente e tempo de incubação moderado (5 dias). Foi possível reparar que estes três microrganismos apresentaram características macro e microscópicas semelhantes, viabilizando a ideia de que pertencem ao mesmo gênero, como mostra a Figura 7. Possuem cor branca e à medida que esporulam ganham um tom cor-de-rosa (Figura 8), superfície granular e peludas, com borda branca irregular e cor reversa branca que ganha um tom amarelo com o passar do tempo. Enquanto suas características microscópicas mostraram que estes fungos possuem hifas espiraladas, hialinas e finas e os conídios que foram possíveis de visualizar apresentaram formato arredondado.

Figura 7 - Imagens macro e microscópicas do F1, F5 e F8



Fonte: AUTORA (2023)

Figura 8 - Mudança de cor do F5



Fonte: AUTORA (2023)

Nwokeoma et al. (2017) ao estudar os fungos *Trichophyton gallinea*, *T. megninii*, *T. rubrum* e *T. tonsurans* observou que estes possuem um crescimento de moderado a lento, são aveludados, brancos, e tornam-se rosa com o passar do tempo. Tais fatores também foram observados neste estudo, fortalecendo a hipótese sobre o gênero destes fungos.

Sendo assim, de acordo com as características observadas, é provável de que estes micróbios pertençam ao gênero *Trichophyton*, um fungo filamentoso do filo *Ascomycota* que possui micro e macroconídios sendo classificado como um fungo queratinofílico (BARNETT & HUNTER, 1998). De modo geral, esses grupos de fungos convertem substratos queratinosos em compostos de baixo peso molecular, pois utilizam proteínas queratinosas como fontes de carbono e nitrogênio, mesmo na presença de açúcares (KUMAR; SINGH; KUSHWAHA, 2021).

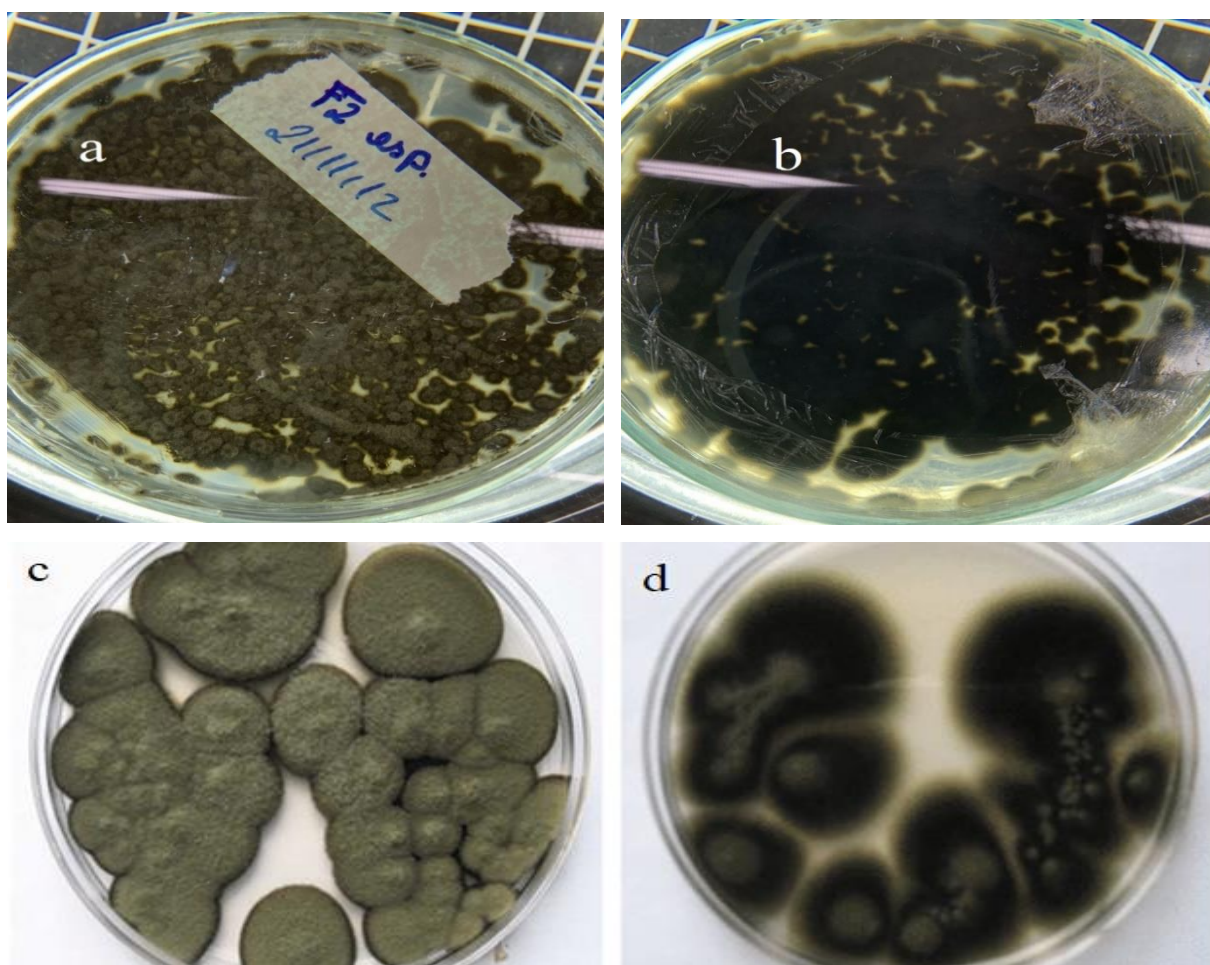
O fungo *T. rubrum*, degradador de madeira, conseguiu uma remoção de certa de 86% de corantes azo têxteis, mostrando ser eficientemente capaz de realizar mecanismos de biodegradação e bioadsorção para a remediação destes efluentes (YESILADALI *et al.*, 2006). Além disso, este fungo obteve eficiência de 90% ao ser utilizado na biorremediação do pentaclorofenol, um composto altamente tóxico para o ser humano (JUNG; HYUNG; PARK, 2003). Assim, alguns estudos mostram a predisposição de algumas espécies do gênero *Trichophyton* para a biorremediação de alguns compostos.

5.2.2 Identificação do Fungo 2 (F2)

As características macroscópicas observadas no F2, em meio BDA, incubado a temperatura ambiente (30°C) em um período de 6 dias foram: cor verde-oliva, superfície

algodonosa, margem branca e circular com uma cor reversa preta. Os resultados foram similares aos obtidos por Torres et al. (2017) ao isolar e estudar os fungos *Cladosporium cladosporioides* e *Cladosporium pseudocladosporioides* como potenciais novos fungos antagonistas de *Puccinia horiana* Henn., agente causal da ferrugem branca do crisântemo, conforme a Figura 9.

Figura 9- Características morfológicas do fungo *Cladosporium*. a) e b) obtidas nesse experimento; c) e d) obtidas por Torres et al. (2017).



Fonte: AUTORA (2022); TORRES et al. (2017).

Yew, Chan, Ngeow, et al. (2016) ao estudarem sobre a adaptação de diferentes nichos ambientais e alergenicidade do genoma de *C. sphaerospermum*, um *Dothideomycetes* humano comum que provoca alergia, perceberam que a superfície reversa do fungo em questão apresentava uma estrutura com centro enrugado, semelhante a uma cratera. Esta característica também foi percebida no presente estudo, como é exposto na Figura 10.

