

UNIVERSIDADE FEDERAL DE ALAGOAS
INSTITUTO DE QUÍMICA E BIOTECNOLOGIA - IQB
CURSO DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA E BIOTECNOLOGIA - CPGQB

AVALIAÇÃO DO CRESCIMENTO DOS FUNGOS
Geotrichum candidum Link. & Pers. E *Phanerochaete chrysosporium* Burds.,
EM CULTIVOS CONTENDO COMPOSTOS RECALCITRANTES

Jackson Custódio de Oliveira

Dissertação apresentada ao
Instituto de Química e Biotecnologia da
Universidade Federal de Alagoas, para a
obtenção do Título de Mestre em Química e
Biotecnologia

**Orientadora: Prof^ª.Dr^ª. Ana Maria
Queijeiro López**

MACEIÓ - ALAGOAS

JUNHO de 2006

Catálogo na fonte
Universidade Federal de Alagoas
Biblioteca Central
Divisão de Tratamento Técnico
Bibliotecária Responsável: Helena Cristina Pimentel do Vale

O48a Oliveira, Jackson Custódio de.
Avaliação do crescimento dos fungos *Geotrichum candidum* Link. & Pers. e *Phanerochaete chrysosporium* Burds., em cultivos contendo compostos recalcitrantes / Jackson Custódio de Oliveira. – Maceió, 2006.
xiii, 121f. : il. tabs., grafs.

Orientador: Ana Maria Queijeiro López.
Dissertação (mestrado em Química e Biotecnologia) – Universidade Federal de Alagoas. Instituto de Química e Biotecnologia. Maceió, 2006.

Bibliografia: f. 81-99.
Apêndices: f. 100-121.

1. Agroquímicos. 2. Biorremediação. 3. Lignina – Biodegradação. 4. Fungos.
5. Tratamento de efluentes. I. Título.

CDU: 547.992



**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM
QUÍMICA E BIOTECNOLOGIA**

Instituto de Química e Biotecnologia
Universidade Federal de Alagoas
Tel. 55 82 214-1384 Fax. 55 82 214-1389
www.qui.ufal.br

Campus A. C. Simões
Tabuleiro dos Martins
57072-970
Maceió-AL
Brasil

Membros da Comissão Julgadora da Dissertação de Mestrado de **Jackson Custódio de Oliveira**, intitulada: "**Avaliação da Atividade de *Phanerochaete chrysosporium* Burds e *Geotrichum candidum* Link. & Pers. Sobre compostos recalcitrantes**", apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Química e Biotecnologia da Universidade Federal de Alagoas, em 31 de maio de 2006, às 14:30 horas na sala de Multimeios do Bloco13.

COMISSÃO JULGADORA

Prof.^a Dr.^a Ana Maria Queijeiro Lopez
Orientadora - IQB/UFAL

Prof.^a Dr.^a Maria Elizabete Cavalcante Chaves
Titular - LIKA/UFPE

Prof.^a Dr.^a Sônia Salgueiro Machado
Titular - IQB/UFAL

DEDICATÓRIA

Este Trabalho é Dedicado à Minha Família,

AGRADECIMENTOS

A **Deus**, por sua infinita misericórdia.

A S.A. Usina Coruripe Açúcar e Álcool, pelo apoio financeiro ao trabalho.

Em especial à minha Orientadora, Ana Maria Queijeiro López, pela confiança, pelo suporte moral e principalmente intelectual, bem como seu exemplo de profissionalismo e amizade.

A todos os amigos(as) do Laboratório de Bioquímica do Parasitismo Vegetal e Microbiologia Ambiental (LBPVMA), pela amizade e companheirismo durante o período do desenvolvimento dos trabalhos.

