

UNIVERSIDADE TECNOLÓGICA FEDERAL DO PARANÁ

MARIA EDUARDA ARANEGA PESENTI

**EMPREGO DA MICORREMEDIAÇÃO PARA A REDUÇÃO DA TOXICIDADE DE
LIXIVIADO PROVENIENTE DE ATERRO SANITÁRIO**

LONDRINA

2023

MARIA EDUARDA ARANEGA PESENTI

**EMPREGO DA MICORREMEDIAÇÃO PARA A REDUÇÃO DA TOXICIDADE DE
LIXIVIADO PROVENIENTE DE ATERRO SANITÁRIO**

**Employment of micorremediation for the reduction of toxicity of landfills
leachate**

Trabalho de conclusão de curso de graduação apresentada como requisito para obtenção do título de Bacharel em Engenharia Ambiental e Sanitária da Universidade Tecnológica Federal do Paraná (UTFPR).

Orientador(a): Kátia Valéria Marques Cardoso Prates

LONDRINA

2023



Esta licença permite remixe, adaptação e criação a partir do trabalho, para fins não comerciais, desde que sejam atribuídos créditos ao(s) autor(es) e que licenciem as novas criações sob termos idênticos. Conteúdos elaborados por terceiros, citados e referenciados nesta obra não são cobertos pela licença.

MARIA EDUARDA ARANEGA PESENTI

**EMPREGO DA MICORREMEDIAÇÃO PARA A REDUÇÃO DA TOXICIDADE DE
LIXIVIADO PROVENIENTE DE ATERRO SANITÁRIO**

Trabalho de Conclusão de Curso de Graduação
apresentado como requisito para obtenção do título
de Bacharel em Engenharia Ambiental e Sanitária da
Universidade Tecnológica Federal do Paraná
(UTFPR).

Data de aprovação: 29 / Junho / 2023

Prof. Dr. Marcelo Hidemassa Anami
Doutorado
Universidade Tecnológica Federal do Paraná

Profa. Dra Tatiane Cristina Dal Bosco
Doutorado
Universidade Tecnológica Federal do Paraná

Profa. Dra. Kátia Valéria Marques Cardoso Prates
Doutorado
Universidade Tecnológica Federal do Paraná

LONDRINA

2023

AGRADECIMENTOS

Meus agradecimentos vão prioritariamente para a minha família, por todo o apoio incondicional, e toda a ajuda prestada para que esta jornada fosse a mais leve possível. Em especial gostaria de agradecer meu irmão Luiz Fernando Pesenti Jr que foi quem me apresentou ao reino Fungi e compartilhou comigo todo seu conhecimento e conselhos.

Agradeço aos meus colegas de IC, em especial a Stephanie Urata e ao Vitor Campos e ao técnico de laboratório Thiago Marques, que sempre estiveram dispostos a me ajudar.

A CTR - Maravilha, pela disposição e por fornecer as amostras de lixiviado e solo, fundamentais para o desenvolvimento do trabalho.

Agradeço a minha banca, professor Dr. Marcelo Anami e professora Dra. Tatiane Dal Bosco por todas as dicas e sugestões que me ajudaram a obter o melhor trabalho possível.

E por fim, mas não menos importante agradeço a minha orientadora Profa Dra. Kátia Valéria Marques Cardoso Prates por todas as reuniões, mensagens trocadas, resolução de problemas, conversas, paciência, atenção, sabedoria compartilhada e excelente orientação que me guiaram nessa trajetória.

Se alguém disser a você sobre o que se trata uma história, ele provavelmente estará certo. Mas se disser que a história se trata apenas disso, estará definitivamente errado.
(GAIMAM, 2013).

RESUMO

PESENTI, Maria Eduarda Aranega. **Emprego da micorremediação para a redução da toxicidade de lixiviado proveniente de aterro sanitário**. 2023. 80 p. Trabalho de conclusão de curso (Bacharelado em Engenharia Ambiental e Sanitária). – Curso de Engenharia Ambiental e Sanitária – Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Londrina, 2023.

Um dos grandes desafios na gestão de resíduos sólidos é o tratamento do lixiviado gerado na degradação dos resíduos. Por apresentar uma composição complexa, muitas vezes, os tratamentos físico-químicos e biológicos que são empregados na atualidade para o tratamento desse efluente nem sempre atingem a eficiência necessária para a remoção da toxicidade. Uma nova tecnologia que vem sendo estudada para o tratamento de compostos tóxicos é a micorremediação, técnica que utiliza fungos para degradar os compostos resultando na remoção parcial ou total dos poluentes. Testes de toxicidade com *Allium cepa* vem sendo utilizados para verificar os níveis de toxicidade de efluentes. Neste contexto, este trabalho teve por objetivo empregar o processo de micorremediação em lixiviado proveniente de aterro sanitário para minimizar os efeitos tóxicos do efluente, utilizando os testes de toxicidade com *Allium cepa* para avaliar a eficiência do tratamento. Neste estudo foram selecionados 3 fungos autóctones provenientes de amostras de solo e de lixiviado de aterro sanitário para realização da micorremediação (L.B.1 - 1, L.B.2 - 1, S.1.1 - 5), semelhantes a *Candida* spp., *Trichophyton* spp. e *Mucor* spp., respectivamente. Foram montadas unidades experimentais com diferentes concentrações de lixiviado (0, 10, 25, 50 e 100%) que foram inoculados com os fungos selecionados e incubados por 7 dias. O fungo L.B.2 - 1 passou por dois períodos de incubação, sendo 7 (L.B.2 - 1) e 9 dias (L.B.2 - 1.D), respectivamente. Após a incubação foi realizada a separação da massa celular e do extrato líquido das unidades experimentais. Os testes de toxicidade (bioensaios) foram realizados com os extratos filtrados das unidades experimentais, utilizando 2 mL para inocular as sementes em placas de Petri. Após o tempo de incubação realizou-se as análises macroscópicas (contagem de germinações e medição do crescimento radicular), com a finalidade de realizar os cálculos dos índices de análise macroscópica. A partir da análise dos resultados, constatou-se que ambas as amostras possuem boa diversidade de fungos. Após o processo de micorremediação os fungos L.B.1 - 1 e L.B.2 - 1.D apresentaram massa celular em todas as concentrações de lixiviado, indicando maior adaptação do organismo, já para as unidades experimentais L.B.2 - 1 e S.1.1 - 5 houve a ausência de colônias na concentração 100% de lixiviado. Em todas as unidades experimentais a adição crescente de lixiviado influenciou no crescimento fúngico. O fungo L.B.1 - 1 apresentou os melhores resultados de redução da toxicidade nas concentrações 10 e 25%. E o fungo L.B.2 - 1.D apresentou redução de toxicidade em todas as unidades experimentais. Os resultados apontam que os fungos L.B.1 - 1 e L.B.2 - 1.D podem ser promissores para a redução da toxicidade de lixiviado de aterro sanitário.

Palavras-chave: Biorremediação; Testes de Toxicidade; *Allium cepa*; Crescimento Fúngico.

ABSTRACT

PESENTI, Maria Eduarda Aranega. **Employment of micorremediation for the reduction of toxicity of landfills leachate**. 2023. 80 p. Term paper (Bachelor of Environmental and Sanitary Engineering). – Course of Environmental Engineering and Sanitary - Federal Technological University of Parana (UTFPR), Londrina, 2023.

One of the major difficulties in solid waste management is the treatment of leachate generated in waste degradation. Due to its complex composition, the physical-chemical and biological treatments that are currently used to treat this effluent are not as efficient in removing toxicity. A new technology that has been studied for the treatment of toxic compounds is mycoremediation, a technique that uses fungi to degrade the compounds resulting in the partial or total removal of pollutants. Toxicity tests with *Allium cepa* have been used to verify the toxicity levels of effluents. In this context, this work aimed to employ the mycoremediation process in leachate from landfills to minimize the toxic effects of the effluent. In this study, 3 autochthonous fungi from soil and landfill leachate samples were selected for mycoremediation (L.B.1 - 1, L.B.2 - 1, S.1.1 - 5), similar to *Candida* spp., *Trichophyton* spp. and *Mucor* spp., respectively. Experimental units were set up with different concentrations of leachate (0, 10, 25, 50 and 100%) that were inoculated with the selected fungi and incubated for 7 days. The fungus L.B.2 - 1 underwent two incubation periods, 7 (L.B.2 - 1) and 9 days (L.B.2 - 1.D), respectively. After the incubation, the cell mass and the liquid extract of the experimental units were separated. Toxicity tests (bioassays) were performed with the filtered extracts from the experimental units, using 2 mL to inoculate the seeds in Petri dishes. After the incubation time, macroscopic analyzes were carried out (count of germinations and measurement of root growth), with the purpose of performing the calculations of the macroscopic analysis indices. From the analysis of the results, it was found that both samples have good diversity of fungi. After the mycoremediation process, fungi L.B.1 - 1 and L.B.2 - 1.D showed cell mass in all leachate concentrations, indicating greater adaptation of the organism, while for experimental units L.B.2 - 1 and S.1.1 - 5 there was the absence of colonies at 100% leachate concentration. In all experimental units, the increasing addition of leachate influenced fungal growth. The fungus L.B.1 - 1 showed the best levels of toxicity at 10 and 25% concentrations. And the fungus L.B.2 - 1.D showed reduced toxicity in the experimental units. The results indicate that the fungi L.B.1 - 1 and L.B.2 - 1.D can be promising for reducing the toxicity of landfill leachate.

