

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS
INSTITUTO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS
DEPARTAMENTO DE MICROBIOLOGIA**

**DEGRADAÇÃO DE MADEIRAS POR FUNGOS:
ASPECTOS BIOTECNOLÓGICOS E DE BIORREMEDIAÇÃO**

Belo Horizonte

2006

FAGNER FERREIRA PINTO

**DEGRADAÇÃO DE MADEIRAS POR FUNGOS:
ASPECTOS BIOTECNOLÓGICOS E DE BIORREMEDIAÇÃO**

Monografia apresentada ao programa de pós-graduação em microbiologia da Universidade Federal de Minas Gerais visando à obtenção do título de Especialista em Microbiologia

Orientadora: PATRÍCIA SILVA CISALPINO

Belo Horizonte

2006

DEDICATORIA

Dedico este trabalho à minha família, em especial a minha mãe, Iraídes, por todo amor, carinho, e por ter sempre me incentivado e ajudado nos momentos difíceis, e a minha namorada, Michelle, por todo amor e por ter estado sempre ao meu lado.

AGRADECIMENTOS

Agradeço a minha orientadora Patrícia Silva Cisalpino, pela paciência, carinho e atenção em todos os momentos.

A todos os professores do curso de Especialização em Microbiologia agradeço pela amizade e incentivo.

À minha querida namorada Michelle pelo incentivo, amor, carinho, e por ter estado ao meu lado durante esta jornada.

À minha família, em especial minha mãe, Iraídes, que sempre esteve ao meu lado me incentivando sempre.

E a todos que de alguma forma contribuíram para a realização deste trabalho.

ÍNDICE

1 Fungos - Aspectos Gerais	9
1.1 Importância	10
1.2 Madeira	11
1.3 Apodrecimento da Madeira	17
2 Fungos Decompositores de Madeira.....	22
2.1 Fungos da Podridão Marrom	22
2.2 Fungos da podridão Branca.....	25
2.3 Celulose.....	25
2.4 Lignina	26
3 Biorremediação	32
3.1 Degradação de CL-20.....	34
3.2 Bioconversão em estado sólido (SSB).....	34
3.3 Imobilização de biomassas fúngicas	35
3.4 Descontaminação do solo.....	38
3.5 Tratamento de efluentes	39
3.6 Degradação de óleo diesel	42
4 Conclusão	43
5 Referências Bibliográficas	44

LISTA DE FIGURAS

FIGURA 1.1 - Estrutura molecular da lignina	14
FIGURA 1.2 - Estrutura linear de glucanas com ligações glicosídicas	15
FIGURA 1.3 - Anatomia e degradação da Madeira por fungos	16
FIGURA 1.4 - Degradação da madeira	21
FIGURA 2.1 - Modo de ação de diferentes celulasas na celulose	24
FIGURA 2.2 - Esquema da biodegradação da lignina incluindo reações enzimáticas e ativação pelo oxigênio	30
FIGURA 2.3 - Estrutura molecular de enzimas atuando sinergicamente na biodegradação da lignina	31
FIGURA 3.1 - Imobilização de <i>P.chrysosporium</i> com discos de esponja loofa.....	37
FIGURA 3.2 - Exemplo de uma estrutura química característica de um grupo cromóforo de um azocorante.....	41

LISTA DE TABELAS

TABELA1 - Características anatômicas e químicas de diferentes tipos de degradação de madeira e amostras de fungos	18
TABELA 2 - Compostos degradados por <i>P. chrysosporium</i>	33

RESUMO

Os microrganismos estão dispersos no meio ambiente ocupando os mais diferentes habitats, alguns mais hostis e outros mais amenos, se alimentando e estabelecendo simbiose com os mais diversos organismos. Durante o seu metabolismo os microrganismos produzem diversos metabólitos que desempenham papéis fundamentais em seu ciclo de vida.

Por ocuparem alguns nichos peculiares os fungos possuem a habilidade de superar certas dificuldades na obtenção de seu alimento e na manutenção da vida. Os fungos que decompõem a madeira possuem um potente arsenal enzimático capaz de degradar a lignina e também a celulose, que são compostos bastante resistentes e necessitam de enzimas poderosas para sua decomposição. Enzimas produzidas por fungos, entre os quais o *Phanerochaete chrysosporium*, um dos mais estudados, podem ser utilizadas em processos industriais diversos. As lignina peroxidases e manganês peroxidases, entre outras, podem ser úteis para a descontaminação do solo e água, descontaminação por explosivos, óleo diesel, efluentes têxteis, além de sua utilização na alimentação animal, onde estas enzimas aumentam a digestibilidade do alimento, como demonstram vários estudos.

A utilização de enzimas produzidas pelos fungos que realizam a degradação da madeira, e em particular da lignina, e a degradação de materiais muitas vezes recalcitrantes a métodos convencionais é tema de estudos dessa monografia.

1 Fungos - Aspectos Gerais

O reino Fungi inclui organismos eucarióticos, cujos núcleos são dispersos em um micélio contínuo ou septado, portadores de esporos, que se alimentam por absorção dos nutrientes, são saprófitos, parasitas facultativos ou biotróficos, aclorofilados e reproduzem sexuada e assexuadamente. São predominantemente filamentosos, mas algumas espécies são leveduriformes. De acordo com a árvore filogenética, os fungos são membros do domínio Eucaria. Como atualmente delimitado, acredita-se que o reino Fungi é um grupo monofilético.

Os fungos são principalmente organismos terrestres, entretanto poucos são de água doce ou marinhos. Muitos são patogênicos e infectam plantas e animais. Fungos estabelecem também relações benéficas com outros organismos. Atuam como decompositores, um papel de enorme importância. Degradam materiais orgânicos complexos, no ambiente, a compostos orgânicos simples e moléculas inorgânicas. A partir de sua ação carbono, nitrogênio, fósforo, e outros constituintes de organismos mortos são liberados e são utilizados por organismos vivos.

Fungos são os maiores causadores de doenças em plantas. Mais de 5000 espécies atacam colheitas economicamente valiosas e plantas de jardim, além de muitas plantas selvagens. São essenciais em muitos processos industriais que envolvem fermentação, como a produção de pães, vinho e bebidas; possuem papel importante na fabricação de queijos; na produção comercial de muitos ácidos orgânicos (cítrico); certas drogas (ergometrina, cortisona); e na fabricação de muitos antibióticos (penicilina, griseofulvina). São importantes ferramentas de pesquisa no estudo de processos biológicos.

O corpo ou estrutura vegetativa é chamado talo, que varia na complexidade e tamanho. A célula do fungo é revestida por uma parede celular de quitina e glucanas.

O esquema taxonômico tradicional usado pelos microbiologistas classifica os fungos em quatro divisões, baseadas principalmente nas variações na reprodução sexual. Atualmente, as análises de seqüências dos genes codificadores do RNA 18S possibilitaram que representantes do antigo filo Deuteromycota, cujas formas teleomórficas sexuadas são conhecidas, fossem remanejados, de acordo com seu grau de parentesco evolutivo, para cada um dos outros filios: Zygomycota, Ascomycota, Basidiomycota e Chytridiomycota (PRESCOTT, 1999).

1.1 Importância

Alguns fungos parasitas e mutualistas obtêm seus nutrientes de organismos vivos. Outros, entretanto, são saprófitos e obtêm seus nutrientes de organismos mortos. Este é o principal grupo de organismos responsáveis pela reciclagem dos componentes de plantas mortas. Essa atividade dos fungos é essencial para a continuidade da vida na Terra. O ciclo do carbono envolve a fixação do dióxido de carbono atmosférico em moléculas orgânicas pela fotossíntese. Os fungos possuem um papel importante na degradação dessas moléculas e desse modo recolocam o dióxido de carbono na atmosfera.

Sem o processo de degradação a vida na Terra poderia provavelmente ter fim em poucas décadas devido à acumulação de restos de plantas e pela falta de dióxido de carbono livre para a fotossíntese. A degradação de restos de plantas é importante para a ciclagem de outros elementos, particularmente nitrogênio, fósforo e potássio que são incorporados em compostos insolúveis da planta como a parede celular. Os microrganismos absorvem estes materiais das plantas e os liberam na forma inorgânica no solo onde podem ser utilizados pelas plantas novamente.

Os fungos são mais bem equipados que as bactérias para promover a decomposição de materiais insolúveis das plantas. As hifas são de um diâmetro apropriado (5 -20 μm) para crescer dentro das células das plantas e,

particularmente, dentro das células tubulares que são os maiores componentes da madeira. O crescimento apical do micélio que é firmemente preso ao substrato permite que a hifa possa crescer nos tecidos, gerando uma pressão física que junto com a lise enzimática local pode perfurar as paredes das células (CARLILE, 1996).

1.2 Madeira

As florestas recobrem aproximadamente 27% da área da Terra e a madeira é o produto comercial predominante nas florestas. O consumo global de madeira é cerca de 3500 milhões de m³/ano e tem crescido mais de 65% desde 1960. Mais da metade deste consumo é destinado para uso como combustíveis. O restante do consumo mundial é em grande parte destinada para a produção de polpa e produtos de papel, construção de materiais e outras atividades que utilizam a madeira.

A madeira e outros materiais lignocelulósicos são constituídos por três polímeros principais, a celulose, a lignina e a hemicelulose (HIGUCHI, 1997). A celulose é um polímero linear e altamente organizado de celobiose (D- glicopiranosil- β -1,4-D- glicopiranosose) que representa mais de 50% do peso da madeira. A lignina é uma rede tridimensional formada por unidades fenilpropanóides dimetoxilatado (siringil, S), monometoxilatado (guaiacil, G) e não-metoxilatadas (*p*-hidroxifenil, H) derivadas de álcool *p*-hidroxicinamil, que aumenta a variedade de subunidades incluindo diferentes éteres e ligações C-C (DEL RIO, 2004).

A lignina é altamente resistente à degradação química e biológica e confere resistência mecânica a madeira. Nunca ocorre sozinha, mas sempre em associação, sendo um polímero de três tipos de álcoois aromáticos; coumaril álcool e seus derivados metoxi substituídos, coniferil e sinapil álcool (CARLILE, 1996).