SUMÁRIO

	<i>Página</i>
Lista de Figuras	vii
Lista de Tabelas.....	ix
Lista de Quadros	x
Lista de Abreviaturas, Fórmulas e Símbolos	xi
Resumo	xiii
Abstract	xiv
1. INTRODUÇÃO	1
2. OBJETIVO GERAL	3
3. OBJETIVOS ESPECÍFICOS	4
4. REVISÃO	5
4.1. DESCARTE DE EFLUENTES	5
4.1.1. Determinação do Poder Contaminante de Efluentes	7
4.1.2. Tratamento Biológico de Efluentes	8
4.2. BIORREMEDIAÇÃO	9
4.2.1. Biorremediação de Compostos Recalcitrantes e Xenobióticos	18
4.2.1.1. Lignina e Taninos	18
4.2.1.2. Xenobióticos	23
4.2.2. Reações de Transformação de Compostos Recalcitrantes e Xenobióticos	27
4.2.3. Ação do fungo <i>Phanerochaete chrysosporium</i> Burds. 1974	39
4.2.4. Ação do fungo <i>Geotrichum candidum</i> Link e Pers.	42
5. METODOLOGIA	44
5.1. MATERIAL BIOLÓGICO	44
5.2. MEIOS SÓLIDOS PARA MANUTENÇÃO E CESCIMENTO DOS FUNGOS	44
5.2.1. Extrato de Malte Agar (EMA)	44
5.2.2. Batata Dextrose Agar (BDA)	44
5.2.3. Meio Sabouraud (MS)	44
5.2.4. Meio Czapeck-Doc (MCD)	45
5.3. HERBICIDAS UTILIZADOS	45
5.4. EFLUENTE DE UNIDADE INDUSTRIAL SUCRO-ALCOOLEIRA 5.5. PADRONIZAÇÃO DAS CONDIÇÕES DE CRESCIMENTO DOS FUNGOS <i>P.chrysosporium</i> e <i>G. candidum</i> EM DIFERENTES MEIOS SÓLIDOS	47
5.6. PADRONIZAÇÃO DAS CONDIÇÕES DE CRESCIMENTO DOS FUNGOS <i>P.chrysosporium</i> E <i>G. candidum</i> EM DIFERENTES MEIOS LÍQUIDOS	50
5.7. CRESCIMENTO DOS FUNGOS <i>P.chrysosporium</i> E <i>G. candidum</i> EM MEIO LÍQUIDO CONTENDO HERBICIDAS	51
5.8. DETERMINAÇÃO DA ATIVIDADE DA TANASE EM MEIO SÓLIDO	51
5.9. CRESCIMENTO DOS FUNGOS <i>P.chrysosporium</i> e <i>G. candidum</i> EM AMOSTRA DE EFLUENTE AGROINDUSTRIAL	52
5.9.1. Inoculação de Efluente Agroindustrial não Diluído e Análises Físico- Químicas.....	52
5.9.2. Determinação do Conteúdo Total de Taninos em Culturas dos Fun- gos <i>P. chrysosporium</i> e <i>G. candidum</i> em Efluente Agroindustrial não Diluído	52