Keywords: Bioremediation; Toxicity Tests; *Allium cepa*; Fungal Growth.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Quantidade de resíduos sólidos gerados entre 2000 e 2022	16
Figura 2 - Geração per capita de resíduos sólidos comparado com o número de habitantes do Brasil entre 2000 e 2020.....	17
Figura 3 - Características fúngicas microscópicas	27
Figura 4 - Mecanismos adotados por fungos na micorremediação.....	28
Figura 5 - Morfologia geral da semente	32
Figura 6 - Metodologia empregada pra avaliar a redução da toxicidade de lixiviado utilizando fungos como organismos biorremediadores.....	33
Figura 7 - Estruturas da CTR Maravilha. (a) Vista superior das lagoas de tratamento primário do lixiviado, onde, ao fundo se observa os galpões de compostagem; (b) Célula ativa; (c) Estação de queima de gás de uma célula finalizada	35
Figura 8 - Pontos de coleta na CTR – Maravilha. (a) Lagoa 1 – ponto de coleta do lixiviado; (b) Coleta de lixiviado; (c) Ponto de coleta de solo, perto da célula em funcionamento; (d) Coleta de solo.....	36
Figura 9 - Procedimento realizado para obtenção de colônias fúngicas	37
Figura 10 - Representação da placa de Petri no anverso e no reverso.....	39
Figura 11 - Placa de Petri com crescimento de fungo filamentosos no anverso e no reverso	39
Figura 12 - Procedimento realizado para identificação dos fungos isolados.....	39
Figura 13 - Esquema representativo do código utilizado para identificar as amostras fúngicas	40
Figura 14 - Procedimento realizado para a preparação do inóculo para a micorremediação	41
Figura 15 - Procedimento realizado para a montagem das unidades experimentais (UE) para o processo de micorremediação	42
Figura 16 - Procedimento realizado para a montagem do ensaio de toxicidade.....	43
Figura 17 - Placas com crescimento fúngico das amostras coletadas com suas respectivas diluições. (a) Amostra de lixiviado bruto; (b) Amostra de lixiviado, diluição 10^{-1} ; (c) Amostra de solo, diluição 10^{-1} ; (d) Amostra de solo, diluição 10^{-2}	45
Figura 18 - Fungos selecionados para a micorremediação. (a) Fungo L. B. 1 - 1; (b) Fungo .48	
Figura 19 - Comparativo da massa celular final do fungo L.B.2 - 1.D antes e depois o processo de micorremediação	55
Figura 20 - Placas provenientes das unidades experimentais 100% dos fungos L.B.1 – 1, S.1.1 - 5 e do L.B.....	56
Figura 21 - Comparativo da massa celular filtrada após o processo de micorremediação ..	57
Figura 22 - Diferença de tonalidade de cor das unidades experimentais dos diferentes fungos inoculados.....	59
Figura 23 – Exemplos dos resultados dos testes de toxicidade utilizando sementes de <i>Allium cepa</i> como bioindicador.....	60
Figura 24 - Comparação entre os níveis de toxicidade das UEs a massa celular fúngica	63
Figura 25 - Comparação entre os níveis de toxicidade das unidades experimentais (UEs) e a massa celular do fungo L.B.2 - 1 antes e após o processo de micorremediação.....	65

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Parâmetros físico-químicos dos lixiviados, de acordo com diversos trabalhos...	22
Tabela 2 - Número de Unidades Formadoras de Colônias (UFCs) das amostras de lixiviado e de solo	45
Tabela 3 - Índices macroscópicos calculados a partir dos resultados dos testes de toxicidade das unidades experimentais (UEs)	61
Tabela 4 - Índices macroscópicos calculados a partir dos resultados dos testes de toxicidade das unidades experimentais inoculadas com o fungo L.B.2 - 1 antes e após a microrremediação	64

LISTA DE QUADROS

Quadro 1 - Definição teórica dos meios de disposição de resíduos sólidos	19
Quadro 2 - Prazos e informações pertinentes sobre o encerramento de lixões e aterros controlados.....	20
Quadro 3 - Características Morfológicas Fúngicas.....	26
Quadro 4 - Fungos efetivamente utilizados na micorremediação de poluentes	29
Quadro 5 - Fungos efetivamente utilizados na micorremediação de poluentes de lixiviado proveniente de aterro sanitário	30
Quadro 6 - Cálculo dos índices macroscópicos	44
Quadro 7 - Níveis de toxicidade considerando os índices de germinação.....	44
Quadro 8 - Características macroscópicas das colônias fúngicas isoladas	46
Quadro 9 - Características microscópicas das colônias fúngicas isoladas	47
Quadro 10 - Crescimento fúngico da unidade experimental (UE) realizada com o fungo L.B.1 - 1.....	50
Quadro 11 - Crescimento fúngico da unidade experimental (UE) realizada com o fungo S.1.1 - 5.....	52
Quadro 12 - Crescimento fúngico da unidade experimental (UE) realizada com o fungo L.B.2 - 1	54
Quadro 13 - Massa celular fúngica úmida e seca proveniente das unidades experimentais (UEs) realizadas com o fungo L. B. 1 - 1	77
Quadro 14 - Massa celular fúngica úmida e seca proveniente das unidades experimentais (UEs) realizadas com o fungo L. B. 2 - 1	78
Quadro 15 - Massa celular fúngica úmida e seca proveniente das unidades experimentais (UEs) realizadas com o fungo S. 1. 1 - 5	79
Quadro 16 - Massa celular fúngica úmida e seca proveniente das unidades experimentais (UEs) realizadas com o fungo L. B. 2 - 1.F e L.B.2 - 1.D, respectivamente	80
Quadro 17 - Resultados da massa celular fúngica proveniente do Lixiviado Bruto.....	81

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	13
2	OBJETIVO GERAL	15
2.1	Objetivos específicos	15
3	REFERENCIAL TEÓRICO	16
3.1	Resíduos Sólidos	16
3.1.1	Resíduos sólidos urbanos	16
3.1.2	Disposição ambientalmente adequada e inadequada de resíduos sólidos 18	
3.1.3	Características de lixiviado proveniente de aterro sanitário	21
3.2	Processos de tratamentos de lixiviado de aterro sanitário	23
3.3	Biorremediação	25
3.3.1	Microrremediação	26
3.3.2	Organismos empregados na microrremediação	28
3.4	Testes de toxicidade	30
4	METODOLOGIA	33
4.1	Caracterização da área de coleta	34
4.2	Seleção de fungos para utilização na microrremediação	37
4.3	Preparação do inóculo para a etapa de microrremediação	40
4.4	Microrremediação	41
4.5	Ensaio de toxicidade com <i>Allium cepa</i>	43
4.5.1	Análises macroscópicas	43
5	RESULTADOS E DISCUSSÃO	45
5.1	Seleção de fungos para utilização na biorremediação	45
5.2	Microrremediação	49
5.3	Testes de toxicidade	60
6	CONSIDERAÇÕES FINAIS	67
7	SUGESTÕES DE TRABALHOS FUTUROS	68
	REFERÊNCIAS	69
	APÊNDICE - Massa celular úmida e seca proveniente dos ensaios de microrremediação utilizando os fungos L.B.1 - 1, L.B.2 - 1, S.1.1 - 5.	

1 INTRODUÇÃO

O crescimento populacional, aliado ao aumento no consumo de produtos industrializados e no avanço tecnológico, tem gerado um acréscimo na variedade e na quantidade de resíduos sólidos urbanos (RSU) (LARGE, 2006; ANDRADE, 2022). Os RSU são materiais originados das atividades domésticas em residências urbanas e da limpeza pública, que após perderem sua utilidade são encaminhados para a disposição final.

No Brasil, os principais meios de disposição final de resíduos sólidos no solo são os lixões, aterros controlados e aterros sanitários, dos quais, apenas o aterro sanitário é considerado ambientalmente adequado, ou seja, que condiz com as normas de operação, evitando assim impactos na saúde pública, na segurança e ao meio ambiente. Lixões e aterros controlados são disposições inadequadas que não possuem medidas apropriadas de proteção ambiental. Apesar disso, continuam recebendo percentuais significativos dos resíduos sólidos gerados no Brasil.

Um dos produtos originado na degradação dos RSU é o lixiviado. Esse efluente possui uma elevada carga de poluentes, alta concentração de matéria orgânica e metais tóxicos, características que dificultam seu tratamento. Alguns estudos vêm sendo desenvolvidos para tratar biologicamente o lixiviado de aterro sanitário.

Dentre as técnicas existentes destaca-se a biorremediação, com ênfase na utilização de fungos. Segundo Bonassa (2021) o uso de fungos para degradar compostos tóxicos (micorremediação) resulta na remoção parcial ou total dos poluentes, sendo considerados agentes biorremediadores. Além disso, a micorremediação é uma tecnologia promissora de baixo custo e manutenção (BOCKLER et al., 2016).

Segundo Leles (2017) para definir o risco ecológico de um poluente é necessário realizar uma avaliação de toxicidade. Dentre as análises que podem ser realizadas estão os bioensaios, onde os ensaios de toxicidade são realizados sob condições controladas em laboratório, nos quais organismos-testes são submetidos a certas concentrações da amostra que se deseja estimar a toxicidade.

Organismos-testes ou bioindicadores são organismos biológicos (micro-organismos, plantas, animais) empregados para o reconhecimento das condições dos ecossistemas (ZAMONER, 2017). A utilização de plantas superiores como

bioindicadores possuem diversas aplicações na avaliação, no monitoramento e na detecção de contaminantes no ambiente (SILVA; TOFOLO, 2017). De acordo com Sommaggio (2016) testes utilizando a espécie *Allium cepa* tem sido indicada por este ser um eficiente organismo-teste para estudos básicos de ação de contaminantes e avaliação da efetividade do processo de biorremediação (SOMMAGGIO, 2016).

Deste modo, o presente trabalho tem como objetivo estudar e avaliar o processo de micorremediação na redução da toxicidade de lixiviado proveniente de aterro sanitário, por meio de bioensaios com semente de *Allium cepa*.

2 OBJETIVO GERAL

Avaliar a redução da toxicidade de lixiviado proveniente de aterro sanitário por meio do processo de biorremediação utilizando fungos.

2.1 Objetivos específicos

- Selecionar fungos autóctones que são capazes de degradar compostos presentes em lixiviado de aterro sanitário como fonte de energia e carbono;
- Comparar a taxa de crescimento dos fungos selecionados em meio líquido contendo diferentes concentrações de lixiviado de aterro sanitário.
- Avaliar o potencial de redução da toxicidade, utilizando *Allium cepa* como bioindicador, do lixiviado proveniente de aterro sanitário após crescimento fúngico.