A alta concentração deste polímero recalcitrante é encontrada na lamela média onde atua como um cimento entre as fibras da madeira, estando presente também nas camadas da parede celular, principalmente na parede secundária, formando, juntamente com a hemicelulose, uma matriz amorfa em que as fibras da celulose são envolvidas e protegidas contra a biodegradação (FENGEL, 1984).

A composição da lignina, em termos da razão entre H:G:S, varia entre as diferentes plantas vasculares. As gimnospermas possuem uma grande quantidade de lignina, sendo que esta é constituída principalmente pela unidade G. A lignina das angiospermas consiste de unidades S e G. A composição da lignina entre os diferentes tecidos e camadas da parede celular também varia. A lignina da lamela média possui uma razão menor entre S/G que a lignina da parede secundária.

A hemicelulose possui um grau intermediário de complexidade e é composta por diferentes resíduos de pentoses e hexoses, que são frequentemente acetiladas e geralmente formam cadeias ramificadas.

Lignina (fig 1.1) e celulose (fig 1.2) juntamente com hemicelulose formam a maior parte da madeira (CARLILE,1996). Tipicamente, hemiceluloses em madeiras macias são glucomananas, enquanto que em madeiras rígidas são principalmente xilanas juntamente com quantidades variáveis de galactose, arabinose, ramnose e ácido metilglucurônico e grupos acetil. Outros componentes não estruturais da madeira incluem compostos que podem ser extraídos com solventes orgânicos polares (fenóis e taninos) ou apolares (gorduras e esteróis), compostos solúveis em água (açúcares e amido), proteínas e cinzas. Estes componentes juntos representam geralmente menos de 50% do peso seco da madeira, mas podem chegar a 20% em algumas madeiras macias como em algumas *Cupressaceae* (FENGEL, 1984).

Os constituintes acima formam os três tipos de tecidos da madeira, elementos, chamados fibras, vasos e parênquima (fig 1.3). Em gimnospermas os tecidos da

madeira têm uma estrutura relativamente mais simples que nas angiospermas, eles consistem de 90-95% de células de traqueais (fibras macias) e baixa quantidade em parênquima, que inclui os canais especializados de resina nas coníferas.

Vasos são grandes células com um arranjo longitudinal e são responsáveis pelo transporte de água e nutrientes ao longo da planta. As fibras, que são também arranjos longitudinais, representam a maior parte do volume da madeira e são caracterizadas pela espessura das paredes das células que proporcionam suporte a árvore.

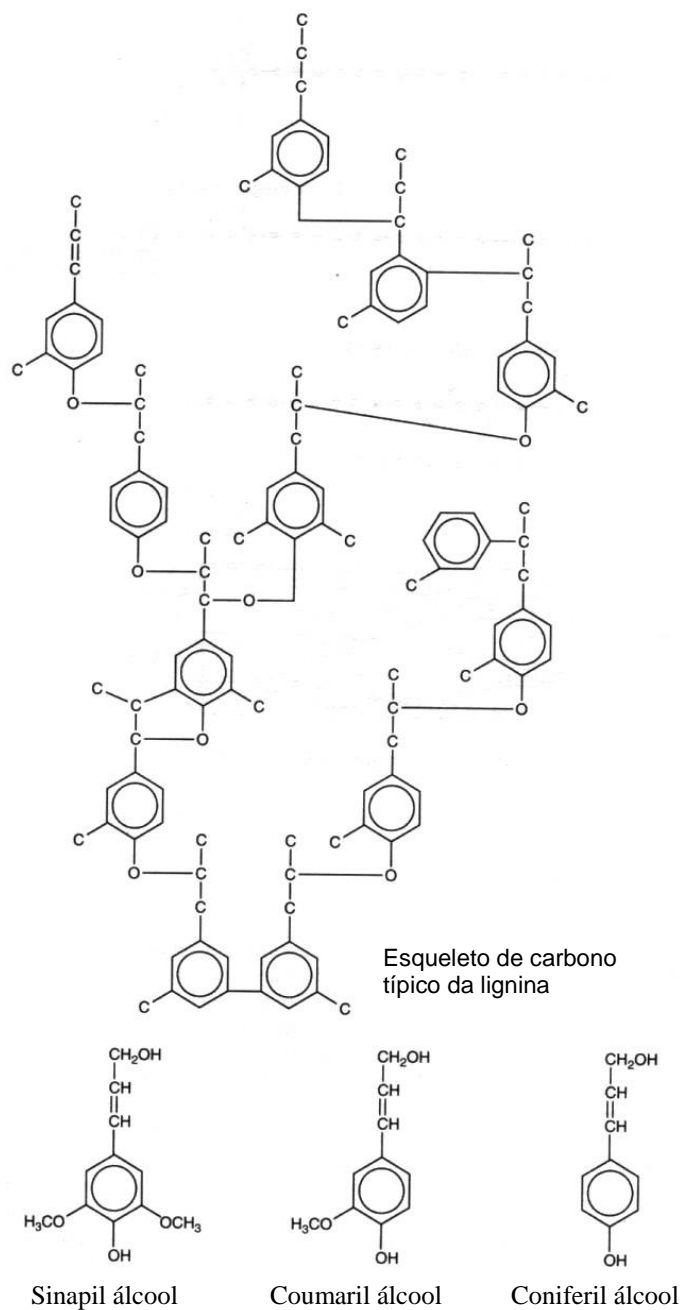


FIG 1.1 Estrutura molecular da lignina, um complexo polímero tridimensional, formado por subunidades fenilpropanóides. Coumaril, sinapil e coniferil álcool são as unidades fenilpropanóides comuns, e se juntam aleatoriamente em uma rede tridimensional assimétrica por varias ligações diferentes. Coniferil álcool é a mais freqüente subunidade em coníferas. **Fonte: Carlile, 1996.**

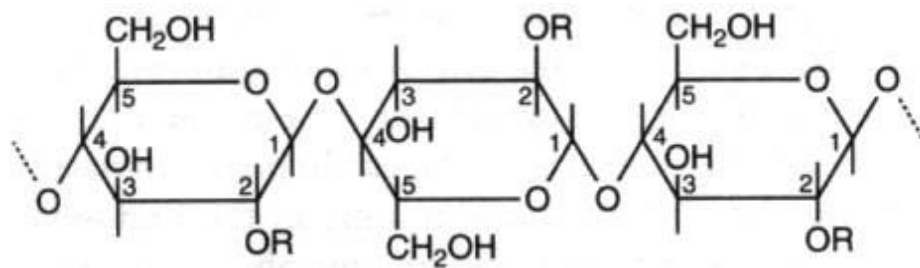


FIG 1.2 Estrutura linear de glucanas com ligações glicosídicas $\beta(1\rightarrow4)$. O símbolo R representa -H na molécula de celulose.
Fonte: Carlile, 1996.

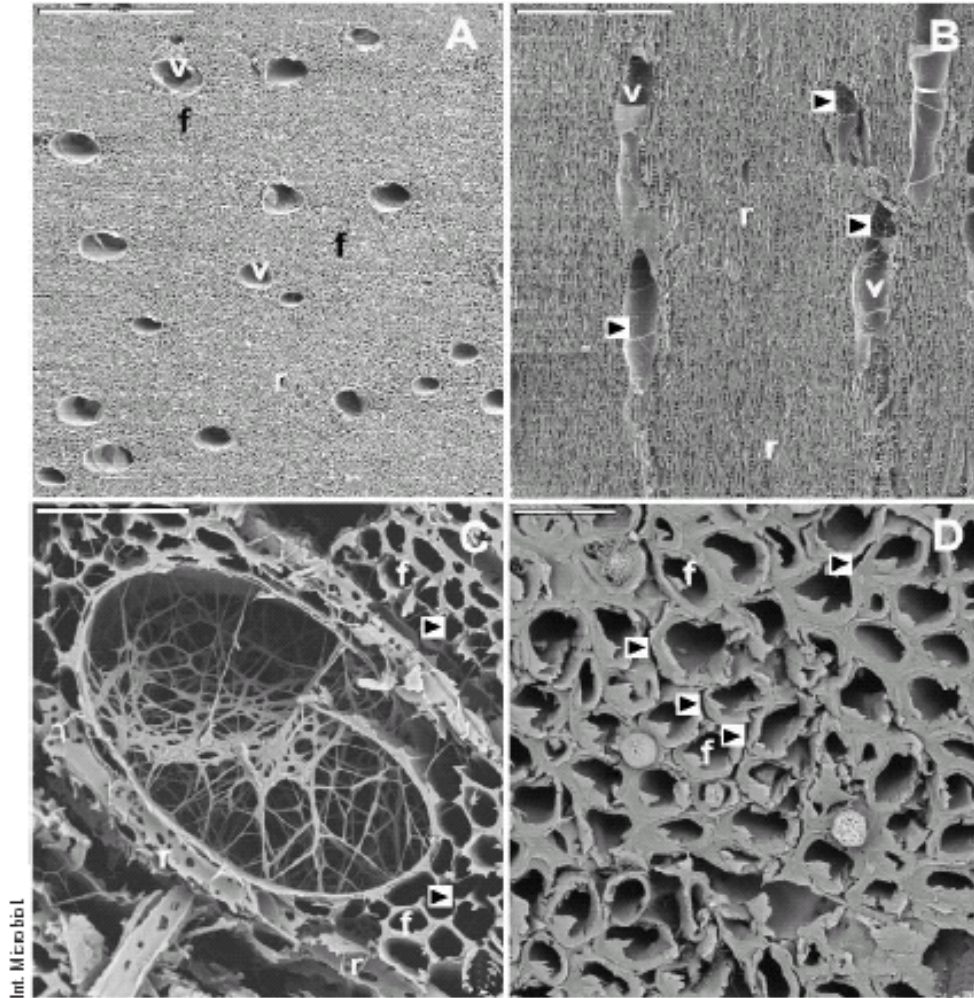


Fig. 1.3. Anatomia e degradação da madeira por fungos. Degradação *in vitro* de *Eucalyptus globulus* por *Inocutis jamaicensis* (usando “soilblock test”). Imagens obtidas usando baixa temperatura e microscopia eletrônica de varredura (**A**, **B**): Seção transversal e tangencial, respectivamente, de madeira rígida mostrando grandes vasos (v), raios parenquimáticos (r) e fibras (f) (degradação inicial da madeira com as hifas dentro dos vasos, mostrado em B). (**C**): Podridão branca simultânea caracterizada por forte degradação dos componentes da parede celular, incluindo micélio abundante (com mucilagem extracelular) dentro de um vaso. (**D**): Podridão branca, deslignificação seletiva, caracterizada pela degradação preferencial da lignina e separação das fibras devido à destruição da lamela média. Pontas de setas em B indicam hifas dentro dos vasos, como mostrado em C. Pontas de setas brancas em C e D mostram respectivamente a degradação e a separação de fibras na parede celular. Barras: 500 µm em A e B, 50 µm em C e 20 µm em D.