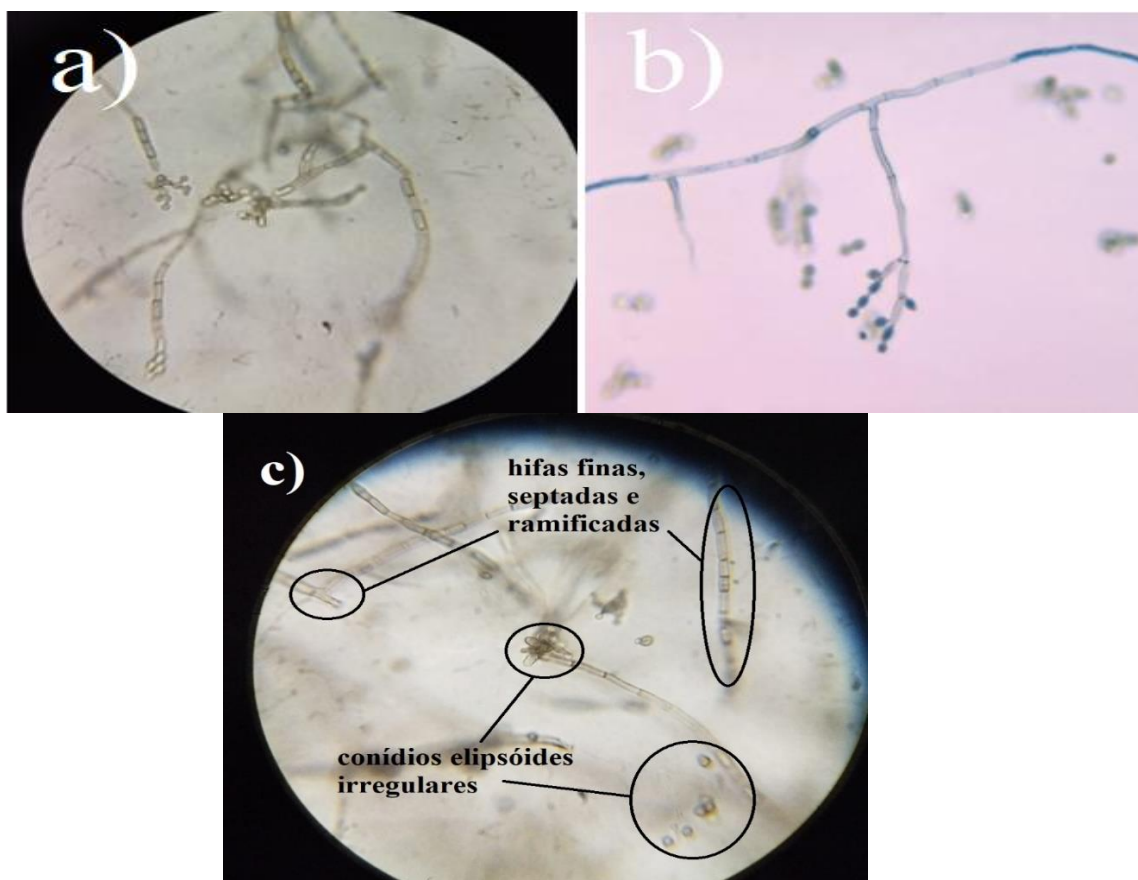
Figura 10-Morfologia do *Cladosporium*. a) obtidos nesse estudo b) obtidos na literatura.



Fonte: AUTORA (2022); YEW, *et al.* (2016), respectivamente.

Em relação às características microscópicas, estas apresentaram hifas finas, septadas e ramificadas, assim como conídios em formato elipsoide e irregular. Os resultados obtidos são expostos na Figura 11, onde percebe-se a semelhança do fungo deste experimento com o *Cladosporium spp.*

Figura 11 - Características microscópicas do fungo *Cladosporium* a) e c) obtidas nesta pesquisa e b) encontradas no banco de imagens de saúde pública do CDC.



Fonte: AUTORA (2023); Biblioteca de imagens de saúde pública do CDC (PHIL) Disponível em: <https://www.insst.es/agentes-biologicos-basebio/hongos/cladosporium-spp>

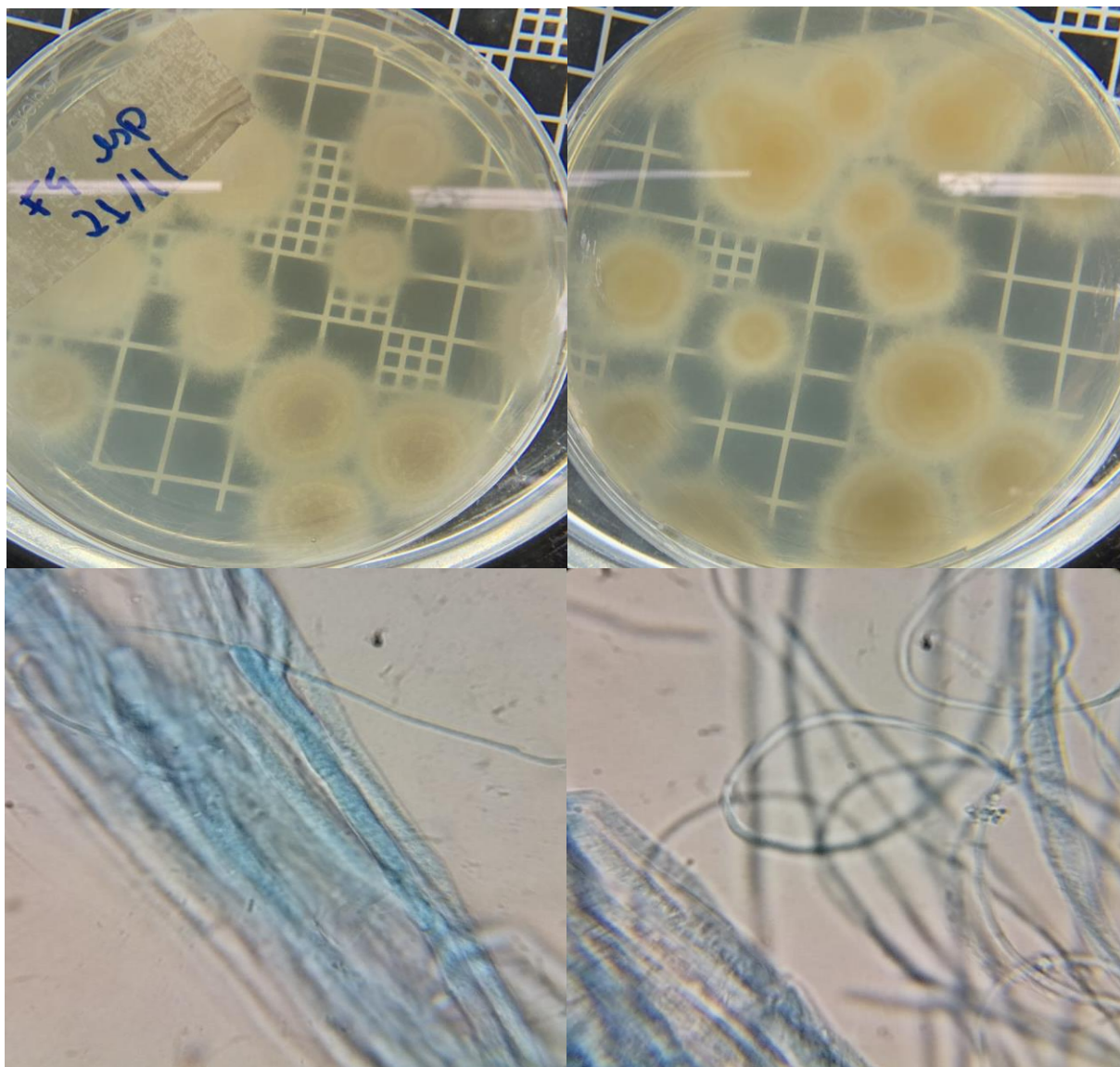
Desse modo, de acordo com os resultados descritos anteriormente e segundo Barnett & Hunter (1998) o fungo em estudo pertence, possivelmente, ao gênero *Cladosporium*. Esse é um fungo filamentoso, pertencente ao filo *Ascomycota*, predominante no ar. São fungos imperfeitos capazes de crescer em soluções nutritivas líquidas, desde que haja oxigênio suficiente, além de serem agentes consumidores de matéria orgânica (BARNETT & HUNTER, 1998; BENSCH et al., 2012).

Marwah Bakri (2022) avaliou algumas espécies de *Cladosporium* isolados do ar na biodegradação de hidrocarbonetos de petróleo para tratamento de contaminação por óleo e concluiu que este micróbio possui uma alta capacidade de degradar petróleo bruto e pode ser usado como agente biológico para controlar a poluição por petróleo em solos e mares. Ademais, de acordo com Napoli et al. (2022) *C. haloterans*, isolado do sistema gástrico de larvas de *Galleria mellonella*, crescem na presença de polietileno e liberam enzimas capazes de degradar este polímero. Hassan, El-Said e Mohamed (2020) estudaram o fungo *Cladosporium sp.* em conjunto com os fungos *Aspergillus sp.* e *Fusarium sp.* para a biorremediação dos efluentes provenientes das fábricas de laticínios e obtiveram resultados satisfatórios, com uma remoção de poluentes orgânicos de 72,5%. Portanto, é possível notar em como este gênero é promissor para o tratamento de efluentes.

5.2.3 Identificação do Fungo 4 (F4)

Isolado a temperatura ambiente em meio BDA e tempo de incubação lento (10 dias), o F4 apresentou cor inicialmente branca que amarelou com o tempo, superfície granular, borda branca e circular com cor reversa amarela, hifas hialinas, finas, não septadas e espiraladas, conforme a Figura 12.