5.9.3. Determinação da Atividade da Tanase em Culturas de <i>P.chrysosporium</i> E <i>G. candidum</i> em efluentes agroindustrial não Diluído	53
5.9.4. Determinação da atividade da Lacase em culturas de <i>P. chrysosporium</i> E <i>G. candidum</i> em efluentes agroindustrial não Diluído	54
5.9.5. Efeito de Nutrientes no Cultivo de <i>Phanerochaete chrysosporium</i> e <i>Geotrichum candidum</i> em Efluente Agroindustrial Diluído	55
5.9.5.1.Determinação de Fenóis Totais	56
5.9.5.2.Determinação de Glicídeos Redutores Totais	56
6. RESULTADOS E DISCUSSÃO	57
6.1. PADRONIZAÇÃO DAS CONDIÇÕES DE CRESCIMENTO DOS FUNGOS <i>Phanerochaete chrysosporium</i> E <i>Geotrichum candidum</i> EM MEIO SÓLIDO.....	57
6.2. PADRONIZAÇÃO DAS CONDIÇÕES DE CRESCIMENTO DOS FUNGOS <i>Phanerochaete chrysosporium</i> E <i>Geotrichum candidum</i> EM MEIO LÍQUIDO.....	58
6.3. CRESCIMENTO DOS FUNGOS <i>Phanerochaete chrysosporium</i> E <i>Geotrichum candidum</i> EM MEIO LÍQUIDO CONTENDO HERBICIDAS	59
6.4. DETERMINAÇÃO DA ATIVIDADE DA TANASE EM MEIO SÓLIDO	66
6.5. CRESCIMENTO DOS FUNGOS <i>P. chrysosporium</i> E <i>G. candidum</i> EM AMOSTRA DE EFLUENTE AGROINDUSTRIAL	67
6.5.1. Inoculação de Efluente Agroindustrial não Diluído e Análises Físico-Químicas.	67
6.5.2. Determinação do Conteúdo Total de Taninos em culturas dos fungos <i>Phanerochaete chrysosporium</i> e <i>Geotrichum candidum</i> em Efluente Agroindustrial não Diluído	69
6.5.3. Determinação da Atividade da Tanase em Culturas de <i>Phanerochaete chrysosporium</i> e <i>Geotrichum candidum</i> em Efluente Agroindustrial não Diluído	71
6.5.4. Determinação da Atividade da Lacase em Culturas de <i>Phanerochaete chrysosporium</i> e <i>Geotrichum candidum</i> em Efluente Agroindustrial não Diluído	71
6.5.5. Efeito de Nutrientes no Cultivo de <i>Phanerochaete chrysosporium</i> e <i>Geotrichum candidum</i> em Efluente Agroindustrial não Diluído	73
7. CONCLUSÕES	78
8. PERSPECTIVAS FUTURAS	80
9. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	81
10. APÊNDICES	100
10.1. APÊNDICE 1. Tratamento Biológico de Efluentes	100
10.2 APÊNDICE 2. Resolução CONAMA 357/2005.....	108

LISTA DE FIGURAS

	<i>Página</i>
Figura 1. Estrutura geral da Lignina	18
Figura 2. Estruturas dos precursores da lignina	19
Figura 3. Principais unidades aromáticas presentes na lignina	19
Figura 4. Estrutura do Pentagalolil glucose, um tanino hidrolisável	20
Figura 5. Estrutura básica de taninos condensados.	21
Figura 6. Principais precursores e produtos de degradação dos taninos	22
Figura 7. Esquema de reação de Peroxidação pela enzima Lignina Peroxidase.....	29
Figura 8. Hidroxilação Aromática da Lignocaina (a) e Alifática do Pentobarbitona (b).....	30
Figura 9. Desalogenação Oxidativa do Halotano	30
Figura 10. N-demetilação do diazepam.	31
Figura 11. Formação do benzopireno-4,5-epóxido	31
Figura 12. Redução estereosseletiva da α -haloacetofenona	32
Figura 13. Degradação da lignina por lacase.....	33
Figura 14. Hidrólise do ácido tânico	35
Figura 15. Vias metabólicas de degradação de taninos hidrolisáveis	36
Figura 16. Aspecto microscópico (aumento de 40X) do crescimento micelial de <i>Phanerochaete chrysosporium</i> (microscópio COLEMAN XSZ107 com sistema de vídeo 107/TC).....	40
Figura 17. Aspecto microscópico (aumento 40 X) do crescimento micelial de <i>Geotrichum candidum</i> (microscópio COLEMAN XSZ107 com sistema de vídeo 107/TC).....	43
Figura 18. Estruturas dos herbicidas descritos no Quadro 5 e utilizados neste trabalho em testes de biodegradação <i>in vitro</i>	46
Figura 19. Esquema geral do sistema de tratamento de efluentes da S.A. Usina Coruripe Açúcar e Álcool.	47
Figura 20. Fluxograma de águas utilizadas na Usina Coruripe	48
Figura 21. Aspecto geral das 5 primeiras lagoas em série (respectivamente B, A, C, E e D) da estação de tratamento de efluentes (ETE) da S.A. Usina Coruripe Açúcar e Álcool	49
Figura 22. Crescimento dos fungos (a) <i>P. chrysosporium</i> (3 dias) e (b) <i>G. candidum</i> (3 dias), respectivamente em meios BDA e EMA.....	57
Figura 23. Crescimento do isolado de <i>P. chrysosporium</i> em meio CBD aerado (em Banho- Agitador orbital, 120 rpm) ou não, e incubado a 30 ± 2 °C, no escuro.....	58
Figura 24. Crescimento de isolado de <i>G. candidum</i> em meio EM aerado (em Banho- Agitador orbital, 120 rpm) ou não, e incubado a 30 ± 2 °C, no escuro.....	59
Figura 25. Crescimento de isolado de <i>P. chrysosporium</i> (biomassa em g de massa seca) em meio líquido aerado (a) ou não (b), contendo baixa concentração de glicídeos e aminoácidos, porém 10 mg/L de um agroquímico (Paraquat, Glifosato, Decanote, Boral ou Plenum).....	60
Figura 26. Crescimento de isolado de <i>P. chrysosporium</i> (Absorvância a 620 nm) em meio líquido não aerado contendo baixa concentração de glicídeos e aminoácidos, porém 10 mg/L (a) ou 25 mg/L (b), de um agroquímico (Paraquat, Glifosato, Decanote, Boral ou Plenum).....	63