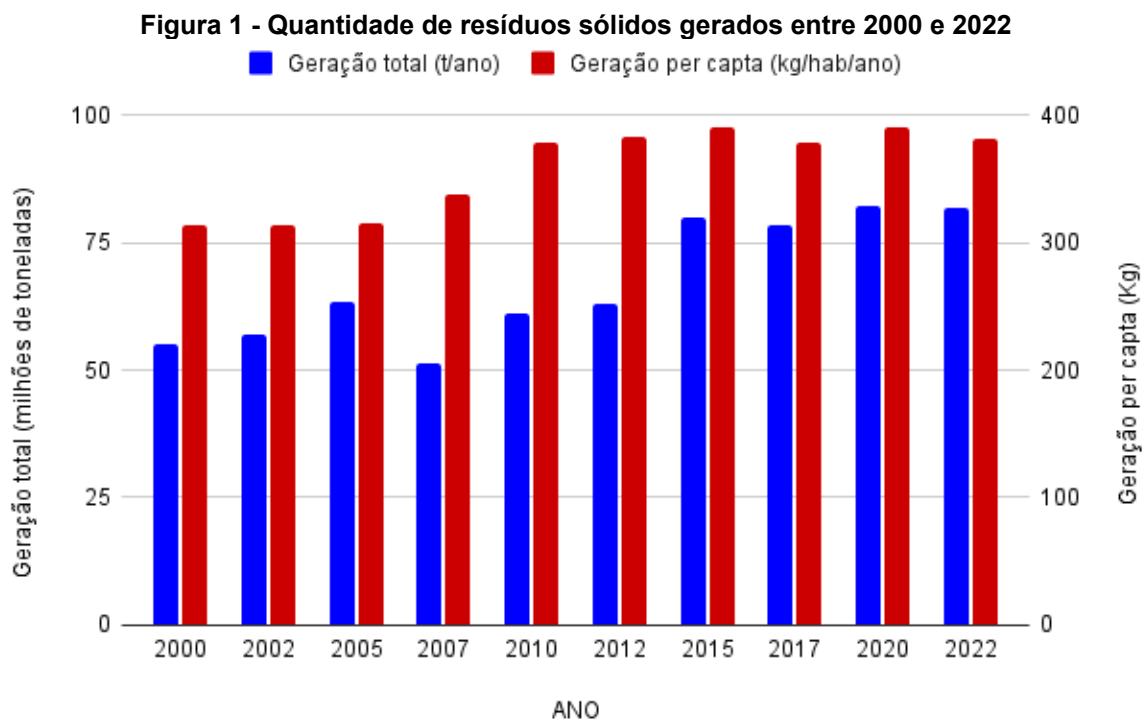
3 REFERENCIAL TEÓRICO

3.1 Resíduos Sólidos

3.1.1 Resíduos sólidos urbanos

Os resíduos sempre estiveram presentes no ciclo de vida dos organismos, sendo na geração de excrementos ou na geração baseada na ação do indivíduo sobre o meio ambiente e sobre as demais espécies que habitam o planeta (PEREIRA, 2019). O processo de urbanização e industrialização no Brasil acabou atraindo a população rural para os centros urbanos em expansão, formando uma massa de trabalhadores assalariados que passaram a consumir mais e por consequência, gerar mais resíduo (YUGUE, 2020).

Segundo o último Panorama dos Resíduos Sólidos no Brasil (ABRELPE, 2022), no ano de 2022 o país gerou aproximadamente 81,8 milhões de toneladas de RSU, um aumento significativo considerando os dados de geração de 2020 (aproximadamente 54,7 milhões de toneladas). Na Figura 1 apresenta-se a quantidade gerada de RSU desde os anos 2000 até 2022 no Brasil.

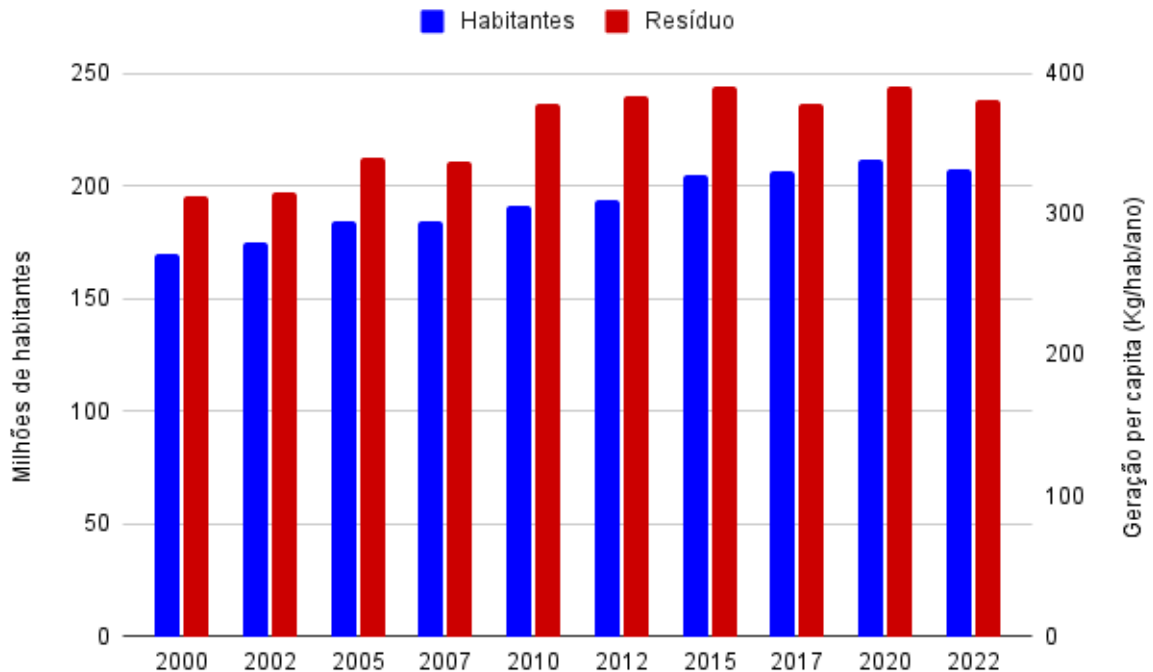


Fonte: Adaptado de ABRELPE (Panorama de resíduos sólidos no Brasil de 2003 a 2022).

Comparando a geração total de resíduos com os habitantes do Brasil no decorrer dos anos (Figura 2) percebe-se que houve uma geração crescente de RSU,

adjunto a um crescimento populacional linear. Nota-se uma diminuição considerável na geração de resíduos entre os anos de 2005 (63,3 milhões de toneladas) e 2007 (51,4 milhões de toneladas), ano em que a população brasileira também diminuiu de 186 milhões de habitantes para 183 milhões de habitantes, respectivamente. Segundo Ribeiro e Mendes (2018) a geração de RSU está relacionada ao poder econômico da população, o aumento da inflação, do desemprego e, por consequência, a diminuição do poder de compra da população, o que também explica a diminuição na geração de resíduos sólidos.

Figura 2 - Geração per capita de resíduos sólidos comparado com o número de habitantes do Brasil entre 2000 e 2020



Fonte: Adaptado de ABRELPE (Panorama de resíduos sólidos no Brasil de 2003 a 2021) e IBGE (2022)

Após 2007, a geração de RSU continua crescendo até dar um salto passando de 62,7 milhões de toneladas de resíduo gerado em 2012 para 76,4 milhões de toneladas geradas em 2013, representando um aumento de 18%. Nos mesmos anos a população aumentou em 3,5%. No ano de 2022, a população brasileira era de 207.750.291 habitantes e a geração de RSU era de 81,8 milhões de toneladas. Enquanto o número de habitantes teve um crescimento de 17% entre 2000 e 2020, a produção de resíduos sólidos aumentou 33%.

Segundo os autores Lange (2006), Conceição e Teixeira (2021) e Andrade (2022) o aumento na produção de resíduos sólidos está vinculado a diversos fatores como: crescimento populacional, alterações no estilo de vida, crescente produção e consumo da população, desenvolvimento econômico, crescimento do setor industrial, mudança do meio rural para o urbano, entre outros, que acabam modificando o padrão de geração e as características dos resíduos sólidos gerados no decorrer dos anos.

A constante geração de resíduos sólidos se torna um problema, pois demandam ações de gerenciamento para evitar impactos ambientais negativos, como a contaminação do solo e dos corpos d'água, ocasionando também assoreamento, enchentes, proliferação de macro e micro vetores, poluição visual, poluição atmosférica, incêndios, explosões, problemas sociais e relacionados à saúde pública (ANDRADE, 2022; CONCEIÇÃO, TEIXEIRA, 2021; OLIVEIRA et al., 2021).

3.1.2 Disposição ambientalmente adequada e inadequada de resíduos sólidos

O artigo 3º da Lei 12.305 de 2010 que institui a PNRS define a disposição final ambientalmente adequada como: “distribuição ordenada de rejeitos em aterros, observando normas operacionais específicas de modo a evitar danos ou riscos à saúde pública e à segurança e a minimizar os impactos ambientais adversos” (BRASIL, 2010, p.).

No Brasil, a principal disposição final de resíduos sólidos é feita no solo, sendo o aterro sanitário o método considerado ambientalmente adequado. Segundo a PNRS, o aterro sanitário deve receber apenas rejeitos – “resíduos sólidos que não possuem alternativas de tratamento e/ou recuperação, não apresentando outra possibilidade que não a disposição ambientalmente adequada” (BRASIL, 2010) – sendo necessário seu tratamento prévio para evitar contaminações (PRATES et al., 2019).

Os lixões e os aterros controlados são disposições finais no solo, consideradas inadequadas. Nesses casos, os resíduos não passam por nenhum tratamento e há uma falta de atendimento às normas de controle, o que causam diversos riscos ambientais. No Quadro 1 encontram-se algumas definições sobre os diferentes meios de disposição no solo encontrados na literatura.

Quadro 1 - Definição teórica dos meios de disposição de resíduos sólidos

LIXÃO	ATERRO CONTROLADO	ATERRO SANITÁRIO
Instalação sem qualquer tipo de controle sejam eles de saúde, segurança e ambientais, que recebem materiais de todas as origens e periculosidade.	Instalação com alguns cuidados principalmente relacionados a segurança dos trabalhadores e trânsito de pessoas na unidade. Caracteriza-se como estágio intermediário entre o lixão e o aterro sanitário.	Instalação com controle técnico e operacional permanente para evitar que resíduos e seus efluentes líquidos e gasosos causem danos à saúde pública e/ou ao meio ambiente.
Fonte: SNIS (2021)		
Áreas sem nenhum controle sobre a qualidade e quantidade dos resíduos recebidos e provocam graves casos de contaminação dos solos, do ar e das águas (superficiais e subterrâneas) em função do lançamento descontrolado de lixiviados e gases, além da depreciação da paisagem e lastimável presença de catadores (que buscam alimentos e recicláveis) entre animais (cães, porcos, urubus).	Áreas com algum controle operacional e ambiental (podem ter balança rodoviária, controle de acesso, coleta de lixiviados, drenagem parcial de gases etc.) não chegando ao rigor de um aterro sanitário, porém melhor que o cenário observado nos lixões.	Área de disposição de resíduos sólidos urbanos no solo, que não causam danos à saúde pública e à sua segurança, minimizando os impactos ambientais, utilizando métodos com princípios de engenharia para confinar os resíduos sólidos à menor área possível e reduzi-los ao menor volume permissível, cobrindo-os com uma camada de terra na conclusão de cada jornada de trabalho, ou a intervalos menores, se necessário (NBR 8.419, 1983).
Fonte: LEITE et al. (2019)		
Local onde ocorre a disposição de resíduos em bruto, sobre o terreno, sem qualquer cuidado ou técnica, caracterizando-se pela falta de medidas de proteção ao meio ambiente e à saúde pública.	Local de disposição final de resíduos sólidos urbanos no qual não são aplicadas todas as técnicas necessárias para assegurar a efetiva proteção ao meio ambiente e à saúde pública, configurando solução inadequada para disposição final.	Local de disposição final de resíduos urbanos no qual são aplicadas todas as técnicas de engenharia e normas operacionais específicas para confinar os resíduos, com vistas à efetiva proteção ao meio ambiente e à saúde pública. Os critérios de engenharia compreendem, no mínimo, a impermeabilização do solo, o sistema de drenagem superficial, o sistema de drenagem, remoção e tratamento do líquido percolado, o sistema de drenagem de gases, incluindo a chaminé para a sua dispersão, e a cobertura diária dos resíduos depositados.
Fonte: ABRELPE (2007)		

Segundo a ABRELPE (ano) as áreas de disposição inadequada (lixão e aterro controlado) receberam, no ano de 2022, 39% dos resíduos coletados no Brasil, o que corresponde a 29,7 milhões de toneladas no ano. Todo esse resíduo descartado incorretamente resulta em uma série de impactos ambientais significativos nas áreas de disposição.