Fonte: Martinez, 2005

1.3 Apodrecimento da Madeira

A degradação de lignocelulose é o passo central para a reciclagem do carbono nos ecossistemas terrestres (MARTINEZ, 2005) e é altamente variável e dependente de microrganismos que promovam o apodrecimento, das espécies de plantas e do microhabitat. Além do mais a degradação da madeira por fungos resulta em perdas econômicas cifradas em bilhões. Basidiomicetos são os principais responsáveis pelo apodrecimento da madeira devido a sua habilidade de degradar ou modificar a lignina, um processo enzimático originado do período Devoniano paralelamente com a evolução das plantas vasculares (ERIKSSON, 1990; MARTINEZ, 2005).

Basidiomicetos decompositores de madeira são denominados como fungos de podridão branca e podridão marrom baseados principalmente nos aspectos macroscópicos (SCHWARZE, 2000; ZABEL, 1992) sendo o último o mais comum dos dois processos. A TABELA 1.1 resume as características do ataque à madeira por diversos tipos de fungos. Fungos de podridão branca normalmente removem os componentes da parede celular (lignina, hemicelulose e celulose) simultaneamente e em quantidades aproximadas. Poucos fungos de podridão branca possuem a habilidade de remover lignina e hemicelulose seletivamente, com menor remoção dos componentes da celulose (deslignificação seletiva). Ao mesmo tempo em que as duas variedades de processos de podridão branca parecem ser diferentes, no entanto, eles não são, pois um fungo isolado pode-se comportar-se das duas maneiras.

Os fungos de podridão branca, que crescem principalmente em madeiras moles, representam 7% dos basidiomicetos envolvidos no apodrecimento da madeira. Este grupo de basidiomicetos pode degradar os polissacarídeos da madeira apenas após a modificação de uma parte da lignina, resultado em um material marrom que consiste da lignina oxidada que representa uma fonte potencial de compostos aromáticos estáveis no solo das florestas (MARTINEZ, 2005).

TABELA 1 Características anatômicas e químicas de diferentes tipos de degradação de madeira e amostras de fungos

	Podridão Branca		Podridão Marrom	Podridão mole	Amostra do fungo
Aspectos e consistência da podridão	Aparência descolorida, úmida, mole, esponjosa, perda de resistência em processo avançado.		Marrom, seca, esfarelada, aspecto empoeirado, consistência frágil, quebra em forma de cubos, perda drástica de resistência nos estágios iniciais do apodrecimento.	Consistência mole em ambientes úmidos. Marrom e esfarelado em ambientes secos.	Descoloração de áreas entrecasca (pintas, manchas e manchas irregulares), azul (madeira macia), preta (madeira rígida), vermelha, ou outras cores. Descoloração devido à hifa, ou resposta fisiológica da árvore contra os danos.
	Podridão simultânea	Deslignificação seletiva			
Hospedeiro (tipo de árvore)	Madeira macia, raramente madeira rígida.	Madeira rígida e madeira macia	Madeira macia: raramente madeira rígida. Ecossistema de florestas e madeiras de uso em serviços	Geralmente madeiras rígidas (madeiras macias ligeiramente degradadas). Ecossistema de florestas e madeiras de alagado	Madeiras macias e rígidas, em ecossistema de florestas e durante o transporte e armazenagem da madeira.
Degradação de componentes da parede celular	Celulose, lignina e hemicelulose. Fraturas quebradiças.	Ataque inicial seletivo de hemicelulose e lignina, celulose também. Fratura nas fibras.	Celulose, hemiceluloses. Lignina pouco modificada. Em alguns casos, extensa degradação de madeira rígida (incluindo lamela média).	Celulose e hemiceluloses, lignina pouco alterada.	Compostos de madeiras extraídas e de alagados (açúcar e amido).
Características anatômicas	Parede celular atacada progressivamente a partir do lúmen. Sulco de erosão associada com a hifa.	Degradação da lignina na lamela média e parede secundária. Lamela média dissolvida por mecanismos de difusão (não em contato com a hifa) cavidades radiais na parede celular.	Degradação a grandes distâncias da hifa (mecanismos de difusão). Toda a parede celular atacada rapidamente com ruptura e rachaduras.	Ataque à parede celular próximo à hifa, início no lúmen da célula. Cavidades longitudinais cilíndricas, bicôncavas, na parede secundária (Tipo 1). Erosões na parede secundária do lúmen da célula (Tipo 2). Podridão mole facultativa. Decomposição por alguns basidiomicetos.	Colonização primária no parênquima e canais de resina.
Agentes causadores	Basidiomicetos (p. ex., <i>T. versicolor</i> , <i>Irpex lacteus</i> , <i>P. chrysosporium</i> , <i>Heterobasidium annosum</i>), e alguns Ascomicetos (p. ex., <i>Xylariahypoxylon</i>).	Basidiomicetos (p. ex., <i>Ganoderma australe</i> , <i>Phlebia tremellosa</i> , <i>C. subvermispora</i> , <i>Pleurotus</i> spp. e <i>Phellinus pini</i>).	Basidiomicetos exclusivamente (p. ex. <i>C. puteana</i> , <i>Gloeophyllum trabeum</i> , <i>Laetiporus sulphureus</i> , <i>Piptoporus betulinus</i> , <i>Postia placenta</i> e <i>Serpula lacrimans</i>).	Ascomicetos (<i>Chaetomium globosum</i> , <i>Ustilina deusta</i>) e Deuteromicetos (<i>Alternaria alternata</i> , <i>Thielavia terrestris</i> , <i>Paecilomyces</i> spp.), e algumas bactérias. Fungos de podridão branca (<i>Inonotus hispidus</i>) e marrom (<i>Rigidoporus crocatus</i>) basidiomicetos causam podridão mole facultativamente.	Ascomicetos (p. ex. <i>Ophiostoma</i> e <i>Ceratocystis</i> spp.) e Deuteromicetos (p. ex. <i>Aureobasidium pullulans</i> , <i>Phialophora</i> spp., <i>Trichoderma</i> spp.)

Fonte: Martinez, 2005

O apodrecimento causado por fungos de podridão marrom envolve extensiva despolimerização dos polissacarídeos que compõem a parede celular (celulose e hemicelulose) e mínima degradação ou modificação da lignina. Embora eles sejam capazes de degradar rapidamente os componentes celulósicos da madeira é interessante que a maior parte dos fungos de podridão marrom não são capazes de degradar a celulose pura isolada; além disso, a decomposição da celulose parece ser dependente da presença de hemicelulose.

Resíduos de podridão marrom conhecido como húmus podem permanecer no solo por cerca de 3000 anos e são essenciais para a continuação da renovação do ecossistema de coníferas. Árvores jovens de coníferas podem frequentemente ser encontradas crescendo enfileiradas, resultado da germinação seletiva das sementes e sobrevivência dos brotos em resíduos de podridão marrom de coníferas mortas. A razão para isto é que resíduos de podridão marrom aumentam a aeração e a capacidade de absorção de água pelo solo promovendo a formação de ectomicorrizas e fixação de nitrogênio por organismos não simbióticos, melhoram a temperatura, abaixam o pH, e aumentam a troca de cátions de nutrientes.

Embora apenas basidiomicetos de podridão branca e marrom possam degradar a madeira extensivamente, alguns ascomicetos e seus estágio assexuados, chamados deuteromicetos, podem colonizar a madeira em contato com o solo. Isto resulta em uma diminuição das propriedades mecânicas da madeira, aumentando a chamada podridão mole um processo que frequentemente envolve bactérias. Os fungos de podridão mole podem degradar a madeira sob extremas condições ambientais extremas como alto e baixo potencial de água, o que inibe a atividade de outros fungos.

Um limitado número de ascomicetos pode colonizar a madeira através de canais de resina parenquimáticos causando descoloração dos tecidos das madeiras

moles, mas uma degradação muito limitada, que afeta principalmente materiais solúveis em água (MARTINEZ, 2005).

A degradação da madeira por fungos requer a passagem de enzimas para fora das células e sua penetração no substrato insolúvel. O começo do processo de apodrecimento pode ser observado antes da hifa entrar em contato com a parede das células. Um contato próximo entre a superfície da hifa e a superfície do substrato é obviamente necessário para minimizar a perda por difusão das enzimas e dos produtos solúveis resultantes da ação das enzimas. Este contato próximo pode ser visto numa eletromicrografia em que a hifa apresenta-se dentro das células da madeira (fig 1.4).

O catabolismo destes substratos insolúveis extracelulares é diferente em vários passos importantes da ação de enzimas hidrolíticas em substratos solúveis homogêneos. A concentração das enzimas, reagentes e produtos varia no espaço, e deste modo a bioquímica da degradação da madeira não pode ser entendida sem considerar sua estrutura (CARLILE, 1996).

Basidiomicetos podem superar as dificuldades na degradação da madeira, incluindo a baixa quantidade de nitrogênio e a presença de compostos tóxicos e antibióticos. Enzimas oxidativas extracelulares secretadas pelos fungos estão envolvidas na degradação dos componentes da parede celular. Basidiomicetos de podridão branca, os mais freqüentes organismos que degradam a madeira, são caracterizados por sua habilidade de degradar lignina, hemicelulose e celulose. Devido à habilidade dos fungos de podridão branca de degradar a lignina seletivamente e simultaneamente com a celulose. Dois modelos de podridão branca tem sido descritos em diferentes tipos de madeira: deslignificação seletiva, também chamada decaimento seqüencial, e podridão simultânea (OTJEN, 1986; MARTINEZ, 2005).