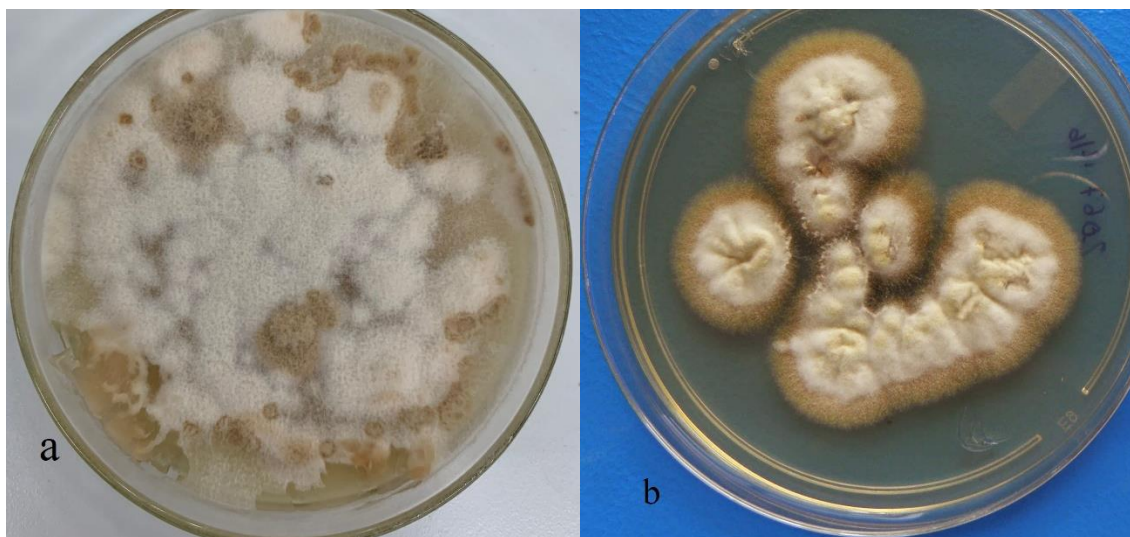
Figura 12 - Características macro e microscópicas do F4.



Fonte: AUTORA (2022); AUTORA (2023).

O processo de mudança de cor do F4 é mostrado na Figura 13a e se deu após 29 dias de incubação, se assemelhando ao *Epidermophyton floccosum*, Figura 13 b, com 18 dias de incubação.

Figura 13 - Processo de mudança de cor do F4. a) F4 29 dias de incubação b) *Epidermophyton floccosum* 18 dias de incubação



Fonte: AUTORA (2023); Disponível em:

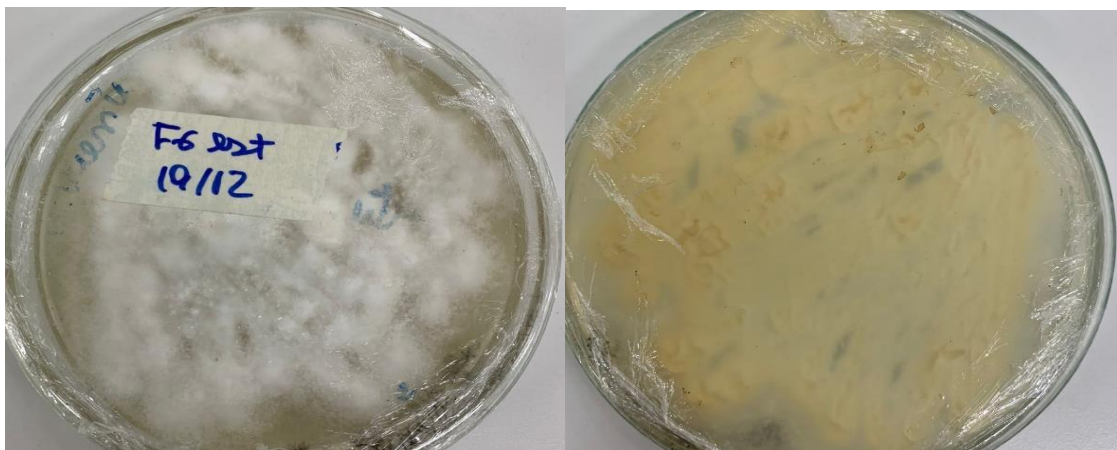
<https://atlasmicologia.blogspot.com/search/label/Epidermophyton%20floccosum>

Desse modo, de acordo com Barnett & Hunter (1998) e com os dados encontrados é possível que F4 pertença ao gênero *Epidermophyton*. Este fungo pertence ao filo *Ascomycota* e é conhecido por causar micoses superficiais e cutâneas no ser humano, sendo assim é considerado um dermatófito, fungos queratinofílicos capazes de invadir os tecidos queratinosos de animais vivos, caracterizado pelo seu crescimento lento, de 14-21 dias (SUMMERBELL, 2011). Papadia et al (2011) ao estudar diferentes biorreatores para o tratamento de um efluente da indústria têxtil, isolou alguns fungos deste e obteve entre os mais comuns dos fungos pluricelulares encontrados os do gênero *Epidermophyton*.

5.2.4 Identificação do Fungo 6 (F6)

O F6 foi isolado em meio BDA a temperatura ambiente (30°C) por um período de incubação de 9 dias, e apresentou cor branca, superfície algodonosa, borda branca e circular, além de apresentar uma cor reversa amarelada. Em relação as características microscópicas ele apresentou hifas não septadas, ramificadas e hialinas como também conídios globosos e intercalares. As características macroscópicas e microscópicas são mostradas na Figura 14 e 15, respectivamente.

Figura 14 - Características macroscópicas F6



Fonte: AUTORA (2023)

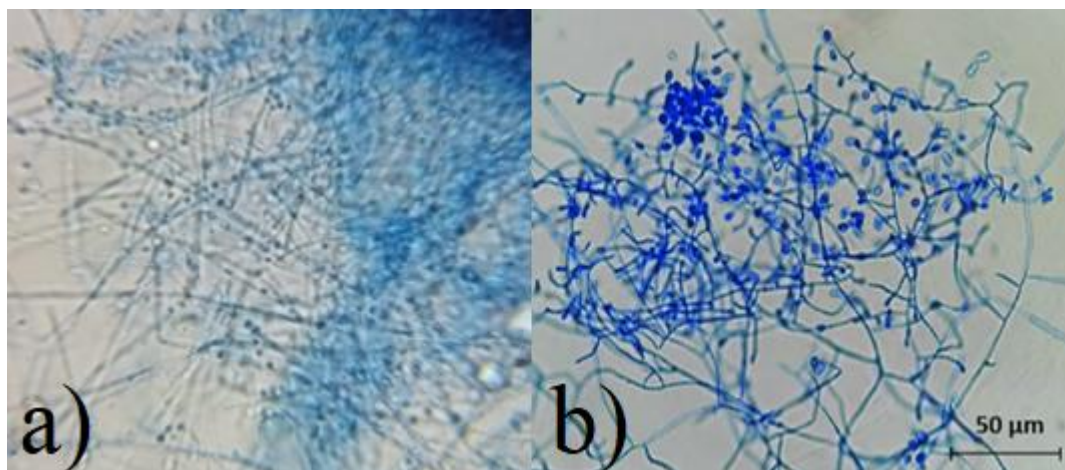
Figura 15 - Características microscópicas do F6



Fonte: AUTORA (2023)

Além disso, os resultados obtidos mostraram semelhança com os dados de Correa et al. (2019) ao identificar e caracterizar compostos de *C. multifidum*, um fungo com atividade antimicrobiana moderada isolado da microbiota intestinal de *Hermetia illucens*, como mostra a Figura 16.

Figura 16-Características Microscópicas. a) F6; b) *C. multifidum*.



Fonte: AUTORA (2023); CORREA *et al.* (2019), respectivamente.