O encerramento das disposições finais ambientalmente inadequadas está previsto na PNRS e no novo marco do saneamento (MORITA, MORENO, 2021). Em 2010 a Lei nº 12.305 que institui a PNRS, estipulou o prazo de 04 anos para o encerramento dos lixões, porém, os municípios brasileiros não se adequaram até o limite estabelecido (BATALHA, 2015). O novo marco do saneamento básico (Lei nº 14.026 de 2020) prorroga os prazos para o fim desses meios inadequados de disposição até 2024 (OLIVEIRA, 2020).

No Quadro 2 mostra-se os diferentes prazos estipulados para o encerramento de lixões e aterros controlados, a estimativa dos municípios que ainda possuem técnicas de disposição final inadequadas e a quantidade de RSU disposta incorretamente.

Quadro 2 - Prazos e informações pertinentes sobre o encerramento de lixões e aterros controlados

LEI/NORMA	PRAZO FINAL PARA O ENCERRAMENTO	MUNICÍPIOS QUE ADOTAM A DISPOSIÇÃO FINAL INADEQUADA	QUANTIDADE DE RSU DISPOSTA INCORRETAMENTE
-	2010	60,61%	43,2%
PNRS	02/08/2014	59,86 %	41,6%
MARCO LEGAL DO SANEAMENTO BÁSICO	02/08/2021 Capitais de Estados e Municípios integrantes de Região Metropolitana	50,74 %	39,5%
	02/08/2022 Municípios com População < 100.000 habitantes no Censo 2010	-	39%
	02/08/2023 Municípios com população entre 50.000 e 100.000 habitantes no Censo 2010	-	
	02/08/2024 Municípios com População > 50.000 habitantes no Censo 2010	-	

Fonte: Adaptado de ABRELPE (Panorama de resíduos sólidos no Brasil dos anos 2010, 2014, 2021 e 2022)

Segundo a ABRELPE (2010), em 2010, ano em que a PNRS foi sancionada, 3.371 municípios ainda adotavam meios de disposições finais incorretas, em 2014 o número caiu para 3.334 municípios, uma redução muito pequena (1,1%), principalmente ao considerar que em 2014 se encerrava o prazo para o encerramento dos lixões e aterros controlados em todo o Brasil, estipulado pela Lei

nº 12.305 de 2010 (PNRS). Em 2021, o número de municípios com técnicas de disposição final incorreta era de 2.826, ocorrendo uma redução de 16,2% em comparação com 2010. Ainda não se tem as estimativas dos municípios dos anos de 2022, 2023 e 2024, porém segundo Luiz Gonzaga, presidente da Associação Brasileira de Empresas de Tratamento de Resíduos e Efluentes (ABETRE), que forneceu uma entrevista para o Estadão Conteúdo (2022), estima-se que o encerramento destas disposições inadequadas seja efetivado em 2040.

Luiz Gonzaga ainda esclarece em uma entrevista dada a EBC (Empresa Brasil de Comunicação, 2021) que “o encerramento não significa dizer que aquele lixão foi totalmente desativado, simplesmente foi colocado um cadeado naquele local para que não fosse despejado mais lixo”. Assim, mesmo com o encerramento dos lixões e aterros controlados é necessário utilizar técnicas de recuperação ambiental para minimizar os impactos dessas áreas (FERREIRA, 2022).

Para países em desenvolvimento que ainda possuem os lixões como unidades de disposição no solo, os aterros sanitários se apresentam como a solução mais viável técnica e economicamente para substituir esse meio de disposição inadequado dentro do sistema de gestão de resíduos (ANDRADE, 2022). A autora destaca:

Vale destacar ainda, que em função desse papel importante e indispensável que os aterros sanitários executam dentro da gestão de resíduos, é necessário se reduzir ao máximo os seus possíveis impactos negativos, principalmente os relacionados à geração do biogás e lixiviado, que são as principais fontes de contaminação produzidas durante o processo de decomposição dos resíduos sólidos urbanos (ANDRADE, p. 24, 2022).

Esta prática de disposição final acaba gerando grandes volumes de poluentes, como o lixiviado, que é formado por uma mistura de líquidos advinda da decomposição dos resíduos sólidos. Sua composição e características variam de acordo com diversos fatores, sendo considerado com um grande potencial poluidor. Assim, se torna necessário compreender as características do lixiviado bem como a influência deste efluente no aterro sanitário e no meio ambiente (REIS, 2014; COSTA, 2022).

3.1.3 Características de lixiviado proveniente de aterro sanitário

O lixiviado é um dos produtos da decomposição físico-química e biológica dos resíduos, e da percolação da água das chuvas através do resíduo. É um líquido escuro, de composição complexa, que apresenta um odor desagradável,

dependente dos estágios de decomposição da matéria orgânica, da composição dos resíduos, das condições ambientais, da idade, modo de operação da área de aterramento, pré-tratamento, profundidade das células, entre outros (RIBEIRO, MENDES, 2018; SILVA et al., 2022).

Esse efluente geralmente contém altas concentrações de matéria orgânica dissolvida, macrocomponentes inorgânicos, metais tóxicos e compostos orgânicos xenobióticos (ANDRADE, 2022), que podem vir a contaminar o solo e o lençol freático, afetando a saúde da população, flora e fauna local (FERREIRA, 2022).

Ribeiro e Mendes (2018) apresentam diversos parâmetros com valores médios de lixiviados gerado em aterros sanitários a partir do levantamento de diversos trabalhos. Esses parâmetros estão apresentados na Tabela 1:

Tabela 1 - Parâmetros físico-químicos dos lixiviados, de acordo com diversos trabalhos

Parâmetros	Segato & Silva (2000)	Morais (2005)	Beck et al. (2010)	Naveen et al. (2018)	De Pauli et al. (2018)
pH	6,9 – 8,2	8,3 ± 0,2	7,7 - 9	7,4 – 7,6	7,53 ± 0,20
DQO (mg.L ⁻¹ O ₂)	60.000 – 96.000	5.100 ± 265	1.447 – 13.543		6.556 ± 565
DBO5 (mg.L ⁻¹ O ₂)		560 ± 78	440 – 3.680	1.500 – 3.000	2.909 ± 120
Cloretos (mg.L ⁻¹)	4.300 – 6.600	2.590 ± 40	246 - .1252	230 - 780	-
Zinco (mg.L ⁻¹)	175 – 260	1,06 ± 0,02	0,1	2,4 - 3	1,62 ± 0,05
Cobre (mg.L ⁻¹)	105 – 365	0,36 ± 0,02	0,03	0,002 – 0,151	0,03 ± 0,01
Ferro (mg.L ⁻¹)	70 – 500	13,12 ± 0,07	7,45	11,16 – 12,04	56 ± 1
Chumbo (mg.L ⁻¹)	-	0,28 ± 0,01	-	0,22 – 0,3	0,31 ± 0,04
Níquel (mg.L ⁻¹)	-	1,43 ± 0,04	-	0,683 – 1,339	0,15 ± 0,02
Cromo (mg.L ⁻¹)	-	0,45 ± 0,02	-	0,011 – 0,024	0,26 ± 0,01
Cálcio (mg.L ⁻¹)	-	10,61	-	400 - 440	119 ± 7
Vanádio (mg.L ⁻¹)	-	-	-	-	0,19 ± 0,01
Manganês (mg.L ⁻¹)	50 - 1200	0,08	-	-	0,95 ± 0,03

Fonte: Ribeiro e Mendes (2018)

A dinâmica de um aterro sanitário passa por mudanças ao longo do tempo, variando a quantidade de lixiviado e os gases emitidos. Nos anos iniciais o lixiviado apresenta grandes quantidades de sólidos totais dissolvidos, Demanda Química de Oxigênio (DQO), Demanda Bioquímica de Oxigênio (DBO), nutrientes e metais tóxicos, sendo gradativamente reduzidos ao longo dos anos. Esta variação apresenta padrões bem definidos, que permitem sua divisão em fases (SOUTO, 2009; ANDRADE, 2022).

Segundo Santos (2020), observando o pH e as razões DBO/DQO e DQO/COT, o lixiviado pode ser classificado como novo e/ou estabilizado considerando que quanto maior forem as razões, maior é a quantidade de bactérias aeróbias e facultativas, característica observada em aterros recentes e

consequentemente em “lixiviado novo”. Ghesla (2022) considera que a relação DBO/DQO é um dos principais parâmetros para a classificação da idade do lixiviado. Para lixiviados novos (aterros com menos de um ano) a relação DBO/DQO $> 0,5$; já para lixiviados estabilizados (aterros com mais de cinco anos) a relação DBO/DQO $< 0,1$. Nos lixiviados estabilizados o pH tende a apresentar menores variações (entre 7,5 e 9,0), para lixiviados novos o pH fica em torno de 6,5 (DESTRO, 2020). Os valores do pH vão se elevando em função do consumo dos ácidos pelas bactérias metanogênicas e pela maior produção de gases, gerado pela intensificação do processo de degradação biológica (DANTAS, 2021).

Lixiviados novos possuem carga orgânica elevada de fácil biodegradação, para estes, o tratamento mais indicado é o biológico, devido sua simplicidade e custo baixo (SOUTO, 2009; DANTAS, 2021). Segundo Dantas (2021) para os lixiviados estabilizados a escolha do tratamento deve levar em consideração as vantagens alcançadas, o custo e a eficácia do processo.

3.2 Processos de tratamentos de lixiviado de aterro sanitário

Os processos de tratamentos de lixiviado proveniente de aterros sanitários podem ser divididos em dois grupos: físico-químicos e biológicos. Geralmente, é necessário utilizar mais de uma tecnologia ou tratamento para aperfeiçoar a eficiência de remoção de compostos tóxicos presentes no lixiviado (DANTAS, 2021).

Processos de tratamento físico-químicos são técnicas intensivas, de custo elevado que nem sempre são eficazes na remoção de todos os compostos tóxicos e recalcitrantes do lixiviado. Dependendo do processo utilizado, esses tratamentos podem gerar matrizes com um nível residual de toxicidade alto, causando acúmulo de metabólitos secundários, muitas vezes mais tóxicos do que os poluentes iniciais (SIRACUSA et al., 2020).