Figura 27. Crescimento de isolado de <i>G. candidum</i> em meio líquido aerado (a) ou não (b), contendo baixa concentração de glicídeos e aminoácidos, porém 10 mg/L de um agroquímico (Paraquat, Glifosato, Decanote, Boral ou Plenum).....	64
Figura 28 Crescimento de isolado de <i>G. candidum</i> (Absorvância a 620 nm) em meio líquido não aerado, contendo baixa concentração de glicídeos e aminoácidos, porém 10 mg/L (a) ou 25 mg/L (b) de um agroquímico (Paraquat, Glifosato, Decanote, Boral ou Plenum).....	65
Figura 29. Crescimento de <i>P. chrysosporium</i> em meio sólido de ácido tânico com e sem corante azul de bromofenol (a) e (b) respectivamente (3 dias após incubação a 30 ± 2 °C, escuro).....	67
Figura 30. Curva padrão de solução aquosa de ácido tânico (mg/mL), após reação com solução de Folin-Dennis (SWAIN & HILLIS, 1959).....	70
Figura 31. Variação do pH e Produção de biomassa em efluente inoculado com <i>P. chrysosporium</i> após diluição e acréscimo de fontes de nitrogênio, fósforo, potássio e enxofre (7 dias a 30 ± 2 °C, no escuro, sob agitação constante).....	74
Figura 32. Variação do pH e Produção de biomassa em efluente inoculado com <i>G. candidum</i> após diluição e acréscimo de fontes de nitrogênio, fósforo, potássio e enxofre (7 dias a 30 ± 2 °C, no escuro, sob agitação constante).....	75
Figura 33 Taxa de remoção (%) de DQO, glicídeos redutores, fenóis totais e coloração de efluente de usina sucro-alcooleira [diluído 8 X (DQO = 36 mg/L) e suplementado com NH_4NO_3 (1,5 mg/L), K_2HPO_4 (0,37 mg/L), $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ (0,37 mg/L) antes do ajuste do pH para 5,5], durante cultivo aerado com <i>P. chrysosporium</i> ao longo de 7 dias (30 ± 2 °C, escuro, sob aeração).....	76
Figura 34. Taxa de remoção (%) de DQO, glicídeos redutores, fenóis totais e coloração de efluente de usina sucro-alcooleira [diluído 8 X (DQO = 36 mg/L) e suplementado com NH_4NO_3 (1,5 mg/L), K_2HPO_4 (0,37 mg/L), $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ (0,37 mg/L) antes do ajuste do pH para 5,5], durante cultivo aerado com <i>G. candidum</i> ao longo de 7 dias (30 ± 2 °C, escuro, sob aeração).....	76