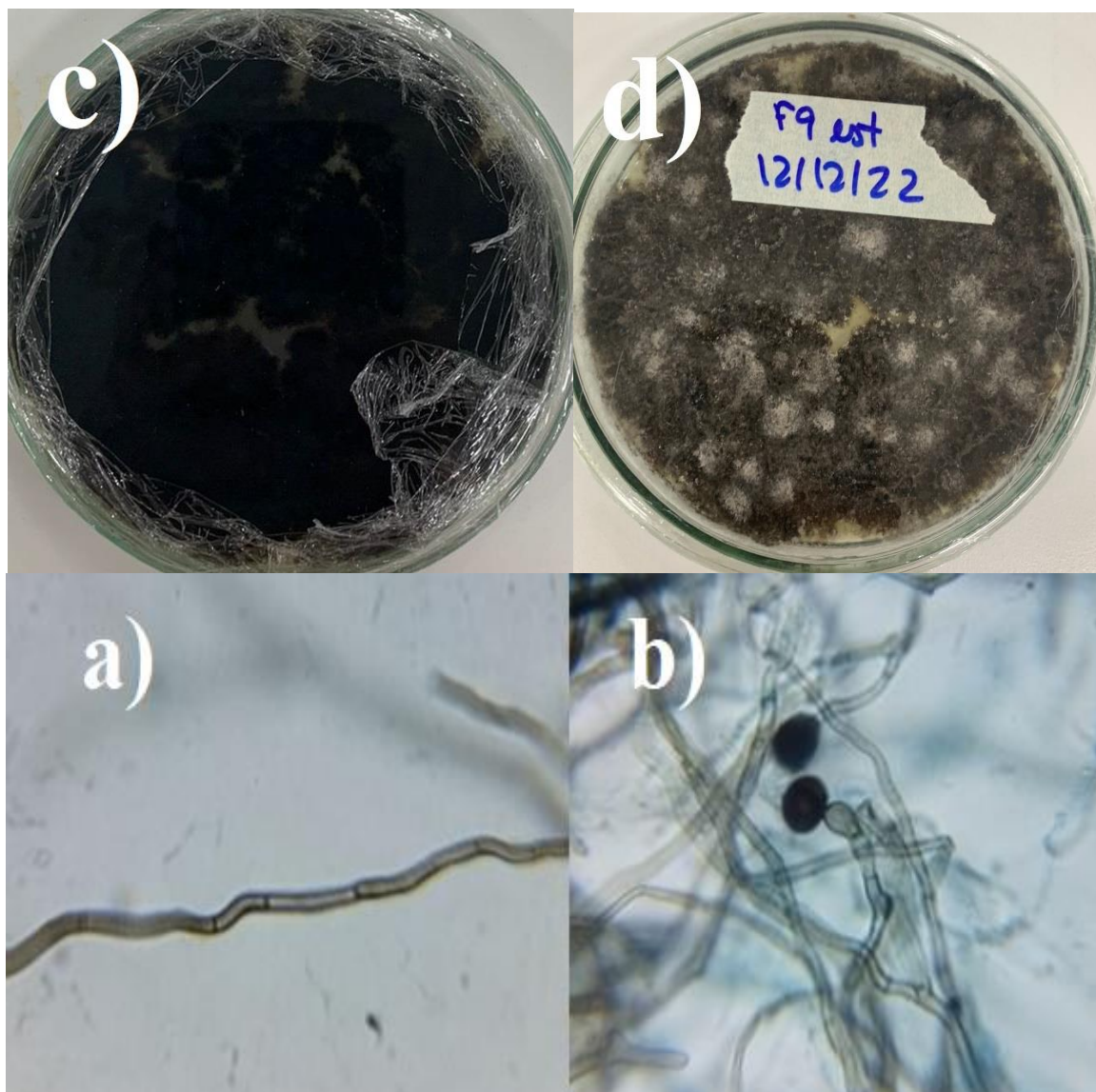
De acordo com os dados coletados, existe a possibilidade do F6 pertencer ao gênero *Chrysosporium*, um micróbio saprófito, do filo *Ascomycota*, encontrados geralmente no solo, unhas e pele, com crescimento moderadamente rápido, algumas espécies são queratinofílicas (Barnett & Hunter, 1998).

Segundo a literatura, não há muitos estudos da aplicação do *Chrysosporium* na área de tratamento de efluentes. Kushwaha (1980) estudou diferentes espécies do gênero *Chrysosporium* e demonstrou que algumas espécies possuem um potencial biotecnológico aceitável para a reciclagem de resíduos queratinosos no solo, assim como secreção de enzimas e atividade antimicrobiana.

5.2.5 Identificação do Fungo 9 (F9)

O F9, isolado em meio BDA, a temperatura ambiente e período de incubação de 5 dias, possui cor inicialmente branca, mas adquire um tom preto-cinza à medida que ocorre a esporulação. Além disso, possui superfície algodonosa, borda branca irregular e cor reversa marrom-amarelada que escurece com o decorrer da esporulação. Possui hifas septadas, conídios pretos, lisos e globosos. Os resultados obtidos são expressos na Figura 17, a seguir.

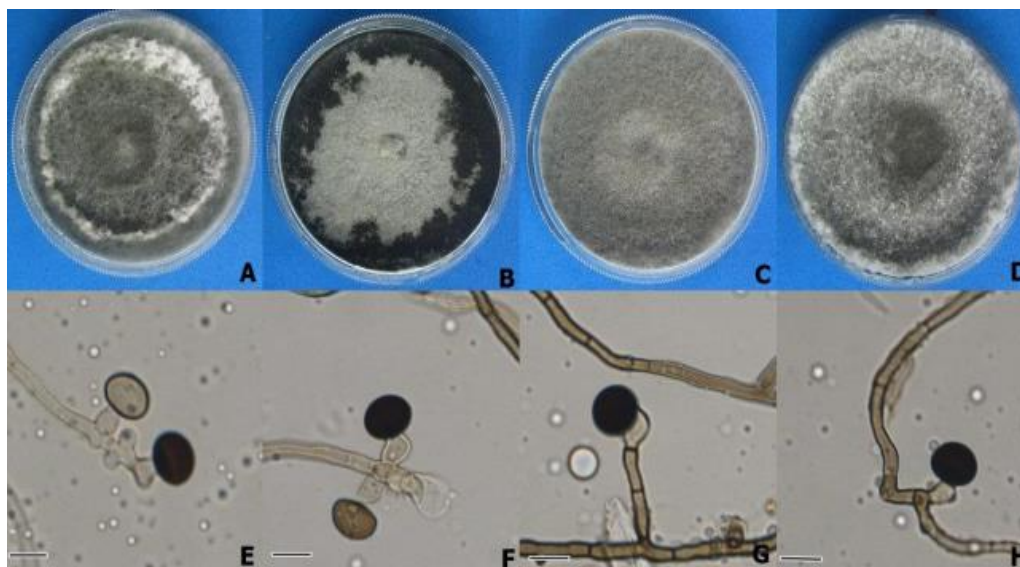
Figura 17-Imagem macroscópica do F9 c) d) e microscópica do F9. a) hifas septadas e b) conídios pretos lisos e globulosos



Fonte: AUTORA (2023)

As características morfológicas encontradas no F9 se assemelham ao fungo encontrado por Bezerra *et al.* (2020), o *Nigrospora sp.*, como mostrado na Figura 18. Dessa maneira, e de acordo com Barnett & Hunter (1998) existe a viabilidade do F9 pertencer ao gênero *Nigrospora*. O tempo de incubação foi similar com Lopes e Pupo (2011) ao estudar o *N. shaerica*, que teve tempo de incubação de 5-14 dias.

Figura 18 - *Nigrospora* sp. endofíticas de bromélias do Parque Nacional da Restinga de Jurubatiba, RJ. (A - D) Variações nas colônias de *Nigrospora* sp. isolados de bromélias e organização da colônia do fungo em placa de Petri contendo meio BDA; (E - H) deposição do gênero *Nigrospora* em microscópio óptico, com detalhe da organização dos conídios e conidióforo.



Fonte: BEZERRA *et al.* (2020).

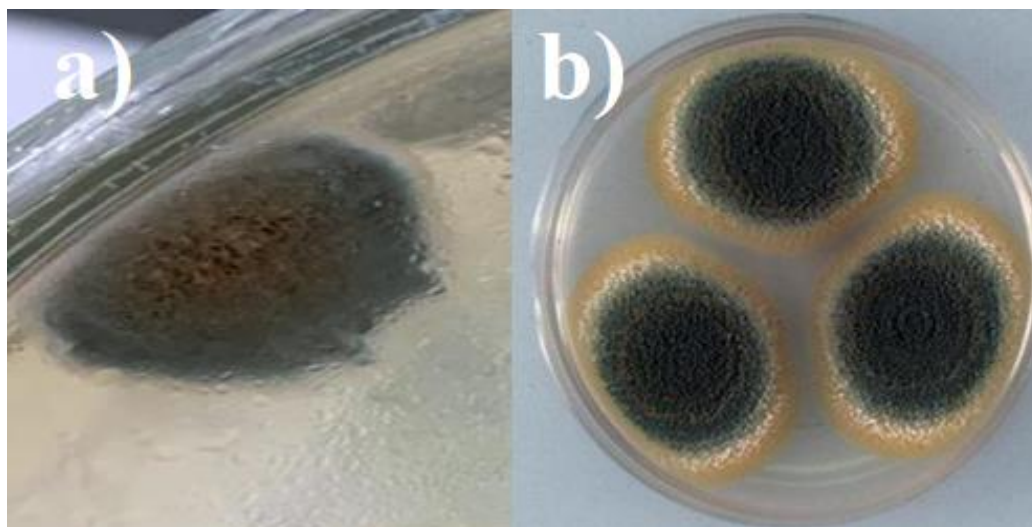
O *Nigrospora* é um fungo filamentosos do filo *Ascomycota* amplamente presente no solo, nas plantas em decomposição e sementes. Geralmente são parasitas de plantas ou saprófitos e quando presentes no interior dos vegetais, geralmente, não causa danos aparentes, e por isso são chamados de endofíticos (BARNETT & HUNTER, 1998).

A partir da espécie *N. sphaerica* um novo derivado de isocromeno, Nigrosphaerin A., junto a outros 19 compostos, foram isolados. Estes apresentaram boa atividade antileucêmica *in vitro*, boa atividade antifúngica e moderada atividade antileishmania *in vitro* (METWALY *et al.*, 2014). Outrossim, Kuang *et al.* (2022) isolou *N. sphaerica* a partir de *Cordyceps sinensis* e sua investigação química resultou no isolamento de 19 hidroantraquinonas, incluindo 11 compostos não descritos anteriormente. Sendo assim, é considerável que o gênero *Nigrospora* tem se mostrado promissor na descoberta de novos metabólitos.