Três classes de enzimas celulolíticas foram identificadas em alguns fungos de podridão branca: enzimas hidrolíticas, incluindo glucanases, que atuam sinergisticamente e glicosidases; uma enzima oxidativa; e uma enzima oxiredutiva. Todas estas enzimas estão presentes em *Phanerochaete chrysosporium* um eficiente fungo de podridão branca que tem sido estudado intensivamente.

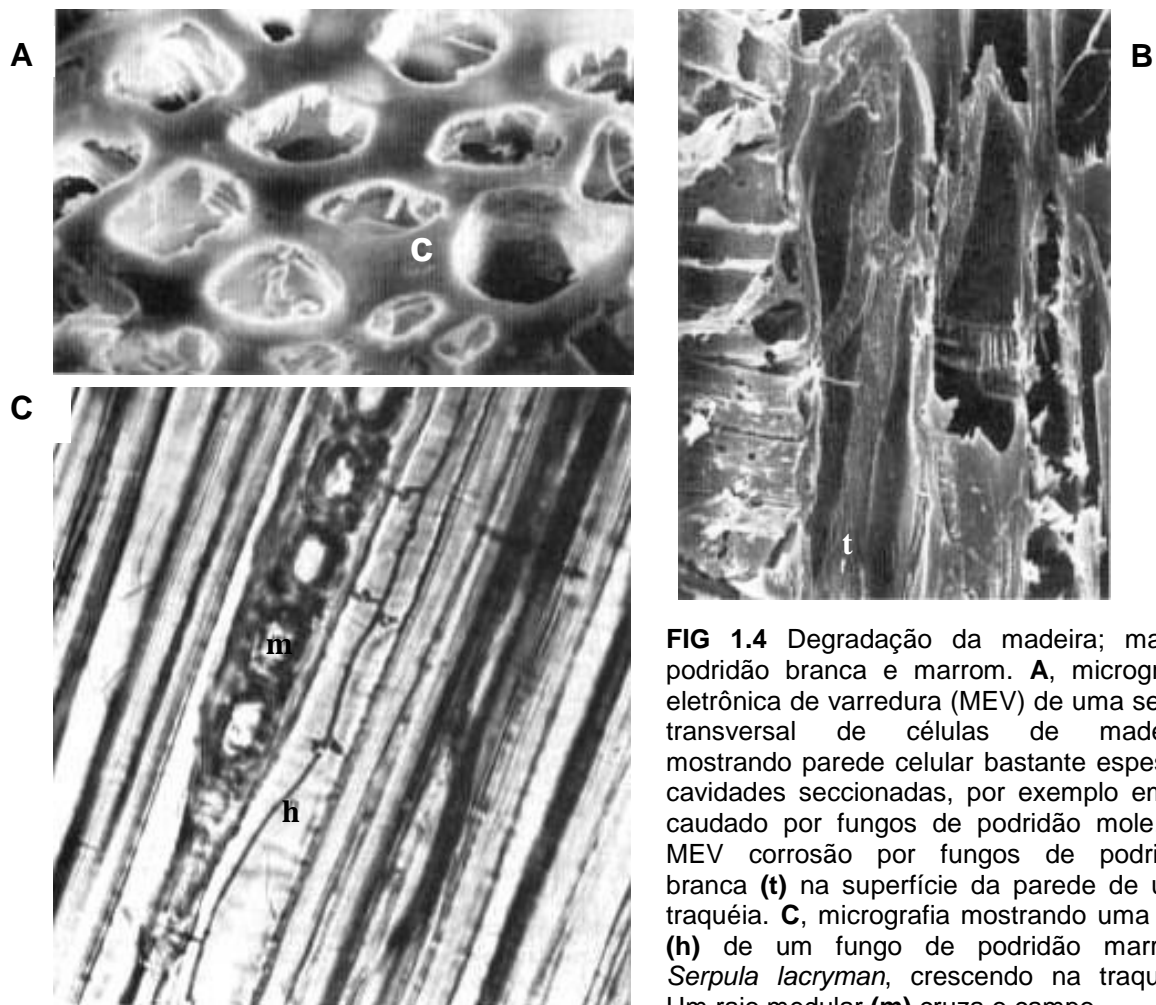


FIG 1.4 Degradação da madeira; macia, podridão branca e marrom. **A**, micrografia eletrônica de varredura (MEV) de uma seção transversal de células de madeira, mostrando parede celular bastante espessa, cavidades seccionadas, por exemplo em **c**, caudado por fungos de podridão mole. **B**, MEV corrosão por fungos de podridão branca (**t**) na superfície da parede de uma traquéia. **C**, micrografia mostrando uma hifa (**h**) de um fungo de podridão marrom, *Serpula lacryman*, crescendo na traquéia. Um raio medular (**m**) cruza o campo.

Fonte: Carlile, 1996

2 Fungos Decompositores de Madeira

Basidiomicetos e Ascomicetos são os principais causadores de podridão branca na madeira. Os fungos da podridão branca são mais numerosos que os da podridão marrom. A maioria dos fungos da podridão branca degrada tanto a lignina quanto a celulose, entretanto alguns removem a lignina seletivamente, deixando a celulose. Os fungos de podridão branca são encontrados mais comumente nos tecidos mais duros das angiospermas, enquanto os da podridão marrom ocorrem em partes mais macias das coníferas. As madeiras rígidas possuem uma quantidade menor de lignina que as madeiras macias, o monômero da lignina é predominantemente coniferil álcool (CARLILE, 1996).

2.1 Fungos da Podridão Marrom

Os fungos de podridão marrom são comuns na natureza atacando árvores mortas e vivas e, em poucos casos, sendo responsáveis pelo apodrecimento de madeira em construções. Estes fungos são predominantemente Basidiomicetos da família Coniophoraceae. O mais notório destes é o *Serpula lacrymans* que causa a podridão seca, principalmente de madeiras mais moles, em construções. Outra podridão comum na madeira é causada pelo *Gloeophyllum trabeum* que apodrece madeiras expostas à umidade e por *Poria vaillantii* na América do norte.

Os fungos não podem crescer na madeira que contenha menos de 20% e mais de 80% do seu peso em água. *Serpula lacrymans* possui a habilidade de transportar água e nutrientes a longas distâncias da fonte de umidade para o crescimento do micélio, então ele pode se difundir muito rapidamente e causar um grande dano. Vários tratamentos fungicidas podem ser usados para controlar o apodrecimento da madeira nas construções, mas apenas um longo período de tratamento pode recuperar uma madeira que foi exposta à umidade.

Muitos fungos de podridão marrom podem ocasionar a degradação da celulose

apenas quando ela está associada quimicamente à lignina e são incapazes de degradar a celulose pura não associada à lignina. A razão da necessidade da lignina estar presente para que alguns fungos de podridão marrom sejam capazes de degradar a celulose é ainda desconhecida.

O exame microscópico da madeira após o apodrecimento ocasionado por fungos da podridão marrom mostra um generalizado afinamento da parede das células sem nenhuma localização de apodrecimento em torno da hifa. A explicação aceita para isto é que as enzimas que degradam a celulose são liberadas da hifa e difundidas livremente dentro da madeira. O efeito total é que a madeira perde sua resistência e sofre um encolhimento desenvolvendo quebras transversais e longitudinais que eventualmente se juntam quebrando em farelos cúbicos e escuros. A maioria dos fungos de podridão branca, e muitos fungos de podridão marrom, liberam celulasas no meio de cultura. Essas podem ser submetidas a uma variedade de testes incluído medida do peso perdido da celulose pura, ensaios de redução de açúcar, diminuição da viscosidade da adição de carboximetil celulose ou a liberação de uma tinta, “Remazol blue”, que é uma mistura da celulose pura.

Celulasas são liberadas por um grande número diferentes de espécies de fungos. A bioquímica das celulasas é similar em basidiomicetos e ascomicetos e envolve a ação conjunta de dois tipos de enzimas – endoglucanases que podem hidrolisar aleatoriamente a ligação β (1→4) no meio da molécula liberando vários oligossacarídeos e exoglucanases semelhantes à celobiohidrolase que removem glicose ou celobiose do fim das cadeias de celulose. A razão provável desta atuação sinérgica é que endoglucanases promovem um aumento no número de finais de cadeia para que a exoglucanase possa atuar (FIG 2.1) (CARLILE, 1996).