Um tratamento que vem sendo muito utilizado é o processo oxidativo avançado (POA). Essa técnica conta com a capacidade de oxidação de compostos de difícil degradação e é aplicável ao lixiviado estabilizado devido as suas características, que além da baixa relação DBO/DQO possui baixa concentração de DBO, altas concentrações de nitrogênio amoniacal e de compostos orgânicos recalcitrantes (REIS, 2014; DANTAS, 2021).

O processo de dessorção de amônia é utilizado como tratamento de lixiviado com o objetivo de minimizar os efeitos de inibição causados pela amônia (COSTA,

2022). Os autores Kawahigashi et al. (2014) avaliam a adsorção em carvão ativado granular (CAG) aplicado para o tratamento do lixiviado, onde o efluente é adsorvido/filtrado por filtros de CAG. Dentre os resultados obtidos com o teste, destaca-se a remoção de 94 a 100% de cor, 45 a 76% de DQO e de 23 a 67% de carbono orgânico total.

Tratamentos biológicos são os mais comumente utilizados por serem viáveis economicamente, utilizados para remover a matéria orgânica e nitrogenada presente no lixiviado (ANDRADE, 2022). Como a utilização de reatores biológicos com micro ou ultrafiltração (BRM), esses sistemas podem utilizar lodo bacteriano para degradar a matéria orgânica dos efluentes, ou podem ser inoculados com leveduras por apresentarem alta capacidade de quebra e assimilação de poluentes de difícil degradação (REIS, 2014).

Ao longo dos anos, algumas pesquisas vêm sendo realizadas para testar novas tecnologias para tratar o lixiviado de forma biológica. Yuan et al. (2016) avaliaram a eficiência do tratamento combinado de lixiviado de aterro sanitário e esgoto doméstico. O sistema empregado consta com reatores de bateladas sequenciais semeados com lodo de esgoto (LE) onde três concentrações diferentes de lixiviado foram utilizadas (2,5%, 5% e 10%). Dentre os resultados os autores destacam que a mistura de lixiviado com o LE não ocasiona um impacto negativo relacionado à nitrificação, além disso, as concentrações de lixiviado (2,5, 5 e 10%) obtiveram uma remoção de aproximadamente 87, 80 e 63% de DQO, respectivamente.

Costa (2022) analisou o tratamento combinado de lixiviado e vinhaça de cana-de-açúcar utilizando um reator anaeróbio de fluxo ascendente e manta de lodo (UASB). O experimento se inicia realizando a dessorção do lixiviado para posteriormente preparar um substrato utilizando o lixiviado dessorvido e a vinhaça de cana-de-açúcar (proporção de 10% e 90%, respectivamente) que foi bombeado para o reator UASB. O estudo mostrou que a dessorção do lixiviado foi efetiva alcançando 88% de remoção de amônia, o tratamento conjugado de lixiviado e vinhaça de cana-de-açúcar em reator UASB apresentou uma eficiência média de remoção de 68% e 47,6% DQO total e solúvel, respectivamente, porém o sistema apresentou interferência na estabilidade do reator.

Alguns processos inovadores utilizando técnicas de biorremediação vêm sendo estudados como alternativas para tratamento de lixiviado proveniente de

aterro sanitário (LEONEL, 2010). A biorremediação é uma alternativa ecologicamente mais adequada e eficaz para o tratamento de efluentes contaminados com moléculas orgânicas de difícil degradação e metais tóxicos, possuindo diversas técnicas e tipos de tratamento (GAYLARDE, et al., 2005; SOUZA e ARRUDA, 2020).

3.3 Biorremediação

Segundo Gaylarde et al. (2005) e Soares et al. (2011), a biorremediação é um processo no qual organismos vivos, normalmente plantas ou microrganismos, por meio de atividades biológicas são utilizados tecnologicamente para remover ou reduzir (remediar) poluentes no ambiente, transformando contaminantes em substâncias inertes.

Existem diversas técnicas de biorremediação, como por exemplo: fitorremediação (utilização de plantas), bioestimulação (favorecimento de populações de microrganismos autóctones degradadores), bioaugmentação (introdução de microrganismo), bioventilação (fornecimento controlado de gases, como exemplo, o oxigênio), entre outros, e também há uma variação quanto ao tipo de tratamento sendo eles "*in situ*" e "*ex situ*", no seu lugar de origem e fora do seu lugar de origem, respectivamente (GAYLARDE et al., 2005; PERNA, 2018).

Segundo Perna (2018) para que a técnica seja utilizada de forma correta, além da seleção de organismos capazes de transformar os poluentes alvos, também é necessário garantir algumas condições básicas, como a disponibilidade adequada de água, oxigênio, fósforo e nitrogênio para um melhor desenvolvimento microbiológico. A autora ainda explica que os microrganismos assimilam os poluentes existentes no efluente para obter nutrientes. Nesse processo ocorre a quebra de compostos orgânicos em metabólitos de menor complexidade e/ou massa, que quando ocorre corretamente gera CO₂, H₂O, sais minerais e biomassa. Quando a quebra é incompleta, os subprodutos gerados podem ser oxidados em outras reações.

Dentre os microrganismos utilizados na biorremediação, os fungos têm uma função essencial no processo de biodegradação da matéria orgânica. A aplicação desses organismos no tratamento de poluentes é chamada de micorremediação (MONSALVE, 2019).

3.3.1 Micorremediação

Os fungos (organismos empregados na micorremediação) possuem uma função essencial no processo de biodegradação da matéria orgânica, sendo um componente indispensável no fluxo da energia e carbono no meio ambiente e organismos eficientes na biorremediação de diversos componentes tóxicos (MONSALVE, 2019).

São organismos heterotróficos eucariontes pertencentes ao reino Fungi, que englobam tanto microrganismos unicelulares (leveduras) quanto multicelulares (filamentosos). As leveduras apresentam um formato oval ou cilíndrico e são organismos anaeróbicos facultativos, ou seja, podem realizar a respiração aeróbica e anaeróbica. Os fungos filamentosos possuem como característica a facilidade de dispersão de esporos, a possibilidade de crescimento em diversos tipos de substrato, a presença de longos filamentos, assim como estruturas de frutificação (MOREIRA et al., 2022; WALSH et al., 2018).

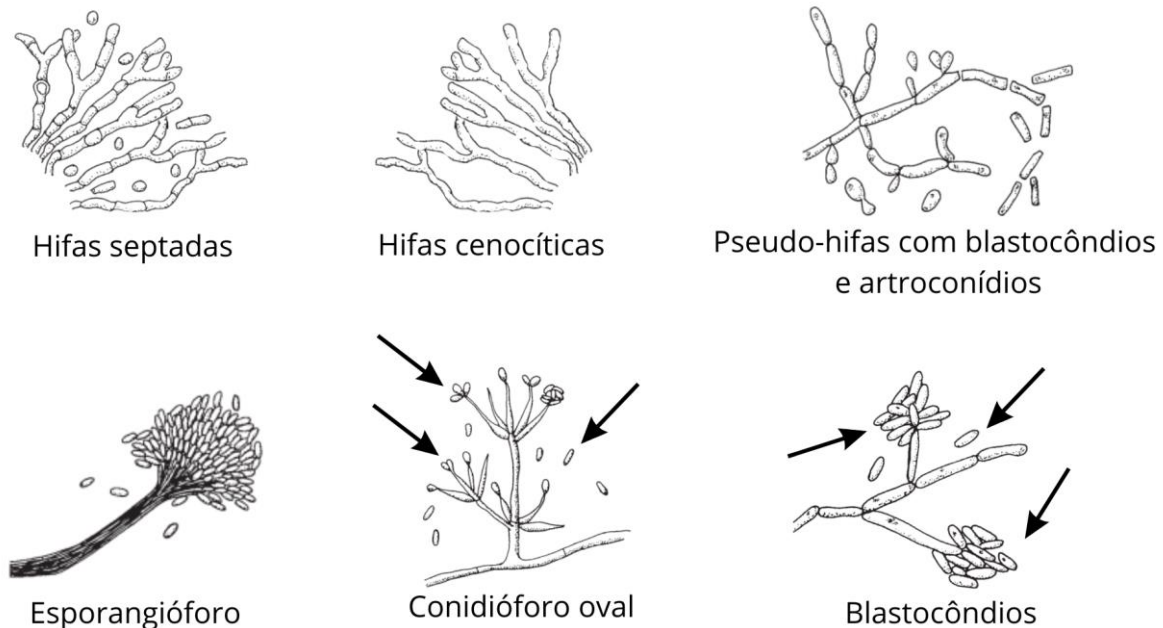
Quanto à morfologia fúngica, pode-se diferenciar leveduras de fungos filamentosos a partir das características macro e microscópicas. No Quadro 3 tem-se algumas características gerais da morfologia fúngica, com base nos autores Walsh et al. (2018) e Henning (2015).

Quadro 3 - Características Morfológicas Fúngicas

Características	Levedura	Filamentosos
Características Macroscópicas		
Cor	Cores neutras e vivas: Brancas, bege, creme, amarelas, rosas	Cores escuras: Verde, pretas, cinzas, brancas, âmbar
Tamanho	Pequenas: de 0,1 a 0,5 cm	Grandes: cerca de 1,5 cm
Aspecto	Brilhante, úmida, cremosa	Algodonosa, pulverulenta, cotonosa, seca, aveludada
Borda	Inteiras ou irregulares	Inteiras ou irregulares
Superfície	Lisa	Rugosa, presença de protuberâncias, sulcos ou lisa
Características Microscópicas		
Hifas	-	Septada ou cenocítica
Pseudo-hifas	Série de leveduras alongadas unidas entre si	-
Reprodução	Brotamento: Divisão celular simples	Sexuada: Formação de estruturas contendo esporos (Esporangióforo); Assexuada: Formação de conídios que germinam e formam novas hifas

Fonte: Baseado em Walsh et al. (2018) e Henning (2015)

Na Figura 3 se apresenta algumas características fúngicas microscópicas.

Figura 3 - Características fúngicas microscópicas

Fonte: Adaptado de Walsh et al. (2018)

Os fungos estão entre os grupos de organismos mais diversos do planeta, desempenhando um importante papel ecológico para a sobrevivência do ecossistema. Além disso, contam com uma diversidade metabólica com capacidade de biodegradar uma vasta variedade de compostos, inclusive poluentes. Possuem também uma diversidade morfológica que está relacionada com o crescimento e forma de micélio e a característica da ubiquidade, o que significa que estes organismos estão presentes nos mais diversos tipos de habitats (SOARES, 2011; MENDES, 2018; MONSALVE, 2019).