5.2.6 Identificação do Fungo 10 (F10)

Este fungo, isolado em meio BDA, a temperatura ambiente e 5 dias de incubação, inicialmente apresentou cor marrom no centro e à medida que se aproximava das bordas circulares brancas, obtinha uma cor verde, ademais apresentou superfície granular, e cor reversa preta. Esta característica se assemelha ao *Penicilium*, como mostra na Figura 19.

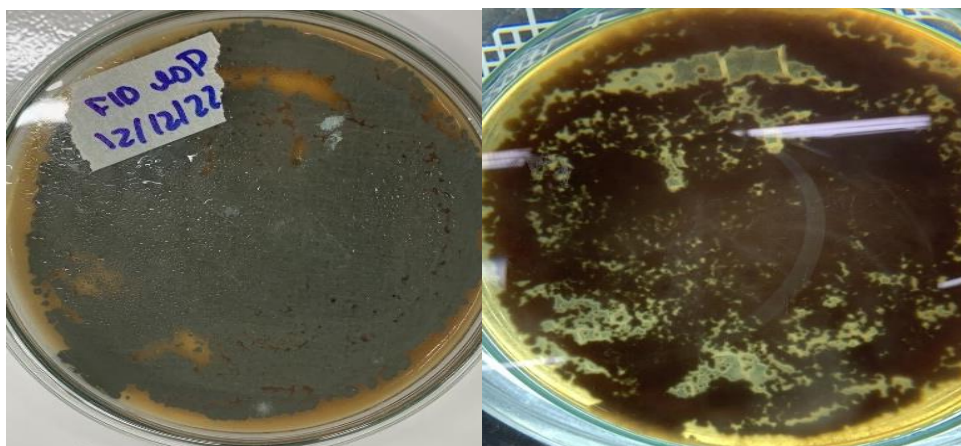
Figura 19- Comparação do Fungo 10 (F10) isolado como o *Penicillium spp.* a) F10; b) *Penicillium spp.*



Fonte: AUTORA (2023); Gerald Holmes, Strawberry Center, Cal Poly San Luis Obispo, Bugwood.org
Disponível em: <https://www.ipmimages.org/browse/detail.cfm?imgnum=1575593>, respectivamente.

Ao ser isolado em meio BDA e mantido a temperatura de 25°C, F10 adquiriu cor verde-acinzentada, cor reversa preta e superfície granular, como mostra a Figura 20.

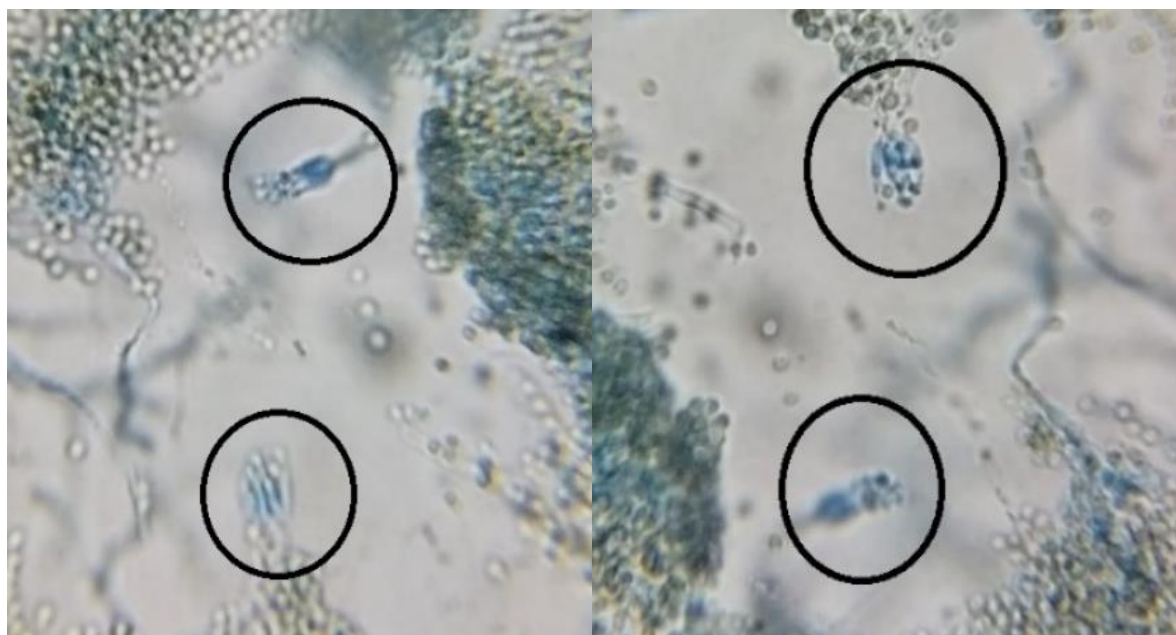
Figura 20-Fungo isolado F10.



Fonte: AUTORA (2023)

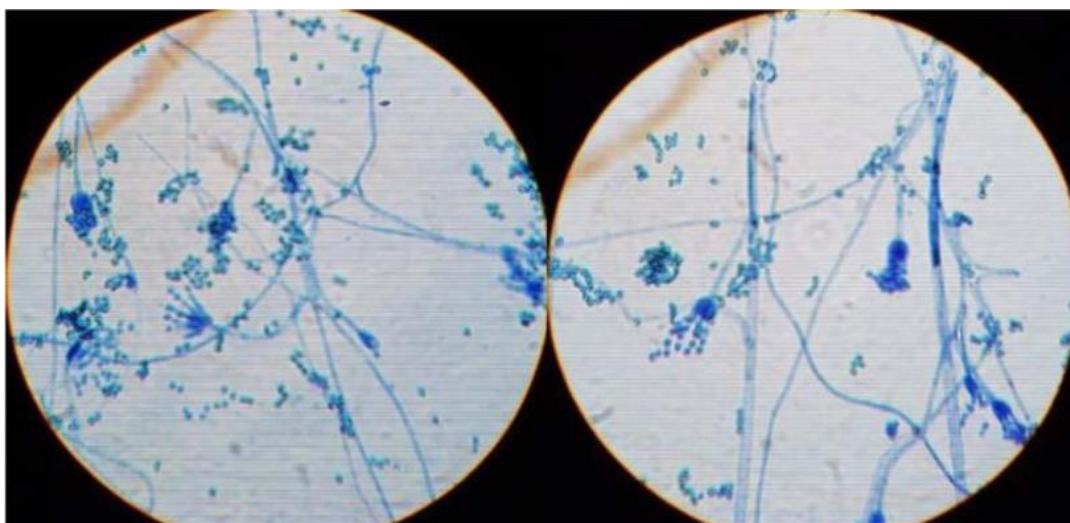
Além disso, apresentou hifas septadas e hialinas, ramificadas próximo ao ápice, terminando em grupo de fiálides. Conídios globosos e conidióforo surgindo do micélio isoladamente. Na Figura 21 e 22, é possível observar a semelhança das terminações do F10 com as do *Penicillium sp.*

Figura 21-F10 no microscópio.



Fonte: AUTORA (2023).

Figura 22 - Conidióforos de *Penicillium* sp. observado mediante microscópio óptico (40X).



Fonte: MORALES-GARCÍA et al. (2019).

Desse modo, temos que o F10, provavelmente, pertence ao gênero *Penicillium*. Os fungos deste gênero comportam inúmeras espécies e apresentam um crescimento rápido em meio de cultura (BEZERRA, *et al.*, 2020). O fungo *Penicillium* é filamentoso e pertence ao filo *Ascomycota*, porém sua caracterização ainda é motivo de discussão. Este gênero é um dos mais abundantes no solo, além disso crescem em alimentos como queijo, pão, cereais e frutas. Esta espécie produz uma diversidade de metabólitos secundários estruturalmente heterogêneos que são de interesse primordial nos domínios industriais e terapêuticos, bem como para micologistas (ASHTEKAR; ANAND; THULASIRAM; RAJESHKUMAR, 2021).

Leitão (2009) e Coelho et al. (2020), concluíram que algumas espécies de *Penicilium* possuem a capacidade de degradar hidrocarbonetos, sendo assim uma atração para processos de biorremediação. Veignie e Rafin (2022), estudaram a eficiência de *P. canescens* na dissipação de hidrocarbonetos aromáticos em microcosmos de solo contaminado envelhecido industrialmente, e obtiveram resultados positivos. Wolski (2023) faz uma revisão sobre a versatilidade das espécies pertencentes ao gênero *Penicillium* que são capazes de serem utilizadas na biodegradação de poluentes orgânicos como corantes azóicos, hidrocarbonetos, compostos farmacêuticos, entre outros. Portanto, é aceitável que o gênero *Penicillium* é propício para ser utilizado na biorremediação de alguns efluentes

6 CONCLUSÃO

Desse modo, de acordo com os resultados obtidos, seis fungos filamentosos foram isolados com base em suas características micro e macroscópicas, provavelmente, pertencem aos gêneros *Trichophyton*, *Cladosporium*, *Epidermophyton*, *Chrysosporium*, *Nigrospora* e *Penicillium*, sendo alguns destes promissores para a área de tratamento de efluentes. Além disso, foi comprovado que o sistema de tratamento aberto apresenta contaminantes exógenos, em especial dos fungos filamentosos.