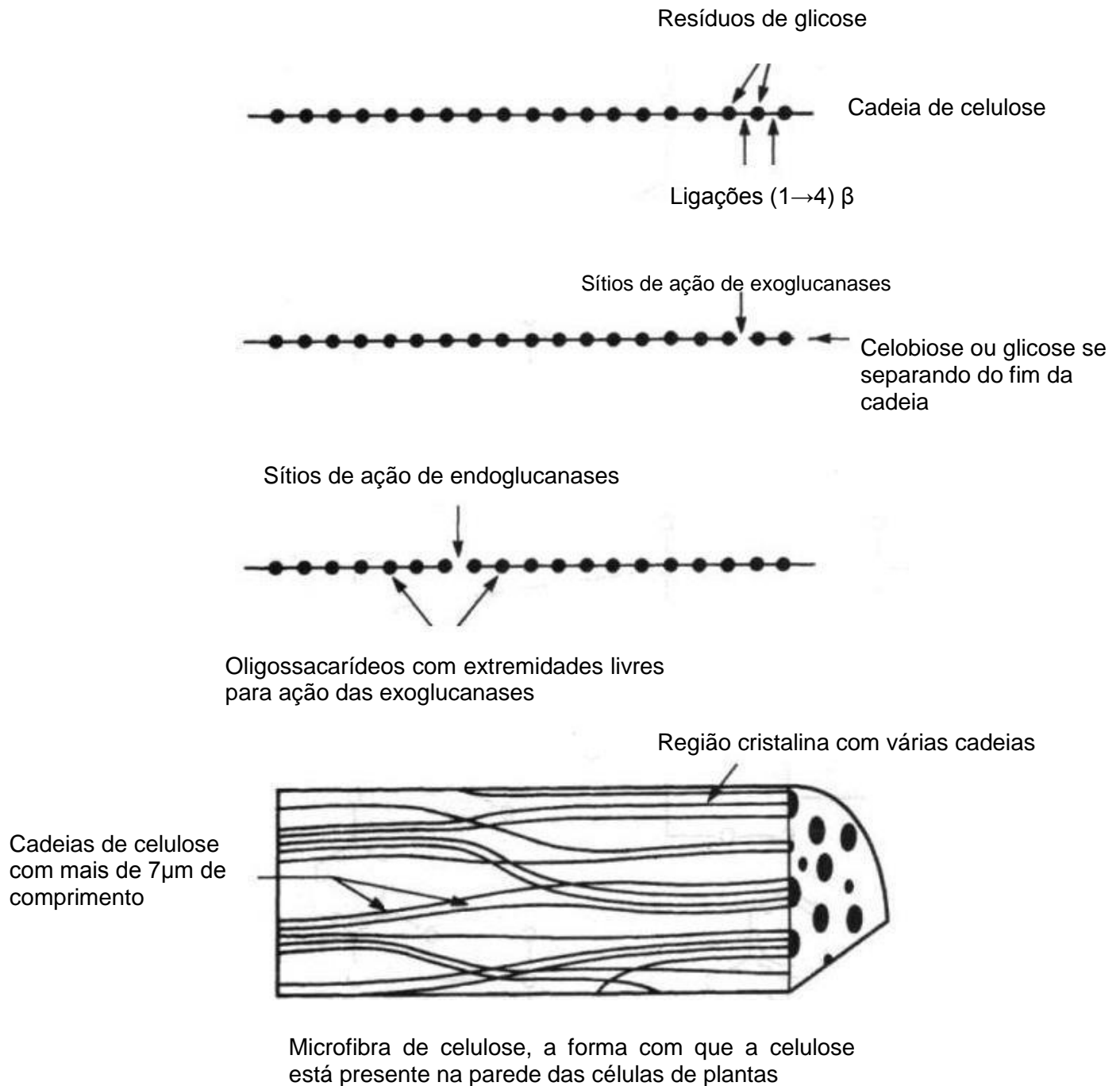


FIG 2.1 Modo de ação de diferentes celulases na celulose. Endoglucanases quebram as ligações no meio da cadeia, abrindo a microfibrila para favorecer o ataque e o aumento do número de finais de cadeia da celulose expostas, nas quais as exoglucanases podem atuar. Exoglucanases removem monômeros ou dímeros do final da molécula da celulose.

Fonte: Carlile, 1996

2.2 Fungos da podridão Branca

Basidiomicetos e ascomicetos são os principais causadores da podridão branca na madeira. A maioria degrada tanto a lignina quanto a celulose. Alguns removem a lignina seletivamente deixando a celulose. Fungos de podridão branca possuem características bioquímicas que os distinguem dos fungos de podridão marrom. Eles são capazes de decompor a celulose não associada pelas enzimas liberadas no meio. Qualquer cultura de fungos de podridão branca oxida fenóis produzindo quinonas. A função da atividade da fenol oxidase ainda não é bem compreendida. Tem-se sugerido que a quinona pode atuar como doadora de elétrons em um ataque à celulose catalisado enzimaticamente. Podridão branca é comum em madeira rígida de angiospermas. Uma vez que podridão marrom ocorre comumente em madeira macia de coníferas. A madeira macia possui mais lignina que a madeira mais rígida (25-35% comparado com 18-25%), o monômero da lignina é predominantemente coniferil álcool e o metabólito secundário presente (como os terpenóides) podem diferir nas madeiras rígidas quanto à estimulação ou inibição das invasões fúngicas (CARLILE, 1996).

2.3 Celulose

Celulose é o constituinte mais comum da parede celular das células vegetais, formando cerca de 20% a 30% do peso seco. A celulose é quase que um homopolímero puro de (1→4) β ligados a resíduos de glicosil. As cadeias resultantes são agregadas em microfibras que são semicristalinas e visíveis ultraestruturalmente. Nem todas as paredes das células possuem estas proporções de celulose. Monocotiledôneas, particularmente gramíneas, possuem tipos de células com menos de 5% p/p de celulose. A celulose promove uma estrutura da matriz de polissacarídeos que preenche os espaços entre as fibras vizinhas. Microfibrilas possuem enorme força elástica, mas não se tem sido proposto como um participante na resistência das paredes a patógenos (COLE, 1991).

A celulose nativa ou natural é uma fibra forte e resistente à hidrólise devido a grande cadeia de glicose. As microfibras de celulose são cobertas por hemiceluloses e em tecidos de madeira são envolvidos por lignina formando um material conhecido como lignocelulose.

Todas as células de plantas possuem celulose nas paredes e seu conteúdo, quando estão vivas, está repleto de nutrientes para os fungos. As paredes das células se tornam espessas pelo depósito de celulose e, em partes da planta especializada para suporte e transporte de água, frequentemente há também lignina.

Lignocelulose é uma mistura de polímeros complexos rica em carbono, mas pobre em todos os outros nutrientes essenciais para o fungo com uma razão carbono : nitrogênio que pode ser mais de 500:1. O fungo que usa a madeira como única fonte de nutrientes mostra considerável adaptação em sua morfologia e bioquímica (CARLILE, 1996).

2.4 Lignina

Ligninas são substâncias de estruturas complexas, macromoléculas tridimensionais de origem fenilpropanoídica constituídas de unidades básicas de p-hidroxifenil-propano, guaiacilpropano e siringilpropano encontradas na maioria das plantas superiores em concentração mais altas na lamela média do que nas subcamadas da parede secundária dos traqueóides, vasos, fibras, etc. Elas se enquadram entre as substâncias naturais mais abundantes da face da terra, ocupando cerca de 30% dos carbonos da biosfera (FENGEL e WEGENER, 1984) e são exclusivamente formadas dentro da parede celular. Além disso diferentes teores de lignina e diferentes formulações constitucionais baseados em unidades de p-hidroxifenilpropano, guaiacilpropano e siringilpropano foram observados em diferentes táxons de espécies arbóreas (ALBUQUERQUE, ABREU e ANDRADE,

1995).

As ligninas, cuja composição decorre da combinação dos álcoois coniferílico e p-cumarílico, apresentam estruturas moleculares de natureza mais complexa do que se as mesmas fossem constituídas da combinação dos precursores álcoois coniferílico e sinapílico.

Entre as enzimas produzidas pelos fungos e que estão envolvidas na degradação da lignina podemos citar as lacases, as lignina-peroxidases e as manganês-peroxidases. As lacases têm sido encontradas por muitos anos em plantas, fungos em insetos, onde desempenham vários papéis incluindo síntese de pigmentos, morfogênese do corpo dos frutos e detoxificação. Sua produção em culturas de fungos em placa foi considerada característica única de basidiomicetos de podridão branca, embora alguns produzam lacases em meios líquidos. Essas fenol oxidases possuem um baixo potencial redox que permite a oxidação direta de apenas unidades fenólicas de lignina o que freqüentemente compromete menos de 10% do total do polímero.

O interesse em lacases para aplicações biotecnológicas aumentou com a descoberta de sua habilidade para oxidar substratos com alto potencial redox na presença de mediadores sintéticos que permite a degradação de compostos xenobióticos e branqueadores de polpa de papel. Mediadores naturais envolvidos na biodegradação da lignina continuam sendo identificados embora alguns fenóis derivados da lignina possam atuar como eficientes mediadores de lacases.

As enzimas lignina peroxidase (LiP) e manganês peroxidase (MnP) foram descobertas em meados de 1980 em *P. chrysosporium* e descritas como verdadeiras ligninases devido ao seu alto potencial redox. LiP degrada unidades não fenólicas de lignina enquanto que MnP gera Mn^{3+} que atua como um oxidante difuso em unidades de lignina fenólica e não-fenólica via reação de peroxidação lipídica. Mais recentemente uma peroxidase versátil (VP) foi descrita em *Pleurotus*

e outros fungos como o terceiro tipo de peroxidase ligninolítica que combina as propriedades catalíticas de Lip e MnP.

Outra enzima extracelular envolvida na degradação da lignina de madeiras são as oxidases geradoras de H_2O_2 e desidrogenases associadas ao micélio que reduzem os compostos derivados de lignina. Aril álcool oxidase (AAO), descrita em *Pleurotus eryngii* e outros fungos, e glioxal oxidase de *P. chrysosporium*. Aril álcool desidrogenases (AAD) e quinona redutases (QR) estão também envolvidas na degradação da lignina (MARTINEZ, 2005).

Lacases ou peroxidases ligninolíticas (LiP, MnP e VP) (fig 2.2) produzidas por fungos de podridão branca oxidam o polímero de lignina gerando deste modo radicais aromáticos (fig 2.2 a). Isso desenvolve diferentes reações não enzimáticas incluindo a quebra de C4-éter (fig 2.2 b), clivagem de anéis aromáticos (fig 2.2 c), quebra de C α -C β (fig 2.2 d) e desmetilação (fig 2.2 e). Os aldeídos aromáticos liberados da quebra da lignina C α -C β ou sintetizados novamente pelo fungo (fig 2.2 f,g) são o substrato para gerar H_2O_2 pelo AAO na reação cíclica de redox envolvendo AAD. Radicais fenoxi derivados da quebra de C4-éter (b) podem repolimerizar no polímero de lignina (fig 2.2h) se eles não são reduzidos primeiramente pelas oxidases a compostos fenólicos (fig 2.2i), como relatado para AAO. Os compostos fenólicos formados podem ser reoxidados novamente pelas lacases ou peroxidases (fig 2.2 j). Radicais fenoxi podem também estar sujeitos à quebra C α -C β (fig 2.2 y) produzindo p-quinonas. Quinonas de g e/ou k contribuem para ativar o oxigênio na reação cíclica de redox envolvendo QR, lacases e peroxidases (fig 2.2 l, m). Isto resulta na redução do ferro presente madeira (fig 2.2 n) pelo radical cátion superóxido ou diretamente por radicais semiquinonas e sua reoxidação com concomitante redução de H_2O_2 para um radical hidroxila livre (OH) (fig 2.2 o). Esse último é um oxidante forte que pode iniciar o ataque à lignina (p) nos estágios iniciais do decaimento da madeira quando o pequeno tamanho dos poros nas paredes ainda intactas das células impede a penetração das enzimas ligninolíticas. Nos passos finais produtos

simples da degradação da lignina entram na hifa do fungo e são incorporadas nas rotas catabólicas intracelulares (MARTINEZ, 2005).