LISTA DE TABELAS

	<i>Página</i>
Tabela 1. Alguns herbicidas utilizados em plantios de cana-de-açúcar e utilizados em testes visando avaliar o potencial dos microrganismos estudados (item 5.1) na biodegradação de efluentes que contenham agroquímicos.....	45
Tabela 2. Análises físico-químicas de amostra coletada em 06/01/2005 (129 dias após início da moagem de 2004/2005), na lagoa facultativa “D” da estação de tratamento de efluentes da S.A. Usina Coruripe Açúcar e Álcool.....	68
Tabela 3. Variação dos parâmetros físico-químicos da amostra de efluentes coletada da lagoa “D” da ETE da S.A. Usina Coruripe Açúcar e Álcool, 7 dias após cultivo dos fungos <i>G. candidum</i> e <i>P. chrysosporium</i> , sob aeração (120 rpm) ou não e mantidos a 30 ± 2 °C, no escuro.....	69
Tabela 4. Concentração de taninos totais (eq. µg de ácido tânico/mL) em cultivos aerados de isolados dos fungos <i>P. chrysosporium</i> e <i>G. candidum</i> de efluentes não diluído de usina sucro-alcooleira, após 7 dias de incubação a 30 ± 1 °C, no escuro.....	70
Tabela 5. Atividade da enzima Tanase em cultivos aerados ou não de isolados dos fungos <i>G. candidum</i> e <i>P. chrysosporium</i> em efluente não diluído de indústria sucro-alcooleira, respectivamente com 3 e 7 dias de incubação a 30 ± 1 °C, no escuro.....	71
Tabela 6. Atividade da enzima Lacase em cultivos de isolados dos fungos <i>G. candidum</i> e <i>P. chrysosporium</i> em efluente não diluído de indústria sucro-alcooleira, respectivamente com 3 e 7 dias de incubação a 30 ± 1 °C, no escuro.....	72
Tabela 7. Taxa de remoção (%) de DQO, fenóis totais e glicídeos redutores de efluente diluído e inoculado com <i>P. chrysosporium</i> (análise de variância com confiabilidade ao nível de 95%).....	73
Tabela 8. Taxa de remoção (%) de DQO, fenóis totais e glicídeos redutores de efluente diluído e inoculado com <i>G. candidum</i> (análise de variância com confiabilidade ao nível de 95%).	73

LISTA DE QUADROS

	<i>Página</i>
Quadro 1. Principais impurezas da água	6
Quadro 2. Alguns microrganismos indicados para a remediação de contaminantes específicos.....	10
Quadro 3. Relações entre compostos químicos e biodegradabilidade.....	17
Quadro 4. Metabolismo de compostos aromáticos clorados por <i>Phanerochaete chrysosporium</i> e peroxidases lignolíticas.	41
Quadro 5. Análises físico-químicas efetuadas com a amostra de águas residuárias da lagoa facultativa “D” da ETE da unidade industrial da S.A. Usina Coruripe Açúcar e Alcool, coletada em 06/01/2005.....	50

LISTA DE ABREVIATURAS, FÓRMULAS E SÍMBOLOS

A – Absorvância
TCA – Ácido Tricarboxílico
As – Astatina
atm – Atmosfera
BTEX – Benzeno, Tolueno, Etilbenzeno, Xileno
PCB's – Bifenilas Policloradas
Cd - Cádmio
COOH – Carboxila
Pb – Chumbo
 $Y_{X/Y}$ – Coeficiente de Rendimento
CoA – Coenzima A
[S] – Concentração do Substrato
 K_s – Constante de Substrato
Cl – Cloro
Cr - Cromo
DBO – Demanda Bioquímica de Oxigênio
DQO – Demanda Química de Oxigênio
D.O. – Densidade Óptica
 Cr_2O_7 – Dicromato
S – Enxofre
ETE – Estação de Tratamento de Efluentes
Fe – Ferro
P – Fósforo
 CO_2 – Gás Carbônico
 H_2S – Gás Sulfídrico
 $C_6H_{12}O_6$ – Glicose
 gL^{-1} – Gramas por Litro
°C – Graus Celsius
(G) – Guaiacila
 NH_2 – grupo amino
PAH – Hidrocarbonetos Aromáticos Policíclicos
OH – Hidroxila
h – Horas
IQA – Índice de Qualidade das Águas
 NH_4^+ - Íon Amônio
 β - Letra Grega Beta