Para trabalhos futuros, é recomendada a identificação genética destes microrganismos para a sua completa identificação e assim possível utilização no tratamento do soro do leite, dado que são naturalmente adaptados a ele, tanto de maneira individual como em simbiose com outros microrganismos (como no exemplo de sistema utilizado, microalgas), como também em outros tipos de efluentes.

REFERÊNCIAS

AHMAD, I.; ABDULLAH, N.; KOJI, I.; YUZIR, A.; MUHAMMAD, S. E. Evolution of Photobioreactors: a review based on microalgal perspective. **Iop Conference Series: Materials Science and Engineering**, v. 1142, n. 1, p. 012004, 2021. DOI:10.1088/1757-899X/1142/1/012004.

AHMAD, T.; AADIL, R. M.; AHMED, H.; RAHMAN, U.; SOARES, B. C. V.; SOUZA, S. L. Q.; PIMENTEL, T. C.; SCUDINO, H.; GUIMARÃES, J. T.; ESMERINO, E. A.; FREITAS, M. Q.; ALMADA, R. B.; VENDRAMEL, S. M. R.; SILVA, M. C.; CRUZ, A. G. Treatment and utilization of dairy industrial waste: A review. **Trends in Food Science & Technology**, v. 88, p. 361-372, 2019. DOI:10.1016/tifs.2019.04.003.

AKANSHA, J.; NIDHEESH, P. V.; GOPINATH, A.; ANUPAMA, K. V.; KUMAR, M. SURESH. Treatment of dairy industry wastewater by combined aerated electrocoagulation and phytoremediation process. **Chemosphere**, v. 253, p. 126652, 2020. DOI: 10.1016/j.chemosphere.2020.126652.

AL-WASIFY, R. S.; ALI, M. N.; HAMED, S. R. Biodegradation of dairy wastewater using bacterial and fungal local isolates. **Water Sci Technol**, v. 76, n. 11, p. 3094–3100, 2017. DOI: <https://doi.org/10.2166/wst.2017.481>.

ANDRADE, L. H. Tratamento de efluentes de laticínios por duas configurações de biorreator com membranas e nanofiltração visando o reuso, UFU, 2011, 231 p.

ASHTEKAR, N.; ANAND, G.; THULASIRAM, H. V.; RAJESHKUMAR, K. C. Genus *Penicillium*: advances and application in the modern era. **New And Future Developments In Microbial Biotechnology And Bioengineering**, p. 201-213, 2021. Elsevier. DOI: <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-821005-5.00014-4>.

ASSRESS, H. A.; SELVARAJAN, R.; NYONI, H.; NTUSHELO, K.; MAMBA, B. B.; MSAGATI, T. M. Diversity, Co-occurrence and Implications of Fungal Communities in Wastewater Treatment Plants. *Scientific Reports*. v. 9, n.1, 2019 DOI: <https://doi.org/10.1038/s41598-019-50624-z>

BARBOSA, M. S. Importância dos fungos de podridão branca do gênero *Ganoderma* na biodegradação e biorremediação de compostos xenobióticos: uma revisão. Universidade Estadual Paulista (Unesp), 2022, 32 p.

BARNETT H. L., BARRY B., HUNTER F. Illustrated Genra of Imperfect Fungi. American Pathology Society, 4º Ed., 1998, 218 p.

BASU, S.; BOSE, C.; OJHA, N.; DAS, N.; DAS, J.; PAL, M.; KHURANA, S. Evolution of bacterial and fungal growth media. **Bioinformation**, v. 11, n. 4, p. 182-184, 2015. DOI: 10.6026/97320630011182.

BEN-DAVID, A., CHARLES E. DAVIDSON, C. E. Estimation method for serial dilution experiments. **Journal of Microbiological Methods**, v. 107, p. 214-221, 2014. DOI: 10.1016/j.mimet.2014.08.023.

BENSCH, K.; BRAUN, U.; GROENEWALD, J.Z.; CROUS, P. W. The genus *Cladosporium*. Westerdijk Fungal Biodiversity Institute. **Studies In Mycology**, v. 72, p. 1-401, 2012. DOI:10.3114/sim0003.

BEZERRA, G. de A.; MUSSI-DIAS, V.; SANTOS, P. H. D. dos; CARVALHO, B. M.; POLTRONIERI, T. P. de S.; SILVEIRA, S. F. da. Endophytic fungi associated with the restinga bromeliads the National Park of Jurubatiba Restinga. **Research, Society and Development**, v. 9, n. 7, p. e971974298, 2020. DOI: <https://doi.org/10.33448/rsd-v9i7.4298>.

CHU, R., LI, S., ZHU, L., YIN, Z., HU, D., LIU, C., MO, F. A review on co-cultivation of microalgae with filamentous fungi: Efficient harvesting, wastewater treatment and biofuel production. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, v. 139, p. 110689, 2021. DOI: 10.1016/j.rser.2020.110689.

CORREA, Y.; CABANILLAS, B.; JULIAN, V.; ALVAREZ, D.; CASTILLO, D.; DUFLOER, C.; BUSTAMANTE, B.; RONCAL, E.; NEYRA, E.; SHEEN, P.; SAUVAIN, M. Identification and characterization of compounds from *Chrysosporium multifidum*, a fungus with moderate antimicrobial activity isolated from *Hermetia illucens* gut microbiota. **PLOS ONE**, v 14, 2019. DOI: 10.1371/journal.pone.0218837.

DE JESUS, C. S. A., RUTH, V. G. E., DANIEL, S. F. R., SHARMA, A. Biotechnological alternatives for the utilization of dairy industry waste products. **Advances in Bioscience and Biotechnology**, v. 6, n. 3, p. 223–235, 2015. DOI: 10.4236/abb.2015.63022.

COELHO, E.; REIS, T. A.; COTRIM, M.; RIZZUTTO, M.; CORRÊA, B. Bioremediation of water contaminated with uranium using *Penicillium piscarium*. **Biothechnology progress**. v. 36, Issue 5, p: e30322, 2020, DOI: <https://doi.org/10.1002/btpr.3032>.

EZEONUEGBU, L.; DAUDAABDULLAHI, M.; WHONG, C. M. Z.; SOHUNAGO, J. W.; KASSEM, H. S.; YARO, C. A.; HETTA, H. F.; HEDEAB, G. M.; ZOUGANELIS, G. D.; BATIHA, G. E. S. Characterization and phylogeny of fungi isolated from industrial wastewater using multiple genes. **Scientific Reports**. v. 12, n. 1, p. 2094, 2022. doi: 10.1038/s41598-022-05820-9.

FAIA, A. M. Isolamento e identificação de fungos filamentosos e leveduras em alguns pontos de uma rede de distribuição de água. Mestrado em Biologia Celular e Biotecnologia. Universidade de Lisboa, 2011, p. 52.

FARHAN, M. G.; ABID, H. A.; DELLAS, E. S. Possibility of Using Types of Filamentous Fungi in The Treatment of Domestic Wastewater and Evaluating Its Efficiency. **International Journal for Research in Applied Sciences and Biotechnology**, v. 9, n. 3, p. 218–222, 2022. ISSN: 2349-8889.

FERREIRA, J. A.; VARJANI, S.; TAHERZADEH, M. J. A critical review on the ubiquitous role of filamentous fungi in pollution mitigation. **Current Pollution Reports**, v. 6, n. 4, p. 295-309, 2020. DOI: <https://doi.org/10.1007/s40726-020-00156-2>.

FITO, J.; ALEMU, K. Microalgae–bacteria consortium treatment technology for municipal wastewater management, **Nanotechnol. Environ. Eng.** v.4, 2019. DOI:10.1007/s41204-018-0050-2.

HASSAN, R. G.; EL-SAID, M. A.; MOHAMED, L. A. Assessment of some bacterial and fungal strains for dairy wastewater treatment. **Egyptian Journal of Applied Science**, v. 35, n.1, p. 272-283, 2020 DOI: 10.21608/ejas.2020.148321.

HUMBER, R. A. Fungi. **Manual of Techniques in Insect Pathology**, p. 153-185, 1997.

HYDE, K. D.; BAHKALI, A. H; MOSLEM, M. A. Fungi—an unusual source for cosmetics. **Fungal Divers** v. 43, n. 1, p. 1–9, 2010. DOI:10.1007/s13225-010-0043-3.

IBGE – Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística - IBGE. Pesquisa Trimestral do Leite, 2022. Disponível em: <<https://www.ibge.gov.br/estatisticas/economicas/agricultura-e-pecuaria/9209-pesquisa-trimestral-do-leite.html?=&t=destaques>>. Acessado em: 22 set. 2022.