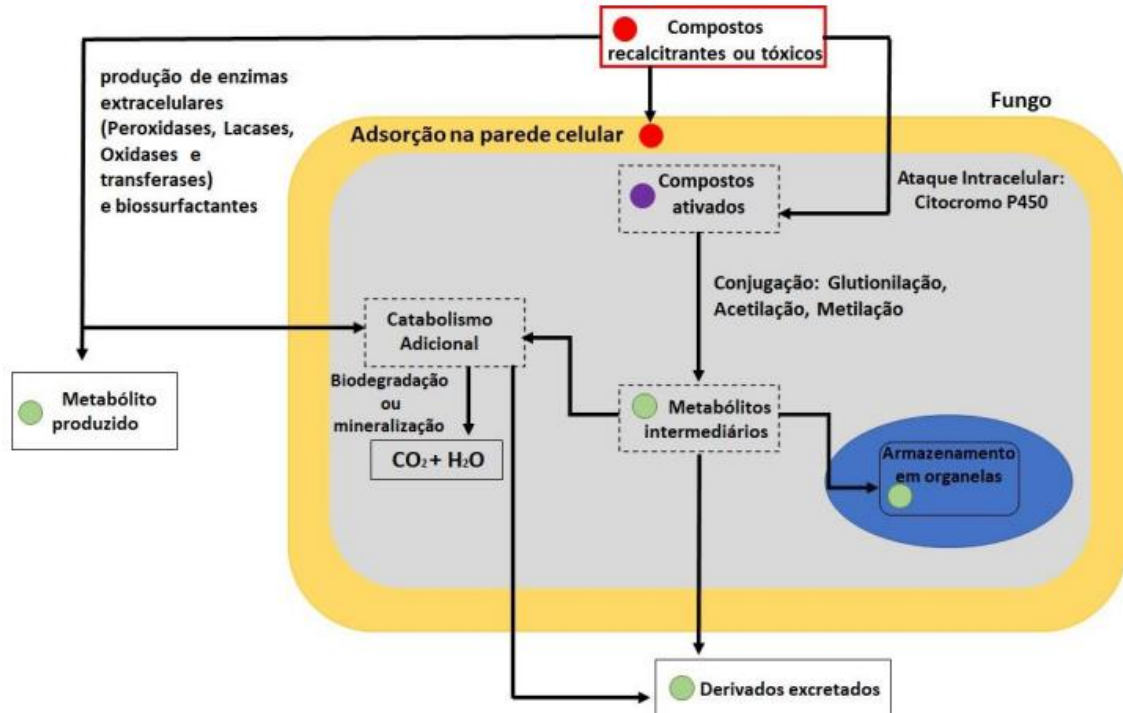
Esses microrganismos são os primeiros organismos degradadores a se estabelecer na massa de resíduos sólidos, sendo essenciais para o funcionamento adequado de aterros sanitários. Considerando que o lixiviado reflete as características da massa de resíduos da qual foi originado (LOPES, 2018), e as diversas características dos fungos, têm-se que esses microrganismos podem ser promissores no tratamento deste efluente (REIS, 2014).

A micorremediação se baseia em três princípios: a presença do microrganismo com capacidade metabólica, a disponibilidade do contaminante e as condições adequadas para o crescimento e atividade microbiana (WEIRICH, 2020).

Segundo Weirich (2020), os fungos adotam diferentes mecanismos para a micorremediação, dentre eles os processos enzimáticos intra e extracelulares utilizados para desintoxicação e biodegradação ou mineralização, adsorção de

xenobióticos pela parede celular e armazenamento de metabólitos intermediários nas organelas dos fungos (Figura 4).

Figura 4 - Mecanismos adotados por fungos na micorremediação



Fonte: Weirich (2020)

A biodegradação enzimática transforma compostos orgânicos em metabólitos menos complexos, como H_2O , CO_2 e minerais. Compostos inorgânicos que não podem ser degradados, como metais tóxicos e cátions radioativos, são biotransformados em produtos menos nocivos para o ambiente ou tem suas características alteradas facilitando sua remoção por outros métodos (MONSALVE, 2019).

3.3.2 Organismos empregados na micorremediação

Os trabalhos referentes à degradação de poluentes por fungos tiveram início nos anos 80. Desde então, vários estudos vem sendo desenvolvidos para avaliar a efetividade da micorremediação em diversas áreas diferentes (SOARES et al., 2011). No Quadro 4 constam alguns estudos realizados.

Quadro 4 - Fungos efetivamente utilizados na micorremediação de poluentes

Fungos	Poluentes remediados	Referências
<i>Cunninghamella, Phanerochaete, Fusarium, Candida, Penicillium, Pleurotus, Trametes, Aspergillus, Bjerkandera, Chrysosporium Dentipellis, Chrysosporium e Cochliobolus</i>	Hidrocarbonetos aromáticos policíclicos (HAPs)	Samanta et al. (2002); Jacques, (2010), Schamfu et al. Puglisi et al. (2012); (2013); Bhattacharya et al. (2014).
<i>Penicillium, Mucor, Alternaria, Cladosporium, Fusarium, Aspergillus, Aureobasidium, Trichoderma e Acremonium</i>	Fenóis e benzeno	Hofrichter et al. (1993); Piecková, Jesenská (1999); Zhdanova et al. (2000); Silva et al. (2007)
<i>Aspergillus, Thielavia e Penicillium</i>	Nitrato de chumbo	Silva, et al. (2007)
<i>Higrocybe, Lentinus, Peniophoracinerea, Phellinus, Pleurotus, Psilocybe, Pycnoporus, Trametes, Botryosphaeria, Aspergillus e Penicillium</i>	Poluentes orgânicos persistentes (POPs) – pesticidas, herbicidas, dioxinas, bifenilas policloradas, hidrocarbonetos aromáticos e hexaclorobenzeno	Matheus et al. (2000); Gugliotta (2001); Machado et al. (2005); Vitali et al. (2006); Ballaminut, Matheus, (2007); Fomina et al. (2014); Azubuike et al. (2016); Abu-Elsaoud et al. (2017); Igiri et al. (2018) e Oladipo et al. (2018)
<i>Aspergillus, Acremonium, Antrodia, Auricularia, Beauveria, Botrytis, Candida, Chaetomium, Cantharellus, Coriolopsis, Cyberlindner, Flammulina, Fusarium, Fomitopsis, Mucor, Paecilomyce, Penicillium, Phialophora, Saccharomyce, Trichoderma e Rhizomucor.</i>	Metais tóxicos	Yao et al. (2013); Hattori et al. (2015); Nadeem et al. (2015); Sakthivel et al. (2016); Desai et al. (2016); Dey et al. (2016); Samadi et al. (2017); Oladipo et al. (2017); Chen et al. (2017); Drewnowska et al. (2017); Kovacec et al. (2017); Ruta et al. (2017); Karunasekera et al. (2017); Sani et al. (2017); Mohammadian et al. (2017); Huang et al. (2018); Li et al. (2018); Cui et al. (2018); Irazusta et al. (2018) e Kumar et al. (2019)
<i>Aspergillus, Marasmius, Phlebia, e Bjerkandera</i>	Corantes	Nagao et al. (2000); Moore et al. (2001); Kim et al. (2007) e Bhattacharya et al. (2011)
<i>Mucor, Trametes, Phanerochaete, Lentinula, Pleurotus, Leptospaheerulina e Irpex</i>	Produtos farmacêuticos	Mohamed et al. (2014); Du et al. (2015); Gao et al. (2017); Esterhuizen-Londt et al. (2017); Asif et al. (2017); Dai et al. (2018) e Muszynska et al. (2019)

Fonte: Baseado em Soares et al. (2011); Kulshreshtha et al. (2014); Akhtar, Mannan (2020); Kumar, Dwivedi (2021)

Algumas pesquisas relacionam a micorremediação com aterros sanitários. Os estudos iniciais envolviam prioritariamente as características físico-químicas do lixiviado, como: Cor, DBO, DQO, OD, entre outros (NOORLIDAH, et al., 2013; SPINA, et al., 2018; KALCIKOVA, et al., 2014; KIM, et al., 2003; BARDI et al., 2017). Essas pesquisas abriram portas para novos eixos de investigação, uma vez que a micorremediação obteve alta eficiência na remoção de poluentes orgânicos e inorgânicos (RAHANATU et al., 2019).

Recentemente alguns estudos foram publicados relacionando a micorremediação com os compostos tóxicos do lixiviado, seja para remediar solos contaminados por metaloides em aterros sanitários, ou para remover e/ou reduzir componentes orgânicos, compostos tóxicos, e carga microbiana de lixiviado de aterro sanitário (HASSAN, et al., 2020; SIRACUSA, et al., 2020; IKECHI-NWOGU, AKPAN, 2022). Os principais estudos se encontram no Quadro 5.

Quadro 5 - Fungos efetivamente utilizados na micorremediação de poluentes de lixiviado proveniente de aterro sanitário

Fungos	Poluentes remediados	Referências
<i>Lentinus squarrosulus</i> <i>Mount</i>	Propriedades físico-químicas e carga microbiana	Ikechi-nwogu, Akpan, (2022)
<i>Lambertella sp</i>	Nitrogênio total, carbono orgânico total, pH, DBO, DQO e cloreto	Siracusa, et al. (2020)
<i>Daldinia starbaeckii</i> <i>Perenniporia</i> <i>subtrophopora</i> <i>Phanerochaete</i> <i>concrescens</i> <i>Fusarium</i> <i>equiseti</i> <i>Cerrena</i> <i>aurantiopora</i> <i>Polyporalessp.</i> <i>Paecilomyces lilacinus</i> <i>Aspergillus fumigatus</i> <i>Antrodia serialis</i> <i>Tremates</i> <i>versicolor</i> <i>Penicillium</i> <i>catarata</i> <i>Aspergillus niger</i> <i>Fusarium</i> <i>chlamydosporum</i>	Metais e metaloides, pH, condutividade,	Hassan, et al. (2020)

O emprego da micorremediação para tratar lixiviado de aterro sanitário é uma tecnologia nova. Assim, não se encontram muitas referências sobre o tema. A pouca literatura disponível foca nas características físico-químicas (RAHANATU et al., 2019), não sendo encontrados estudos específicos sobre a micorremediação utilizada para minimizar a toxicidade deste efluente.

3.4 Testes de toxicidade

Grande parte das análises realizadas em efluentes caracteriza a parte físico-química do mesmo, em que as concentrações são obtidas e relacionadas com as concentrações máximas permitidas na legislação vigente (LAITANO, MATIAS, 2006; CEZAR et al., 1997). Conforme Cezar et al. (1997) os resultados obtidos por meio das análises químicas não fornecem informações sobre o efeito conjunto de várias

substâncias interagindo no mesmo efluente e as consequências disso para o ecossistema.