Devido a seu potencial uso como biocatalizadores industriais, os mecanismos catalíticos da degradação da lignina pelas oxiredutases (incluindo peroxidases, oxidases e lacases) tem sido extensivamente investigado e suas estruturas moleculares tem sido descritas (fig 2.3).

LiP e MnP foram a segunda e a terceira peroxidases que tiveram suas estruturas descobertas apenas 10 anos depois do descobrimento em *P. chrysosporium*. Essas peroxidases catalizam a oxidação de unidades recalcitrantes não fenólicas de lignina por H_2O_2 . Isso é possível por causa da formação de um grande potencial redox oxo-ferril intermediário durante a reação do cofator heme com H_2O_2 . O ciclo catalítico consistindo do restante da peroxidase e do composto I (dois elétrons na forma oxidada) e II (um elétron na forma oxidada) é comum para outras peroxidases. Entretanto dois aspectos em sua estrutura molecular proporcionam às peroxidases ligninolíticas suas propriedades catalíticas únicas: (i) um ambiente heme, confere alto potencial redox ao complexo oxo-ferril e (ii) a existência de sítios (e mecanismos) para a oxidação de seus substratos característicos, incluindo compostos aromáticos não fenólicos no caso da LiP, manganês no caso de MnP e ambos os tipos de compostos no caso do novo VP.

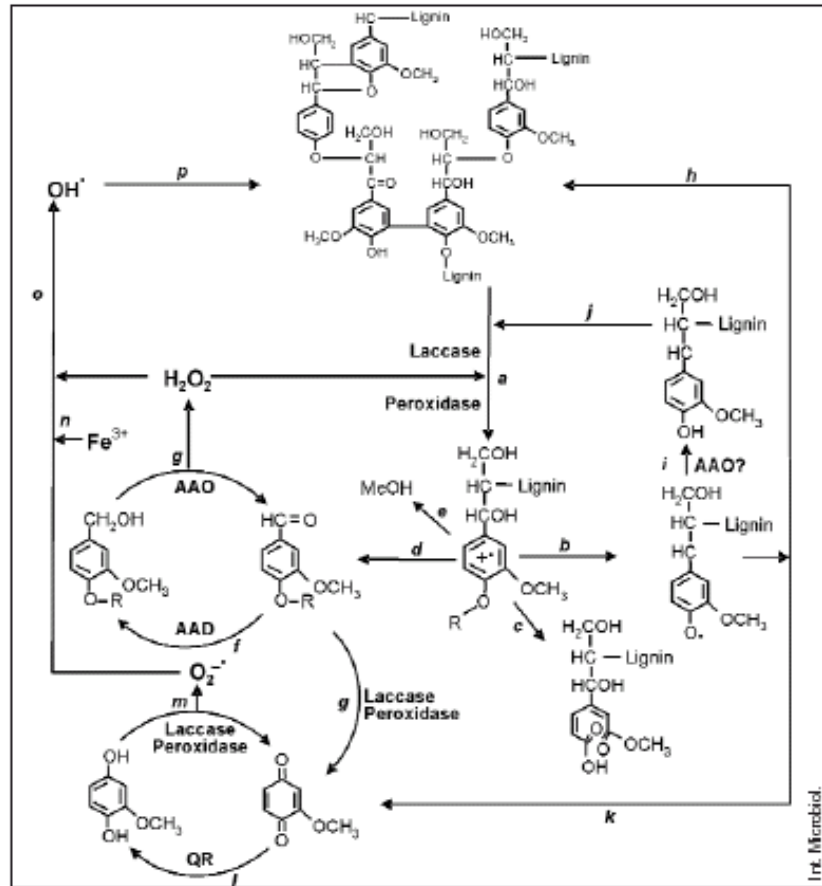


FIG 2.2 Esquema da biodegradação da lignina incluindo reações enzimáticas e ativação pelo oxigênio.

Fonte: Martinez, 2005

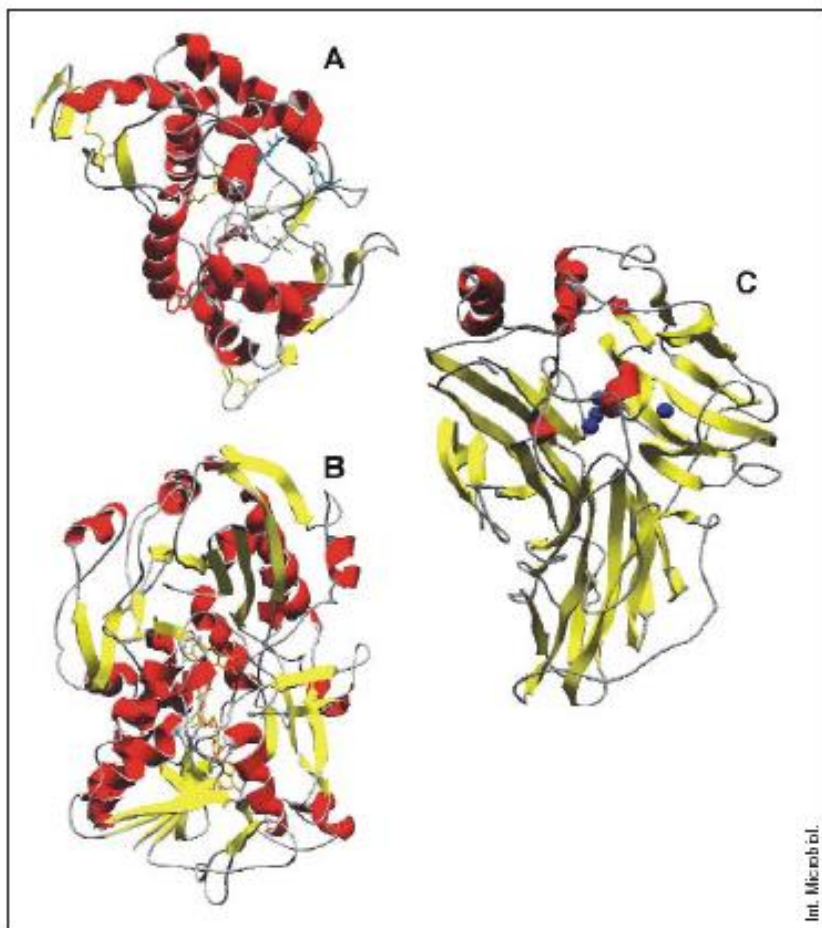


FIG 2.3. Estrutura molecular de enzimas atuando sinergicamente na biodegradação da lignina. **(A)** Estrutura cristalizada da “versatile peroxidase” a 1.13 Å de resolução incluindo o cofator heme e Mn^{2+} (direita) e substrato aromático (esquerda) sítios de oxidação. **(B)** Modelo de homologia molecular de AAO, uma flavoenzima equipada com H_2O_2 para peroxidases ligninolíticas. **(C)** Estrutura cristalizada da lacase ativa a 1.90 Å de resolução.

Fonte: Martinez, 2005

3 Biorremediação

Em 1985, Bumpus *et al* descobriram que *P. chrysosporium* é capaz de degradar um grande número de substâncias químicas em nível de dióxido de carbono. Ao mesmo tempo Earton (1985) relatou a habilidade de fungos para degradar bifenil policlorado.

Os compostos inicialmente relatados por Bumpus *et al.* (1985) incluem bifenil polibrominados, bifenil policlorado, TCDD (um composto do agente laranja), lindane, benzopirenos (encontrado em cinzas de carvão), o pesticida DDT, pentaclorofenol e uma variedade de outros compostos, inclusos na tabela 2. Esse fungo é também capaz de degradar um grande número de explosivos, mais notavelmente o TNT.

A partir deste descobrimento tem sido muito difundido o uso de *P. chrysosporium* para eliminar substâncias químicas em depósitos de lixos. Há numerosas vantagens em usar *P. chrysosporium* para biodegradação. É um organismo que ocorre naturalmente, não produzido por engenharia genética, e é altamente na específico, capaz de degradar um grande número de compostos químicos em depósitos de lixo.

A habilidade do *P. chrysosporium* de degradar um grande número de poluentes do ambiente é devida, em parte, a sua habilidade de degradar a lignina. Isto é tem correlação com achados em que a biodegradação de poluentes ocorre também durante seu metabolismo secundário tendo começo devido às limitações de nitrogênio. Dados sugerem também que a lignina e a Manganês peroxidase estejam envolvidas nesse processo (ESSER, 1995).

Tabela 2. Compostos degradados por *P. chrysosporium*

Aromáticos policíclicos	Aromáticos Clorados
Benzo[α]pireno	Ácido 4-clorobenzóico
Bifenil	Ácido diclorobenzóico
2-metilnaftaleno	Ácido 2,4,6-triclorobenzóico
Fenantreno	4,5-dicloroguaiacol
Benzo[α]antraceno	Tetracloroguaiacol
Pireno	Pentacloroguaiacol
Antraceno	3-cloroanilina
Perileno	3,4-dicloroanilina
Dibenzo[p]dioxina	Ácido 2,4,5-triclorofenoxiacético
	Pentaclorofenol
Corantes Trifenilmetano	Aromáticos policíclicos clorados
Cristal violeta	DDT
Pararosanilina	2,3,7,8-tetraclordibenzeno-p-dioxina
Verde brilhante	3,4,3',4'-tetraclorobifenil
Vermelho cresol	Aroclor 1254
Azul bromofenil	Aroclor 1242
Violeta etil	2-clorodibenzo[p]dioxina
Verde malaquita	Dicofol
Biopolímeros	
Lignina	
Celulose	
Lignina Kraft	
“Alkyhalides” clorados	
3-cloroanilina-lignina conjugados	
Lindane	
3,4-dicloroanilina-lignina conjugados	
Clordane	

Fonte: Esser, 1995

3.1 Degradação de CL-20

Estudos preliminares mostraram que CL-20 ($C_6H_6N_{12}O_{12}$, 2,4,6,8,10,12-hexanitro-2,4,6,8,10,12-hexaazaisowurtzitano), um explosivo plástico potente não apresenta toxicidade aguda para a bactéria marinha *Vibrio sheri*, algas verdes de água doce, *Selenastrum capricornutum*, plantas terrestres como centeio e alfafa e microrganismos indígenas do solo. Entretanto a nitramina policíclica apresenta significativo efeito letal e subletal em vermes terrestres *Eisenia andrei*. Em baixas doses a toxicidade de nitramina é mais importante em solo arenoso que em solo rico em matéria orgânica, um fenômeno explicado pelo favorecimento da penetração do CL-20 na fração orgânica do solo.