JAISWAL, K.K.; DUTT, S.; BANERJEE, I.; BANERJEE, I.; POHRMEN, C. B.; KUMAR, V. Photosynthetic microalgae–based carbon sequestration and generation of biomass in biorefinery approach for renewable biofuels for a cleaner environment. **Biomass Conv. Bioref.** 2021. DOI:10.1007/S13399-021-01504-Y.

JERNEY, J.; SPILLING, K. Large-scale Cultivation of Microalgae: Open and Closed Systems. **Methods in Molecular Biology**. v. 1980, p.: 1-8, 2020. DOI: 10.1007/7651_2018_130.

JUÁREZ-HERNÁNDEZ, J.; CASTILLO-HERNÁNDEZ, D.; PÉREZ-PARADA, C.; NAVA-GALICIA, S.; CUERVO-PARRA, J.A.; SURIAN-CRUZ, E.; DÍAZ-GODÍNEZ, G.; SÁNCHEZ, C.; BIBBINS-MARTÍNEZ, M. Isolation of Fungi from a Textile Industry Effluent and the Screening of Their Potential to Degrade Industrial Dyes. *J. Fungi* v. 7, p. 805, 2021. DOI: <https://doi.org/10.3390/jof7100805>.

JUNG, H.; HYUN, K.; PARK, C. Production of Laccase and Bioremediation of Pentachlorophenol by Wood-Degrading Fungus *Trichophyton* sp. LKY-7 immobilized in Ca-Alginate Beads. *Journal of Korea Technical Association of The Pulp and Paper Industry* v. 35, p 80-86. 2003.

KARAPANAGIOTI, H. K. Water Management, Treatment and Environmental Impact. *Encyclopedia of Food and Health*. **Elsevier**, 2016.

KAUR, A.; CHAMAN, S. Bioaugmentation for Dairy Wastewater. **International Journal of Science and Research (IJSR)**. v. 3, p. 316-320, 2014. ISSN: 2319-7064.

KRISHNA, B. R.; BHUVANESHWARI, S.; MAJEED, F.; MANOJ, M. M.; JOSE, E.; MOHAN, A. Different treatment methodologies and reactors employed for dairy effluent treatment - A review. **Journal of Water Process Engineering**, v 46, 2022. DOI:10.1016/j.jwpe.2022.102622.

KUANG, Q.-X.; LUO, Y.; LEI, L.-R.; GUO, W.-X.; LI, X.-A.; WANG, Y.-M.; HUO, X.-Y.; LIU, M.-D.; ZHANG, Q.; FENG, D.; HUANG, L.-J.; WANG, D.; YU-CHENG GU, Y.-D.; GUO, D.-L. Hydroantraquinones from *Nigrospora sphaerica* and Their Anti-inflammatory Activity Uncovered by Transcriptome Analysis. *Journal of Natural Products*. v. 85, n. 6, p. 1474-1485, 2022. doi: 10.1021/acs.jnatprod.1c01141.

KUMAR, J., SINGH, I., KUSHWAHA, R. K. S. (2021). Keratinophilic Fungi: Diversity, Environmental and Biotechnological Implications. In: SATYANARAYANA, T.; DESHMUKH, S. K.; DESHPANDE, M. V. (eds) Progress in Mycology. Springer, Singapore. 2021.

KUSHWAHA, Rajendra Kumar Singh. The genus *Chrysosporium*, its physiology and biotechnological potential. *Stud. Mycol*, v. 20, n. 28, 1980.

LAM, T. P.; LEE, T. M.; CHEN, C. Y.; CHANG, J. S. Strategies to control biological contaminants during microalgal cultivation in open ponds. **Bioresource technology**, v. 252, p. 180-187, 2018. DOI: 10.1016/j.biortech.2017.12.088.

LEITÃO, A. L. Potential of *Penicillium* Species in the Bioremediation Field. **International Journal of Environmental Research and Public Health**, v. 6, n. 4, p. 1393-1417, 2009. DOI:10.3390/ijerph6041393.

LEÓN-LÓPEZ, A.; PÉREZ-MARROQUÍN, X. A.; ESTRADA-FERNÁNDEZ, A. G.; CAMPOS-LOZADA, G.; MORALES-PENALOZA, A.; CAMPOS-MONTIEL, R. G.; AGUIRRE-ÁLVAREZ, G. Milk Whey Hydrolysates as High Value-Added Natural Polymers: functional properties and applications. **Polymers**, v. 14, n. 6, p. 1258, 2022. DOI: <https://doi.org/10.3390/polym14061258>.

LOPES, A. A.; PUPO, M. T. Biosynthesis of aphidicolin proceeds via the mevalonate pathway in the endophytic fungus *Nigrospora sphaerica*. *Journal of the Brazilian Chemical Society*, v. 22, n. 1, p. 80-85, 2011. DOI: <https://doi.org/10.1590/S0103-50532011000100010>.

MANAWASINGHE, I. S.; DISSANAYAKE, A. J.; LI, X.; LIU, M.; WANAWASINGHE, D. N.; XU, J.; ZHAO, W.; ZHANG, W.; ZHOW, Y.; HYDE, K. D.; BROOKS, S.; YAN, J. High Genetic Diversity and Species Complexity of *Diaporthe* Associated With Grapevine Dieback in China. **Front Microbiol**, v.10, 2019. DOI: <https://doi.org/10.3389/fmicb.2019.01936>.

MANGAL, M; BANSAL, S; SHARMA, M. Macro and micromorphological characterization of different *Aspergillus* isolates. **Legume Research - An International Journal**, v. 37, n. 4, p. 372, 2014. DOI:10.5958/0976-0571.2014.00646.8.

MARWAH, B. Assessing some *Cladosporium* species in the biodegradation of petroleum hydrocarbon for treating oil contamination, *Journal of Applied Microbiology*, v. 133, n. 6, p. 3296–3306, 2022. DOI: 10.1111/jam.15815.

MEDEIROS, Josimayra Almeida. Biorremediação do soro do leite utilizando consórcio microalga-fungo. Orientador: Carlos Eduardo de Farias Silva. 2022. Dissertação (Mestrado). Curso de Engenharia Química, Centro de Tecnologia, Universidade Federal de Alagoas, Maceió, 2022.

MORALES-GARCÍA, Y. E.; HERNÁNDEZ-CANSECO, J.; RAMOS-CASTILLO, G.; PÉREZ-YTERRÓN, R.; MUÑOZ-ROJAS, J. Cuantificación de *Penicillium* sp. por el método de goteo en placa. *Revista Iberoamericana de Ciencias* v. 3, n. 2, 2019. ISSN 2334-2501.

METWALY, A. M.; KADRY, H. A.; EL-HELA, A. A.; MOHAMMAD, A-E. I.; MA, G.; CUTLER, S. J.; ROSS, S. A. Nigrosphaerin A a new isochromene derivative from the endophytic fungus *Nigrospora sphaerica*. **Phytochemistry Letters**, v. 7, p. 1-5, 2014. DOI: 10.1016/j.phytol.2013.09.001.

NAPOLI, M. D.; SILVESTRI, B.; CASTAGLIUOLO, G.; CARPENTIERI, A.; LUCIANI, G.; MARO, A. D.; SORBO, S.; PEZZELLA, A.; ZANFARDINO, A.; VARCAMONTI, M. High density polyethylene (HDPE) biodegradation by the fungus *cladosporium halotolerans*, *FEMS Microbiology Ecology*, fiac148, 2022. DOI: <https://doi.org/10.1093/femsec/fiac148>.

MUELLER, G. M.; BILLS, G. F.; FOSTER, M. S. Biodiversity of fungi: inventory and monitoring methods. **Elsevier**, 2004. p. 777.

NOMAN, E; AL-GHEETHI, A. A.; RAHMAN, N K; TALIP, B; MOHAMED, R; A KADIR, O. Single Spore Isolation as a Simple and Efficient Technique to obtain fungal pure culture. **Iop Conference Series: Earth and Environmental Science**, v. 140, n. 1, p. 012055, 2018. DOI: 10.1088/1755-1315/140/1/012055.

NWOKEOMA, C. I.; AKINYELE, H. A.; SAMUEL-OSAMOKA, F. C.; OSANYINLUSI, S. A. Keratinophilic fungi associated with soils from selected villages in ugwuonyeand ojobogene towns, enugu state, nigeria and their disease implications. *The Bioscientist Journal*, v. 5, n. 1, p. 20-31. 2017.

OCDE/FAO. OECD-FAO Agricultural Outlook, Estatísticas da Agricultura da OCDE (base de dados), 2022. FAO - Food and Agriculture Organization of the United Nations. Portal Lactéo. Disponível em: < <https://www.fao.org/dairy-production-products/production/es/>>. Acesso em: 22 set. 2022.

OECD/FAO. OECD-FAO Agricultural Outlook 2021-2030, OECD Publishing, Paris, p. 178-189, 2021. Disponível em: <https://www.oecd.org/publications/oecd-fao-agricultural-outlook-19991142.htm>. Acessado em: 20 de setembro de 2022.