Δ - Letra Grega Delta
LiP – Lignina Peroxidase
L – Litros
MnP – Manganês Peroxidase
CH₄ – Metano
m³ – Metro Cúbico
 μ L – Microlitros
:mol – Micromol
Y – Microrganismo Produzido
mgL⁻¹ – Miligramas por Litros
mL – Mililitro
mm – Milímetros
mM – Milimolar
min – Minuto
nm – Nanômetro
N – Nitrogênio
OD – Oxigênio Dissolvido
(H) - *p*-hidroxifenila
ppb – Partes por bilhão
ppm – Partes por milhão
PCP – Pentaclorofenol
KMnO₄ – Permanganato de Potássio
pH – Potencial Hidrogeniônico
Ag – Prata
rpm – Rotações por Minuto
(S) – Siringila
X – Substrato Orgânico Consumido
 μ - Taxa de Crescimento Específico
 μ_m – Taxa de Crescimento Máximo do Microrganismo

Resumo

Efluentes com alta concentração de matéria orgânica e compostos xenobióticos, especialmente no caso dos agroquímicos, causam preocupação ambiental. No presente trabalho, dois fungos filamentosos causadores de “podridão branca” (*Geotrichum candidum* Link e Pers. e *Phanerochaete chrysosporium* Burds.) mostraram-se capazes de se adaptar a meios com elevados teores de matéria orgânica xenobiótica ou não. Em meio sólido, verificou-se que *P. chrysosporium* e *G. candidum*, apresentaram ótimo desenvolvimento em condições aeradas e não aeradas, a 30°C e escuro, em meios batata-dextrose-ágar e extrato de malte-ágar, respectivamente. Em meio líquido, o mesmo foi observado em caldo-batata-dextrose e meio extrato de malte. Os fungos também desenvolveram-se bem em cultivos líquidos deficientes em proteínas e carboidratos, e contendo altas concentrações (10 e 25 mg/L) dos agroquímicos Boral, Decanote, Glifosato, Paraquat e Plenum, todos utilizados nas lavouras de cana de açúcar da S.A Usina Coruripe Açúcar e Álcool (Coruripe –AL), classificados como persistentes, de classes toxicológicas II e III, e com diferentes solubilidades. Ambos os fungos apresentaram atividade taninolítica quando inoculados em amostras de efluente de agroindústria sucro-alcooleira não diluídas e não acrescida de nutrientes, sob aeração ou não. A atividade da lacase do fungo *G. candidum*, nesse mesmo meio, foi maior no 3º dia de cultivo sem aeração, ocorrendo uma diminuição no 5º dia. Já o fungo *P. chrysosporium*, apresentou maior atividade da lacase no 7º dia de cultivo sem aeração. Em relação à cor, turbidez, concentração de nitratos e nitritos, não houve variação desses parâmetros nas amostras inoculadas por ambos os fungos. *G. candidum* mostrou-se igualmente eficiente na redução da concentração de fosfatos, em cultivos aerados (78,18%) e não aerados (79,33%) do efluente bruto. Todavia, não reduziu a DQO do mesmo. *P. chrysosporium* mostrou-se eficiente na redução da DQO, sendo pequena a diferença entre os cultivos aerados (26,77%) com relação aos não aerados (29,55%), e não reduziu o teor de taninos totais, mas diminuiu a concentração de fosfatos sob aeração (55,55%) e não aerado (61,65%). A adição de nutrientes no cultivo dos fungos em efluente agroindustrial diluído (2X, 4X e 8X), mostrou que houve um efeito direto da concentração da DQO sobre sua porcentagem de remoção e sobre a redução de fenóis totais e glicídeos redutores. A conversão da DQO em efluente diluído (8X) foi maior no cultivo de *P. chrysosporium* (65,66%) do que no de *G. candidum* (57%). O mesmo pode ser dito quanto às melhores taxas de degradação de fenóis (59,66% e 50,33%, respectivamente). Quanto ao pH mensurado nos cultivos suplementados com nutrientes, foi sempre maior (7,56-7,8) que o inicial (5,5). Já nos cultivos utilizando a maior diluição (8X) e o suplemento de nutrientes, a máxima remoção de DQO e de fenóis totais após o tratamento ocorreu no 7º dia do cultivo para ambos os fungos. Em todos os casos de amostras diluídas e acrescidas de nutrientes, a descoloração aumentou drasticamente após o cultivo dos fungos estudados. Portanto, recomenda-se a utilização desses microrganismos na biorremediação de efluentes sucro-alcooleiros desde que haja uma correção da proporção C:N:P de cerca de 100:1,6:1.