Os fungos *P. chrysosporium* amostra ATCC 24725 e *I. lacteus* foram testados quanto a sua capacidade de degradar o CL-20. Para tanto foram mantidos em meio YDA com limitação de nitrogênio. CL-20 foi adicionado a uma suspensão de esporos para observar a degradação do composto. CL-20 foi adicionado às culturas de *P. chrysosporium* e *I. lacteus*. Um experimento controle foi realizado de modo que CL-20 foi adicionado à uma suspensão de esporos aquecidos, nesta situação a o composto permaneceu estável durante o experimento.

A degradação do CL-20 foi observada, sendo que na suspensão com esporos aquecidos não houve degradação do composto. Os resultados observados mostram que os fungos utilizados no experimento podem ser testados para sua utilização na degradação de CL-20 no meio ambiente, podendo assim ser utilizados par fins de biorremediação (FOURNIER, 2005).

3.2 Bioconversão em estado sólido (SSB)

Um dos usos da bioconversão em estado sólido (SSB) de resíduos lignocelulósicos por fungos de podridão branca é converter estes materiais

renováveis para que a comida possa ser mais bem digerida por ruminantes. A lignina presente nestes materiais é intercalada com hemiceluloses formando uma matriz que envolve as microfibras de celulose e reduz a digestibilidade.

A remoção da lignina de compostos da alimentação de ruminantes por métodos físicos, químicos e biológicos aumenta a digestibilidade destes compostos. O tratamento biológico é preferido, pois é específico para a lignina, produz menos danos aos produtos e requer menor quantidade de energia. Para este propósito pode ser o fungo *Phanerochaete chrysosporium* para a bioconversão da palha de milho. Culturas do fungo são misturadas às palhas de milho, para a observação da bioconversão e mantidas em condições determinadas de temperatura, agitação e pH. Dentre várias condições de cultivo do fungo as condições mais favoráveis para o crescimento do *P. chrysosporium* é conseguida utilizando-se uma agitação de 130 rpm, uma temperatura de incubação de 37°C e pH 4.8 (BASU, 2001).

3.3 Imobilização de biomassas fúngicas

Biomassas fúngicas têm alta afinidade por metais tóxicos e compostos químicos orgânicos em soluções aquosas. As aplicações comerciais têm apresentado problemas, principalmente associados à manipulação física dos microrganismos. A baixa resistência mecânica e a fragmentação da biomassa pode dificultar o contato e a separação de efluente e biomassa durante o processo. As tecnologias de imobilização tem permitido contornar estes problemas. Tem sido estudados métodos de imobilização de biomassa em matrizes de polímeros. Uma matriz de imobilização ideal deve ser forte e resistente e possuir uma estrutura aberta. Uma esponja derivada de plantas, Loofa, é uma alternativa barata, fácil e disponível biologicamente, por ser produzida por plantas na maioria dos países tropicais e subtropicais.

Um método utilizado consiste em cortar discos de 25 cm de diâmetro do fruto seco da esponja *Luffa cylindrica*. O micélio do fungo é então inoculado nos discos,

embebidos em caldo de cultura, para que se obtenha a obter a imobilização do fungo. A utilização da esponja apresenta bons resultados, principalmente em sua reutilização, já que o tratamento da esponja em autoclave por 10 a 20 minutos e pH 2.0 – 12.0 por 24 dias não produzem qualquer alteração na estrutura da esponja, indicando que esta pode ser utilizada repetidas vezes em condições adversas. O fungo é capaz de cobrir totalmente o disco de esponja em cinco dias

FIG 3.1. Loofa é uma matriz efetiva para a imobilização de hifas, para produzir biomassa imobilizada. A alta capacidade de biorremoção, bom mecanismo de resistência, fácil manuseio, alta porosidade, baixo custo e viabilidade da imobilização são fatores que favorecem a aplicação prática deste sistema para a remoção de metais e compostos aromáticos de efluentes industriais (IQBAL, 2005).

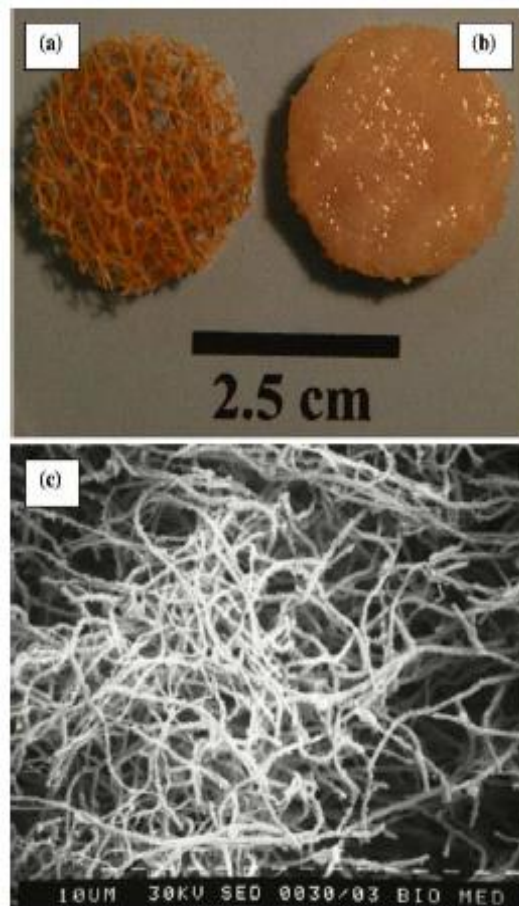


FIG 3.1 Imobilização de *Phanerochaete chrysosporium* com discos de esponja loofa: (a) discos de esponja; (b) discos de esponja cobertos com *P. chrysosporium* (c) eletromicrografia de varredura de *P. chrysosporium* imobilizado. Barra de escala em branco na micrografia = 10 μ m.

Fonte: Iqbal, 2005

3.4 Descontaminação do solo

A aplicabilidade da biorremediação depende de vários fatores como a concentração e a bioviabilidade dos contaminantes, do fornecimento de nutrientes orgânicos e inorgânicos, da competição com a microbiota indígena nos casos de bioaumentação, além da história do local. Em locais contaminados com compostos orgânicos recalcitrantes a presença de metais pesados pode inibir fortemente o metabolismo microbiano, afetando negativamente a potência de biorremediação.

O uso de fungos filamentosos, em particular fungos de podridão branca, pode apresentar várias vantagens relacionadas com seu papel na natureza. Os fungos apresentam grande habilidade de imobilizar metais tóxicos, principalmente pela formação de oxalato, eles podem tolerar a contaminação do ambiente por metais tóxicos e contribuir para sua detoxificação.

Um grande terreno químico industrial da Itália foi utilizado para estudo do solo. A porosidade e o pH foram medidos. Foram medidas, ainda, a quantidade de carbono, nitrogênio total, quantidade de areia, aluvião e argila. A quantidade de bactérias heterotróficas indígenas foi determinada. O solo apresentava contaminação por hidrocarbonetos mono e policíclicos, além de vários metais pesados. Foram utilizados *Phanerochaete chrysosporium* NRRL 6361 e *Pleurotus pulmonarius* CBS 664.97 durante o estudo mantidos em potato-dextrose agar (PDA). O fungo foi misturado ao solo contaminado e a medida do crescimento fúngico foi feita monitorando a quantidade de ergosterol. Os fungos foram capazes de colonizar rapidamente o solo utilizado e foram encontradas concentrações importantes das várias enzimas produzidas pelos fungos. Foi observada a capacidade de reduzir a concentração dos poluentes. A análise da germinação no solo contaminado mostra que há certa ecotoxicidade, reduzindo a germinação de sementes no solo tratado.

Tanto *P. chrysosporium* NRRL 6361 quanto *P. pulmonarius* CBS 664.97 foram capazes de colonizar o solo contaminado em condições não estéreis, isto mostra uma boa tolerância a altas concentrações de contaminantes tóxicos e a habilidade para competir com a microbiota indígena. Os fungos foram capazes de degradar vários compostos e de reduzir a ecotoxicidade do solo (D'ANNIBALE, 2005). Segundo TUCKER et al., (1995) o aumento da eficiência da biorremediação do solo utilizando-se o fungo *P. chrysosporium* pode ser conseguida com uma técnica de pré-acidificação do solo a ser tratado. Estudos de solos contaminados com chumbo tratados com *P. chrysosporium* apresentaram uma redução da contaminação por esse metal (HUANG, 2005). Da mesma forma foi descoberta a capacidade de fungos de degradar o naftaleno presente no solo (MOLLEA, 2005).

Dentre os contaminates do solo os pesticidas apresentam uma principal importância, principalmente devido a seu uso na agricultura, estudos recentes mostraram que *Phanerochaete chrysosporium* e *Trametes versicolor* possuem a capacidade de degradar diferentes grupos de pesticidas (FRAGOEIRO, 2005).

Estudos utilizaram da degradação da madeira no solo para que fossem desenvolvidas técnicas moleculares como a RT-PCR, para a detecção de genes que codificam para enzimas peroxidases ligninolíticas a partir de isolamento dos ácidos nucléicos em frações do solo (STUARDO, 2003).