OKORO, C. C. Biodegradation of hydrocarbons in untreated produce water using pure fungal cultures, **African Journal of Microbiology Research**. v.2, p. 217-223, 2008. ISSN 1996-0808.

PAPADIA, S.; ROVERO, G.; FAVA, F.; GIOIA, D. D. Comparison of different pilot scale bioreactors for the treatment of a real wastewater from the textile industry. *International Biodeterioration & Biodegradation*. v. 65, n. 3, p 396-403, 2011. ISSN 0964-8305,

PATEL, A. K.; SINGHANIA, R. R.; ALBARICO, F. P. J. B.; PANDEY, A.; CHEN, C.; DONG, C. Organic wastes bioremediation and its changing prospects. **Science of the total environment**, v. 824, p. 153889, 2022. DOI: 10.1016/j.scitotenv.2022.153889.

PATEL, A. K.; JOUN, J.; SIM, S. J. A sustainable mixotrophic microalgae cultivation from dairy wastes for carbon credit, bioremediation and lucrative biofuels. **Bioresource Technology**, v. 313, 2020. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2020.123681>.

PIRES, A. F.; MARNOTES, N. G.; RUBIO, O. D.; GARCIA, A. C.; PEREIRA, C. D. Dairy By-Products: A Review on the Valorization of Whey and Second Cheese Whey. *Foods* v. 10, n. 5, p. 1067, 2021. DOI: <https://doi.org/10.3390/foods10051067>.

RAKHMANIA, W.; IBRAHIM, Z.; ABBA, M. Isolation and characterization of dye-degrading bacteria from batik. **IOP Conference Series: Earth and Environmental Science**, 2022. DOI: 10.1088/1755-1315/1091/1/012062.

RANI, B.; KUMAR, V.; SINGH, J.; BISHT, S.; TEOTIA, P.; SHARMA, S.; KELA, R. Bioremediation of dyes by fungi isolated from contaminated dye effluent sites for bio-usability. **Brazilian Journal of Microbiology** v. 45, n. 3, p.1055-1063, 2014. ISSN 1678-4405.

YESIDALI, S. K.; PEKIN, G.; BERMEK, H.; ARSLAN-ALATON, I.; ORHON, D.; TAMERLER, C. Bioremediation of Textile Azo Dyes by *Trichophyton rubrum* LSK-27. *World J Microbiol Biotechnol.* v. 22, p. 1027–1031, 2006. DOI:10.1007/s11274-005-3207-7.

SCHERER, E.; BARRETO-RODRIGUES, M. Combination of catalytic ozonation and fungal bioremediation for treatment from effluent from the laminate production industry. **Claudio Rev. Ambient. Água** v. 17 n. 6, p. e2817, 2022. DOI: <https://doi.org/10.4136/ambi-agua.2817>.

SCHIMIDELL NETTO, W.; LIMA, U. DE A.; AQUARONE, E.; BORZANI, W. Engenharia Bioquímica (Biotecnologia Industrial). v. 2, p. 541, 2001. ISBN: 8521202792.

SENANAYAKE, I. C.; RATHNAYAKA, A. R.; MARASINGHE, D. S.; CALABON, M. S.; GENTEKAKI, E.; LEE, H. B.; HURDEAL, V. G.; PEM, D.; DISSANAYAKE, L. S.; WIJESINGHE, S. N.; et al. Morphological approaches in studying fungi: Collection, examination, isolation, sporulation and preservation. **Mycosphere**, v. 11, n. 1, p. 2678-2754, 2020. DOI: 10.5943/mycosphere/11/1/20.

SHANAKHT, H. Characterization of fungal microbiota on rice grains from local markets of lahore. Disponível em: https://www.researchgate.net/publication/323551491_characterization_of_fungal_microbiota_on_rice_grains_from_local_markets_of_lahore. Acessado em: 5 mar. 2022.

SHETE, B. S.; SHINKAR, N. P. Dairy Industry Wastewater Sources, Characteristics & its Effects on Environment. **International Journal of Current Engineering and Technology**, v.3, n. 5, p. 1611-1615, 2013. ISSN 2277 – 4106.

SREEKANTH, D., POOJA, K., SEETA, Y., HIMABINDU, V., REDDY, P. M. Bioremediation of dairy wastewater using microalgae for the production of biodiesel. *IJSEAT*, v. 2, n. 11, p. 783-791, 2014. ISSN 2321-6905.

SONG, Y.; WANG, L.; QIANG, X.; GU, W.; MA, Z.; WANG, G. The promising way to treat wastewater by microalgae: Approaches, mechanisms, applications and challenges. **Journal of Water Process Engineering**, v. 49, n. 1, p 103012, 2022. DOI:10.1016/j.jwpe.2022.103012.

SU, Y. Y.; QI, Y. L.; CAI, L. Induction of sporulation in plant pathogenic fungi. **Mycology**, v.3, n. 3, p.195– 200, 2012. DOI: 10.1080/21501203.2012.719042.

SUMMERBELL, R. C. Trichophyton, Microsporum, Epidermophyton e agentes de micoses superficiais. **Manual de microbiologia clínica**, p. 1919-1942, 2011.

SUTHERLAND, D. L.; RALPH, P. J. Microalgal bioremediation of emerging contaminants - Opportunities and challenges. **Water Research**, v. 164, p. 114921, 2019. DOI: 10.1016/j.watres.2019.114921.

TILOCCA, B.; COSTANZO, N.; MORITTUA, V. M.; SPINAA, A. A.; SOGGIUB, A.; BRITTIA, D.; RONCADA, P.; PIRAS, C. Milk microbiota: Characterization methods and role in cheese production. **Journal of Proteomics**, v. 210, p. 103534, 2020. DOI: 10.1016/j.jprot.2019.103534.

TOMASINI, A.; LÉON-SANTIESTEBAN, H. H. O papel dos fungos filamentosos na biorremediação. **Biorremediação de fungos**, 1ª Ed, 2019.

TORRES, D. E.; ROJAS-MARTÍNEZ, R. I.; ZAVALA-MEJÍA, E.; GUEVARA-FEFER, P.; MÁRQUEZ-GUZMÁN, G. J.; PÉREZ-MARTÍNEZ, C. Cladosporium cladosporioides and Cladosporium pseudocladosporioides as potential new fungal antagonists of Puccinia horiana Henn., the causal agent of chrysanthemum white rust. PLoS ONE, v. 12, n. 1, p e0170782, 2017. doi: 10.1371/journal.pone.0170782.

VEIGNIE, E.; RAFIN, C. Efficiency of Penicillium canescens in Dissipating PAH in Industrial Aged Contaminated Soil Microcosms and Its Impact on Soil Organic Matter and Ecotoxicity. Processes. v. 10, n. 3, p. 532, 2022. DOI: <https://doi.org/10.3390/pr10030532>.

WANG, J.; TIAN, Q.; CUI, L.; CHENG, J.; ZHOU, H.; ZHANG, Y.; PENG, A.; SHEN, L. Synergism and mutualistic interactions between microalgae and fungi in fungi-microalgae symbiotic system. **Bioresour Technol**, v. 361, p. 127728, 2022.

WOLSKI E. A. The versatility of Penicillium species to degrade organic pollutants and its use for wastewater treatment. Studies in Fungi v. 8, n. 2, 2023. DOI: 10.48130/SIF-2023-0002.

XIE, B.; GONG, W.; YU, H.; TANG, X.; YAN, Z.; LUO, X.; GAN, Z.; WANG, T.; LI, G.; LIANG, H. Immobilized microalgae for anaerobic digestion effluent treatment in a photobioreactor-ultrafiltration system: algal harvest and membrane fouling control, **Bioresour Technol**, v. 268, p. 139–148, 2018. DOI: 10.1016/j.biortech.2018.07.110.

YANG, L.; LI, H.; WANG, Q. A novel one-step method for oil-rich biomass production and harvesting by co-cultivating microalgae with filamentous fungi in molasses wastewater. **Bioresour Technol**, v. 275, p. 35-43, 2019. DOI: 10.1016/j.biortech.2018.12.036.

YESILADALI, S.K., PEKIN, G., BERMEK, H. et al. Bioremediation of Textile Azo Dyes by Trichophyton rubrum LSK-27. World J Microbiol Biotechnol v. 22, n. 10, p. 1027–1031. 2006. DOI:10.1007/s11274-005-3207-7.

YEW, S. M.; CHAN, C. L.; NGEOW, Y. F.; TOH, Y. F.; NA, S. L.; LEE, K. W.; HOH, C. C.; YEE, W. Y.; NG, K. P.; KUAN, C. S. Insight into different environmental niches adaptation and allergenicity from the *Cladosporium sphaerospermum* genome, a common human allergy-eliciting Dothideomycetes. **Sci Rep.** v. 6; p.: 27008. 2016. DOI: 10.1038/srep27008.