Conforme a CONAMA 357/2005, os efeitos tóxicos podem ser divididos em duas definições: efeito tóxico agudo, como “efeito deletério aos organismos vivos causado por agentes físicos ou químicos, usualmente letalidade ou alguma outra manifestação que a antecede, em um curto período de exposição” e efeito tóxico crônico:

Efeito deletério aos organismos vivos causado por agentes físicos ou químicos que afetam uma ou várias funções biológicas dos organismos, tais como a reprodução, o crescimento e o comportamento, em um período de exposição que pode abranger a totalidade de seu ciclo de vida ou parte dele (BRASIL, p. 3, 2005).

Segundo Leles (2017) a avaliação de toxicidade de poluentes é necessária para definir o risco ecológico. Dentre as análises que podem ser realizadas estão os bioensaios (testes de toxicidade). Sommaggio (2016) afirma que os bioensaios são essenciais para a avaliação de risco ambiental e da biodisponibilidade de poluentes presentes em amostras ambientais, uma vez que os mesmos fornecem resultados confiáveis e auxiliam na tomada de decisões. Os testes de toxicidade podem ser definidos como:

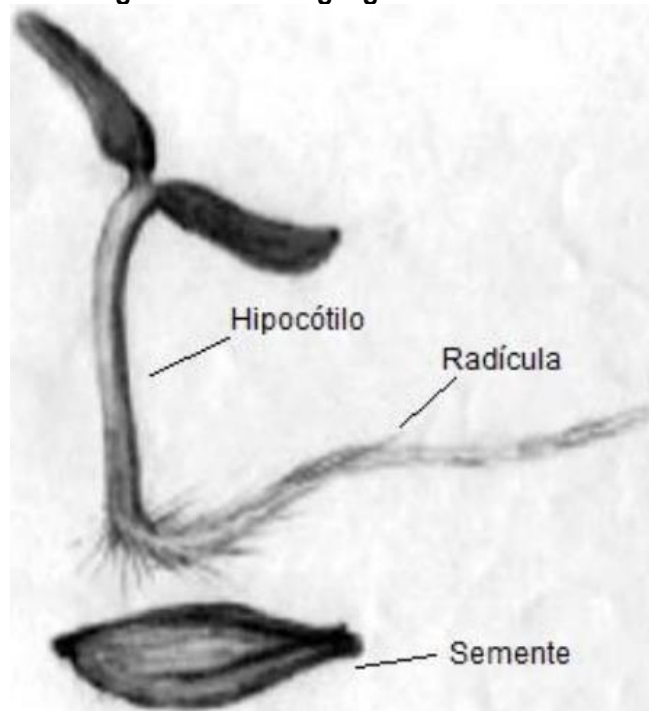
Ensaios realizados sob condições controladas em laboratório, nos quais organismos-testes são submetidos a certas concentrações da amostra que se deseja estimar a toxicidade, sejam elas substâncias, efluentes industriais ou amostras de água ou de solo. Os efeitos tóxicos dessas amostras são observados nos organismos-teste e são quantificados (LELES, p. 15, 2017).

Organismos-testes ou bioindicadores são organismos biológicos (microrganismos, plantas, animais) empregados para o reconhecimento das condições dos ecossistemas (ZAMONER, 2017). A escolha do organismo teste a ser utilizado deve levar em consideração o ecossistema que está sendo testado. Não há bioindicador que represente todos os efeitos da contaminação de um poluente no ecossistema, porém como as plantas fazem parte de uma gama muito grande de ecossistemas, elas veem sendo selecionadas e estudadas como bioindicadores em potencial (LELES, 2017).

A utilização de plantas superiores para a realização de bioensaios possui diversas aplicações na avaliação, monitoramento e detecção de contaminantes no ambiente, dentre as espécies vegetais pode-se citar a *Lactuca sativa* (alface), *Cucumis sativus* (pepino) e a *Allium cepa* (cebola), organismos empregados para

avaliar a fitotoxicidade de um composto por meio da inibição da germinação, da medição das radículas e do hipocótilo (SOMMAGGIO, 2016; LELES, 2017; OLIVEIRA, 2021). As estruturas analisadas podem ser observadas na Figura 5.

Figura 5 - Morfologia geral da semente



Fonte – Leles (2017)

O ensaio com *Allium cepa* (cebola) vem sendo utilizada para avaliar os efeitos tóxicos de diferentes poluentes ambientais (OLIVEIRA, 2021; LUSTOSA et al., 2022; LELES, 2017; SILVA, TOFOLO, 2017) e para a avaliação da efetividade do processo de biorremediação (SOMMAGGIO, 2016).

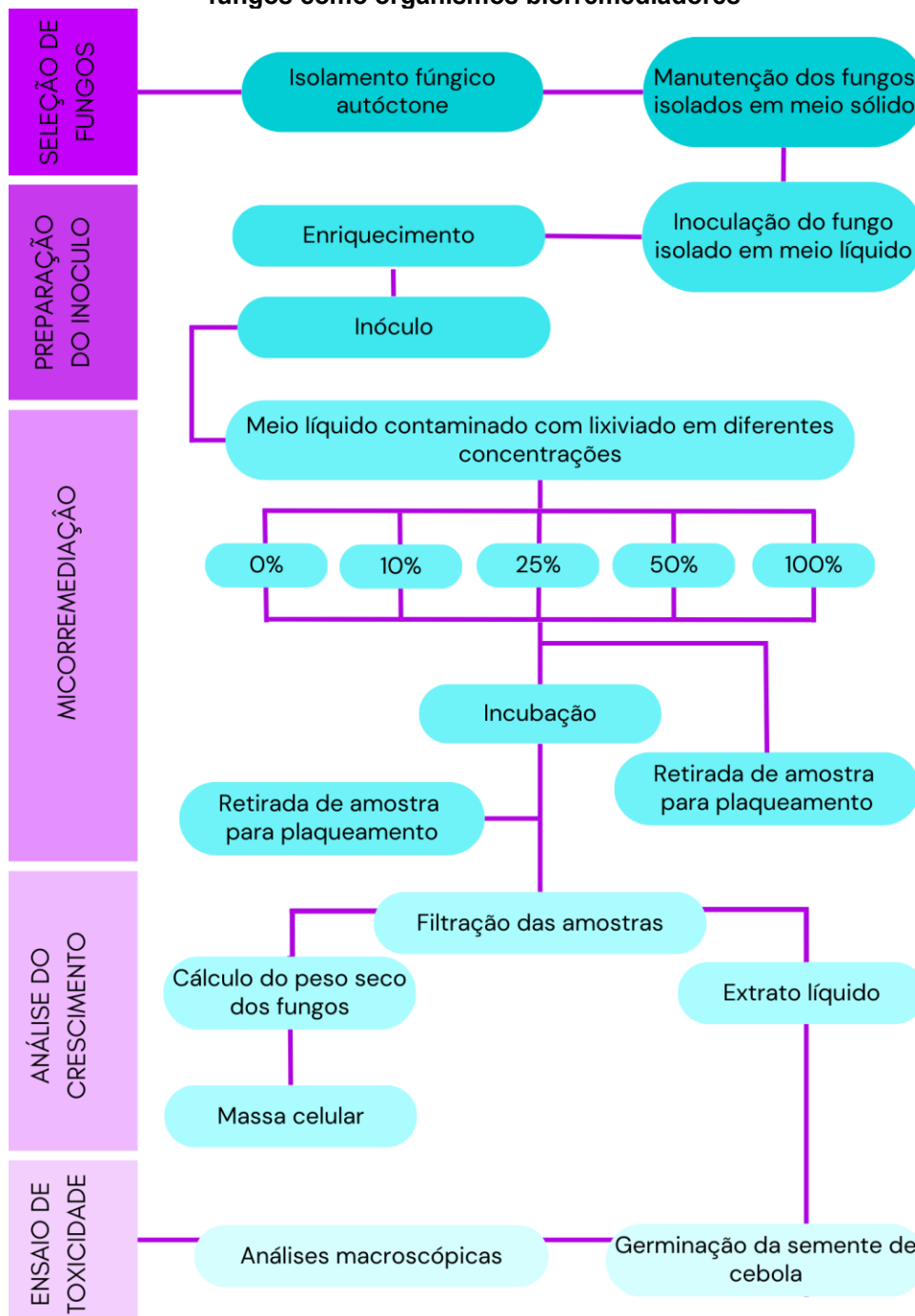
A cebola possui entre suas características um crescimento radicular rápido e alta tolerância a diferentes condições de cultivo, permitindo uma fácil avaliação quando utilizada como organismo teste. Para realização dos testes não é necessário realizar procedimentos de extração ou pré-tratamento das amostras, expondo as sementes diretamente ao material contaminado (LELES, 2017; SOMMAGGIO, 2016).

Sua utilização é amplamente empregada como indicador de toxicidade de efluentes, realizando a contagem de sementes germinadas e medição do crescimento radicular para verificar os níveis de toxicidade da amostra (SOMMAGGIO, 2016; LELES, 2017).

4 METODOLOGIA

Este trabalho tem o objetivo de avaliar a redução da toxicidade de lixiviado proveniente de aterro sanitário, utilizando fungos como organismo biorremediadores. As amostras coletadas são provenientes do Aterro Sanitário do município de Londrina- PR. Na Figura 6 podem-se visualizar as etapas de desenvolvimento do trabalho experimental.

Figura 6 - Metodologia empregada pra avaliar a redução da toxicidade de lixiviado utilizando fungos como organismos biorremediadores



Fonte: Autoria própria (2023)

Foram coletadas amostras de solo da célula em atividade do aterro sanitário e de uma lagoa de tratamento primário de lixiviado com o objetivo de realizar o isolamento e a identificação de fungos autóctones. Os fungos selecionados foram cultivados para os experimentos de micorremediação com diferentes concentrações de lixiviado. Após o processo de micorremediação, realizaram-se testes de toxicidade, com a finalidade de avaliar a eficiência dos fungos em reduzir a toxicidade do lixiviado.

4.1 Caracterização da área de coleta

As amostras de solo e de lixiviado foram coletados na Central de Tratamento de Resíduos (CTR) de Londrina, situada no distrito Maravilha - PR. A CTR recebe os RSU do município de Londrina – PR desde 2010. Possui uma área total de 30 alqueires e 6 células (capacidade aproximada de 430 mil m³), das quais 5 estão finalizadas e 1 está em operação. A CTR conta com 5 lagoas para tratamento primário de lixiviado com capacidade de 15.000 m³ no total, estações de queima de gases, 4 galpões de compostagem, sede administrativa, guarita e balança para a pesagem dos caminhões de coleta (ALVARES, 2021).

A coleta de solo foi realizada na célula ativa e a de lixiviado foi feita na lagoa de tratamento 1, nas seguintes coordenadas geográficas (-23.455094433591718° S; -51.052019510874736° W e -23.45542786415741° S; -51.054330319613435° W), respectivamente. O lixiviado foi coletado diretamente da canalização vinda das células do aterro sanitário, sendo considerado um lixiviado bruto.

Nas Figuras 7 e 8 é possível observar a localização da CTR, algumas de suas estruturas e os locais de coleta, respectivamente.