3.5 Tratamento de efluentes

Sem dúvida a contaminação de águas naturais tem sido um dos grandes problemas da sociedade moderna. Dentro deste contexto o setor têxtil apresenta um especial destaque devido a seu grande parque industrial instalado gerar grandes volumes de efluentes os quais, quando não corretamente tratados, podem causar sérios problemas de contaminação ambiental. A poluição de corpos d'água com estes compostos provocam, além da poluição visual, alterações em ciclos biológicos afetando principalmente processos de fotossíntese. Além desse

fato estudos têm mostrado que algumas classes de corantes, principalmente azocorantes e seus subprodutos, podem ser carcinogênicos e/ou mutagênicos.

A molécula do corante utilizada para tingimento da fibra têxtil pode ser dividida em duas partes principais, o grupo cromóforo e a estrutura responsável pela fixação à fibra. Existem vários grupos cromóforos utilizados atualmente na síntese de corantes, no entanto o grupo mais representativo e largamente empregado pertence a família dos azocorantes (fig 3.2) que se caracterizam por apresentarem um ou mais grupamentos $-N=N$ ligados a sistemas aromáticos. Devido a estas implicações ambientais novas tecnologias têm sido buscadas para a degradação ou imobilização destes compostos em efluentes têxteis.

O fungo *Phanerochaete chrysosporium* possui a capacidade de mineralizar, além da lignina, pelo menos parcialmente e em alguns casos completamente, uma variedade de poluentes resistentes a degradação, especialmente para efluentes têxteis como alguns azocorantes e o corante poli-R-478. Por este motivo tem sido muito estudado para utilização no tratamento de efluentes têxteis (KUNZ, 2002).

Estudos complementares revelaram que outros fungos, como o *Pestalotiopsis guepinii* também possuem a capacidade degradar uma série de corantes sintéticos (NAZARENO, 2006). O fungo de podridão branca *Funalia trogii* também é capaz de degradar corantes como o “Drimarene Blue X3LR” e “Remazol Brilliant Blue” (OZSOY, 2005). Outros fungos da do gênero *Phlebia* apresentaram bons resultados quanto avaliada sua capacidade de degradação de tinturas industriais apresentando resultados melhores quando comparado com *Phanerochaete chrysosporium* (ARORA, 2005). Biomassa de fungos mortos foi utilizada para a remoção de tintura de tecidos e obteve um resultado bastante satisfatório, em um curto espaço de tempo (ASMA, 2006).

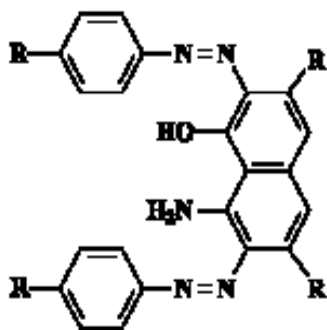


Figura 3.2 Exemplo de uma estrutura química característica de um grupo cromóforo de um azocorante.

Fonte KUNZ, 2002

3.6 Degradação de óleo diesel

Diversos fungos produzem enzimas capazes de degradar uma grande quantidade de compostos podendo ser usadas por diversas vezes para degradar compostos poluentes. *P. chrysosporium* é um fungo bastante estudado para este propósito e se mostrou eficaz na degradação de hidrocarbonetos alifáticos incluindo diesel, em pH neutro, além de alcanos em meio rico em nitrogênio (KANALY, 2005).

4 Conclusão

Os microrganismos consistem numa rica fonte de pesquisa de novos compostos que podem ser usados em atividades biotecnológicas e industriais, ou na biodegradação de compostos tóxicos contaminantes do ambiente.

Diversos estudos de descontaminação do solo e água estão sendo propostos a cada dia visando o desenvolvimento de novos métodos cada vez mais eficazes para o uso em tratamento de áreas poluídas como as que são geradas pela atividade industrial. Considerando que a poluição ambiental vem crescendo a cada dia e os compostos contaminantes são dificilmente degradados pelos métodos convencionais, ou mesmo recalcitrantes a estes tratamentos, fica clara a importância e justificam-se estes tipo de experimentos.

O empenho de pesquisadores em descobrir métodos mais eficazes para o uso na descontaminação do meio ambiente é de extrema importância, principalmente quando são utilizados microrganismos não geneticamente manipulados, que ocorrem naturalmente em processos naturais, como na biodeterioração da madeira.

5 Referências Bibliográficas

ALBUQUERQUE, C. E. C.; ABREU, dos S., ANDRADE, A. M. **Heterogeneidade, ocorrência e distribuição geobotânica das ligninas no globo terrestre**. Revista da Universidade Rural, Série Ciências Exatas e da Terra, Rio de Janeiro, v.17, n.1/2, p.1-3, 1995;

ARORA, D.S.; CHANDER, M. **Decolourisation of diverse industrial dyes by some *Phlebia* spp. and their comparison with *Phanerochaete chrysosporium*** J. Basic Microbiol. 44(5):331-8, 2004;

ASMA, D.; KAHRAMAN, S., DR.; CING, S., YESILADA, O. **Adsorptive removal of textile dyes from aqueous solutions by dead fungal biomass** J. Basic Microbiol. 46(1):3-9, 2006

BASU, S; GAUR, R.; GOMES J.; SREEKRISHNAN, T. R.; BISARIA, V. S. **Effect of Seed Culture on Solid-State Bioconversion of Wheat Straw by *Phanerochaete chrysosporium* for Animal Feed Production** Journal of bioscience and bioengineering Vol. 93, No. 1,25-30.2002;

CARLILE, M. J., WATKINSON, S. C. **The Fungi** academic press, 3ª edição, p.87, 251-252, 264-266, 269-274, 1996;

COLE, G. T.; HOCH, H. C. **The fungal spore and disease initiation in plants and animals**, Plenum Press, New York e Lodon, p. 49, 1991;

D'ANNIBALE, A.; RICCI, M.; LEONARDI V.; QUARATINO D.; MINCIONE E.; PETRUCCIOLI' M. **Degradation of aromatic hydrocarbons by white-rot fungi in a historically contaminated soil** Biotechnology and Bioengineering Vol. 90, nº 6 , p. 723 – 731, 2005;

DEL RÍO JC, GUTIÉRREZ A, MARTÍNEZ AT. **Identifying acetylated lignin units in non-wood fibers using pyrolysis-gas chromatography/ mass spectrometry**. Rapid Commun Mass Spectrom 18:1181-1185, 2004;

ERIKSSON K-EL, BLANCHETTE RA, ANDER P. **Microbial and enzymatic degradation of wood components**. Springer-Verlag, Berlin, 1990;

Esser, K.; Lemke, P. A. **The mycota: Genetics and Biotechnology II** Springer-Verlag, Berlin, 1995;

FENGEL D.; WEGENER G. **Wood: Chemistry, ultrastructure, reactions**. De Gruyter, Berlin, 1984;

FENGEL, D.; WEGENER, G. **Wood, chemistry ultrastructure, reactions**. New York: Walter e Gruyter, 1984. p.167-181;

FRAGOEIRO, S.; MAGAN, N. **Enzymatic activity, osmotic stress and degradation of pesticide mixtures in soil extract liquid broth inoculated with *Phanerochaete chrysosporium* and *Trametes versicolor*** Environ. Microbiol. 7(3):348-55, 2005;

FOURNIER, D.; MONTEIL-RIVERA, F.; HALASZ, A.; BHATT, M.; HAWARI, J. **Degradation of CL-20 by white-rot fungi**. Chemosphere, 01-07. 2005;

HIGUCHI, T. **Biochemistry and molecular biology of wood**. Springer Verlag, London, 1997;

HUANG, D.L.; ZENG, G.M., JIANG, X.Y.FENG, C. L., YU, H. Y., HYANG, G.H., LIU, H. L. **Bioremediation of Pb-contaminated soil by incubating with *Phanerochaete chrysosporium* and straw** [Epub ahead of print] Dec 9, 2005;

Iqbal, M.; Saeed, A.; Edyvean, R.G.J.; O'Sullivan, B.; Styring, P. **Production of fungal biomass immobilized loofa sponge (FBILS)-discs for the removal of heavy metal ions and chlorinated compounds from aqueous solution** Biotechnology Letters 27: 1319–1323, 2005;

KANALY, R. A.; HUR, H.-G. **Growth of *Phanerochaete chrysosporium* on diesel fuel hydrocarbons at neutral pH** Chemosphere, Article in press, 2005;

KUNZ, A.; PERALTA-ZAMORA, P.; MORAES, S. G.; DURÁN N. **Novas tendências no tratamento de efluentes têxteis** Quim. Nova, Vol. 25, nº 1, 78-82, 2002;

MOLLEA, C.; BOSCO, F.; RUGGERI, B. **Fungal biodegradation of naphthalene: microcosms studies** Chemosphere. 60(5):636-43. 2005;

NAZARENO, S. M. C.; HAMMER, E. **Decolorization of synthetic dyes by the deuteromycete *Pestalotiopsis guepinii* CLPS no. 786 strain** 46(1):28-33, 2006;

OTJEN L, BLANCHETTE RA. **A discussion of microstructural changes in wood during decomposition by white rot basidiomycetes**. Can J Bot 64:905-911, 1986;

OZSOY, H.D.; UNYAYAR, A.; MAZMANCI, M.A. **Decolourisation of reactive textile dyes Drimarene Blue X3LR and Remazol Brilliant Blue R by *Funalia trogii* ATCC 200800** Biodegradation.16(3):195-204, 2005;

PRESCOTT, L. M.; HARLEY, J. P. KLEIN, D. **A. Microbiology** Ed. WCB McGraw-Hill, 4^o edição, p. 523-525, 1999;

SCHWARZE FWMR, ENGELS J, MATTHECK C. **Fungal strategies of decay in trees**. Springer, Berlin, 2000;

STURADO, M.; VÁSQUEZ, M.; VICUÑA, R.; GONZÁLEZ, B. **Molecular approach for analysis of model fungal genes encoding ligninolytic peroxidases in wood-decaying soil systems** Lettersin Applied Microbiology, vol, 38, p. 43-49;

TUCKER, B.; McLEAN, J. E.; BRAR, J.S.; ANDERSON, A. J. **Soil composition and suppression of pyrene mineralization by *Phanerochaete chrysosporium*** Proceedings of the 10th annual conference on hazardous waste research, 1995;

ZABEL R, MORRELL J. **Wood microbiology: Decay and its prevention**. Academic Press, London, 1992.