Abstract

Effluents with high concentration of organic matter and xenobiotic compounds, especially in the case of the agrochemicals, cause environmental concern. In the present work, the adaptative ability of two filamentous fungi, which cause "white rot" (*Geotrichum candidum* Link & Pers. and *Phanerochaete chrysosporium* Burds.), to tolerate high concentration of xenobiotic substances was analyzed. In solid medium, *P. chrysosporium* and *G. candidum* presented excellent development under aerated and not aerated conditions (30°C and dark), in potato-dextrose-agar and malt extract-agar, respectively. In liquid medium, the same was observed in broth-potato-dextrose and malt extract. The fungi also developed well in liquid media deficient in proteins and carbohydrates, but with high concentrations (10 and 25 mg/L) of the agrochemicals Boral, Decanote, Glyphosate, Paraquat and Plenum - all used in fields of sugar-cane, as the ones of the "S.A Usina Coruripe Açúcar e Álcool" (Coruripe - AL). These chemicals are classified as persistent, belong to the toxicological classes II and III, and have different solubilities. The fungi presented tanninolytic activity when inoculated in samples of the crude effluent with supplement of nutrients, under aeration or not. The activity of the laccase of *G. candidum* in the same medium was higher in the 3rd day of the growth without aeration, occurring a reduction of that in the 5th day. On the other hand, the fungus *P. chrysosporium* presented a higher activity of laccase in the 7th day of the growth, also without aeration. Both fungi did not interfere in the color, turbidity, concentration of nitrates and nitrites of this medium. *G.candidum* revealed equal efficiency in the reduction of the concentration of phosphates of the crude effluent, under aeration (78.18%) and not aeration (79.33%) conditions. However, it did not reduce the COD. *P. chrysosporium* was efficient in the reduction of this COD, and the difference between the aerated growth (26.77%) and the not aerated one (29.55%) was very small. It did not reduce the total tanning bark concentration, but it diminished the concentration of phosphates under aerated (55.55%) and under not aerated (61.65%) condition. The addition of nutrients in the medium of diluted effluent (2 X, 4 X and 8 X) showed that there is a direct effect of the concentration of the COD on its percentage of removal by the inoculated fungi. There is also a direct effect on the remotion of total phenolic compounds and reduced glycidis. The conversion of COD in the diluted effluent (8X) was higher in the growth of *P. chrysosporium* (65.66%) than in the one of *G.candidum* (57%). The same it can be said regarding to the best rates of phenol degradation (59.66% and 50.33%, respectively). The pH measured in the media supplemented with nutrients was always higher (7,56-7,8) than the initial one (5,5). In the higher dilution of the effluent (8X) plus the supplement of nutrients, the maximum removal of COD and total phenols after the treatment occurred in 7th day of incubation of both fungi. In all the cases of diluted samples plus supplement of nutrients, the discoloration drastically increased after the inoculation of the fungi. Therefore, the use of these microorganisms in the bioremediation of the effluent of sugar-alcohol industry is recommended only after a correction of the ratio C: N: P to about 100:1,6:1.