Figura 7 - Estruturas da CTR Maravilha. (a) Vista superior das lagoas de tratamento primário do lixiviado, onde, ao fundo se observa os galpões de compostagem; (b) Célula ativa; (c) Estação de queima de gás de uma célula finalizada



(a)



(b)



(c)

Fonte: Autoria própria (2023)

Figura 8 - Pontos de coleta na CTR – Maravilha. (a) Lagoa 1 – ponto de coleta do lixiviado; (b) Coleta de lixiviado; (c) Ponto de coleta de solo, perto da célula em funcionamento; (d) Coleta de solo



(a)



(b)



(c)



(d)

Fonte: Autoria própria (2023)

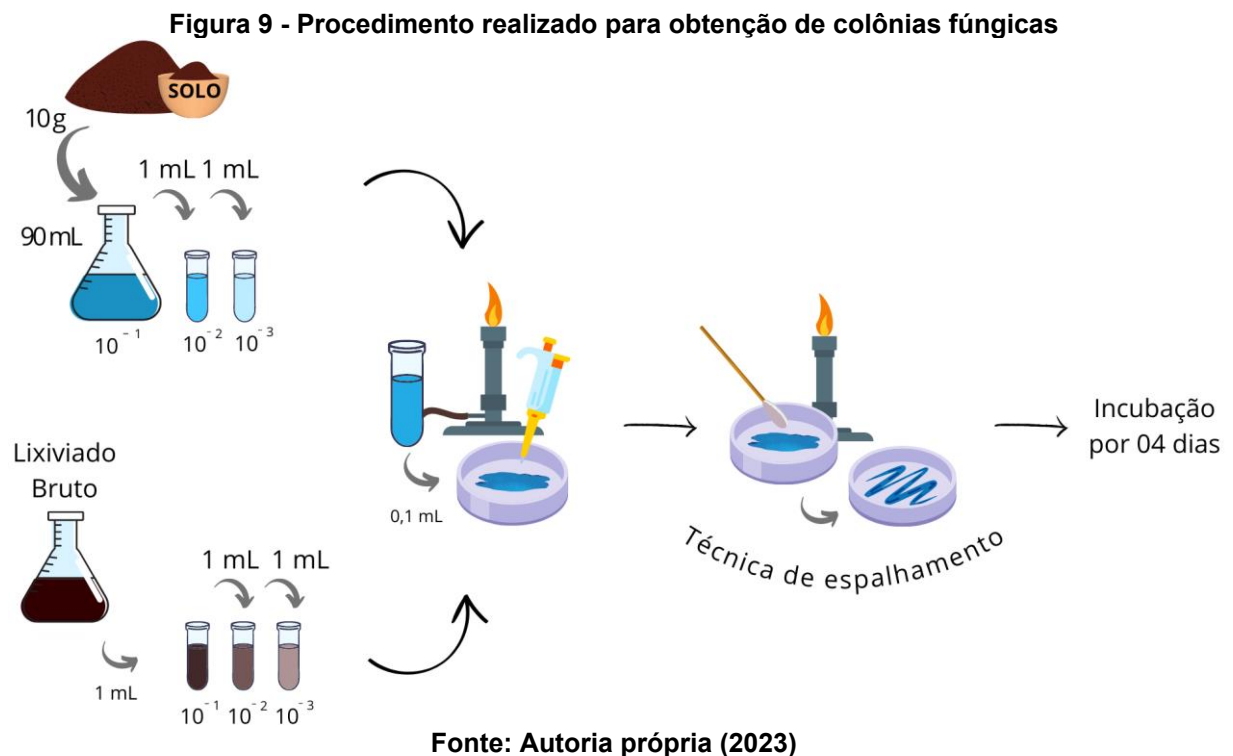
Para a montagem das unidades experimentais (UE) foram coletados 20 L de lixiviado, utilizando quatro galões higienizados de 5 L para os experimentos de microrremediação e potes estéreis de 100 mL para a seleção de fungos autóctones. O lixiviado foi mantido congelado para não ter alteração das características até o momento de utilização nos ensaios de microrremediação e toxicidade. Coletou-se solo da camada superficial de cobertura da célula ativa de disposição de resíduos sólidos, utilizando uma pá estéril, que foi acondicionado em sacos plásticos estéreis, com a finalidade de realizar a seleção de fungos autóctones.

4.2 Seleção de fungos para utilização na micorremediação

A metodologia para o isolamento fúngico seguiu as etapas realizadas por SILVA et al. (2011), com adaptações. Pesou-se 10 g de amostra do solo coletado no aterro sanitário e fez-se a diluição em 90 mL de solução salina 0,8%, para que fosse obtida uma diluição denominada 10^{-1} , ou seja, uma solução diluída dez vezes. Então, a partir da solução 10^{-1} foi retirada uma alíquota de 1 mL da diluição, que por sua vez, foi inserida em um recipiente contendo 9 mL da solução salina a 0,8%, para a obtenção de uma diluição denominada 10^{-2} . Esse procedimento foi realizado até a obtenção da diluição 10^{-3} . Adicionou-se 0,1 mL de cada uma das diluições (10^{-1} , 10^{-2} e 10^{-3}) em placas de Petri contendo ágar Sabouraud acrescido de cloranfenicol (100 mg L^{-1}) utilizando a técnica de espalhamento. O procedimento foi realizado em duplicata.

Para o isolamento de fungos das amostras de lixiviado seguiu-se o mesmo processo descrito para o solo, sendo a diferença que se diluiu 1 mL de lixiviado em 9 mL de solução salina 0,8%. Os demais passos foram exatamente iguais. As placas foram incubadas a $28 \pm 1 \text{ }^\circ\text{C}$, durante quatro dias.

Na Figura 9 é apresentada a representação esquemática do procedimento de diluição em série e a técnica de espalhamento para obtenção do crescimento de colônias de fungos para posterior isolamento.



Após a incubação foram realizadas análises quantitativas com o objetivo de determinar o número de Unidades Formadoras de Colônias (UFC) por mL de cada placa amostral do lixiviado e por g de cada placa amostral de solo. As colônias de cada placa amostral foram contadas e utilizou-se a Equação 1 para o cálculo das UFCs:

$$UFC = (n^\circ \text{ de colônias}) \times 10^* \times (\text{diluição utilizada para contagem}) \text{ Eq. (1)}$$

Onde:

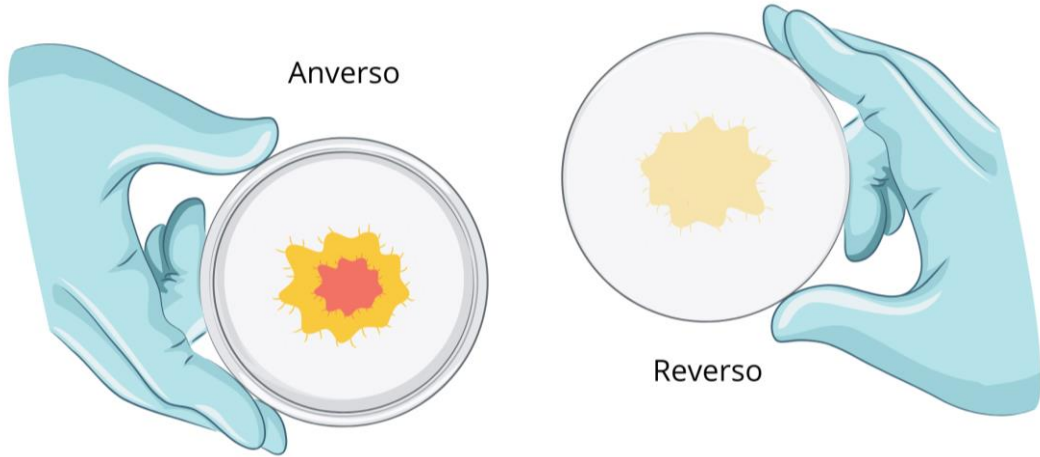
UFC = Unidade Formadora de Colônia;

10^* = Fator de correção a ser utilizado quando o volume de amostra inoculado for 0,1 mL.

Após este processo, os fungos de maior incidência foram selecionados para o isolamento em colônias gigantes em ágar Sabouraud e incubados a 28 ± 1 °C durante quatro dias.

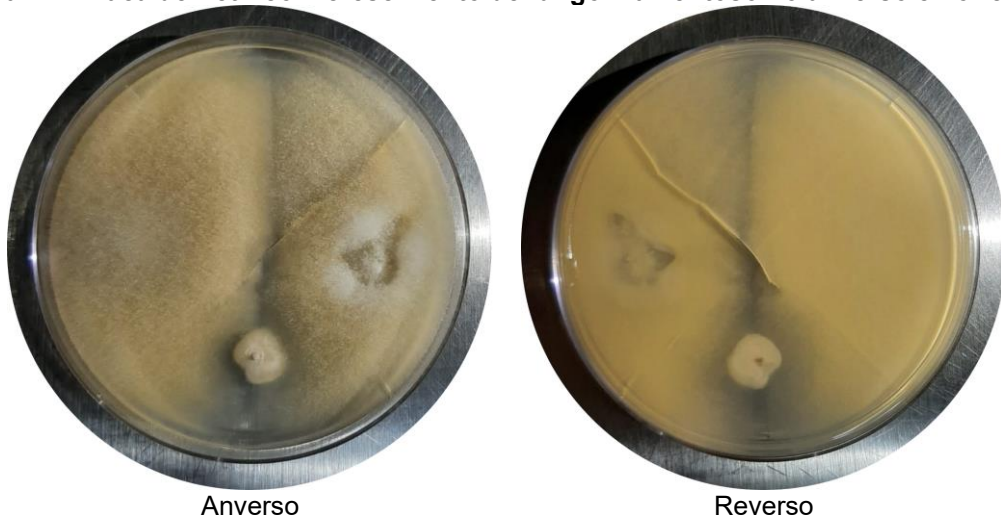
A identificação fúngica foi realizada com base no guia de identificação de fungos (Larone's medically important fungi: A guide to identification), de Walsh et al. (2018), utilizando as características microscópicas e macroscópicas dos fungos, analisando o anverso (vista superior da colônia na placa de Petri) e o reverso (vista do fundo da placa de Petri) (Figuras 10 e 11). Desta forma, cada colônia gigante crescida nas placas de Petri foi caracterizada por meio de análise macroscópica (textura, coloração e diâmetro das colônias) e microscópica, pela técnica do microcultivo, para análise dos micélios vegetativos e reprodutor dos fungos filamentosos e das células das leveduras. Após a identificação dos fungos selecionados, as amostras foram transferidas para o meio Sabouraud inclinado em tubos de ensaio (18 × 180 mm). O procedimento realizado nesta etapa está ilustrado na Figura 12.

Figura 10 - Representação da placa de Petri no anverso e no reverso



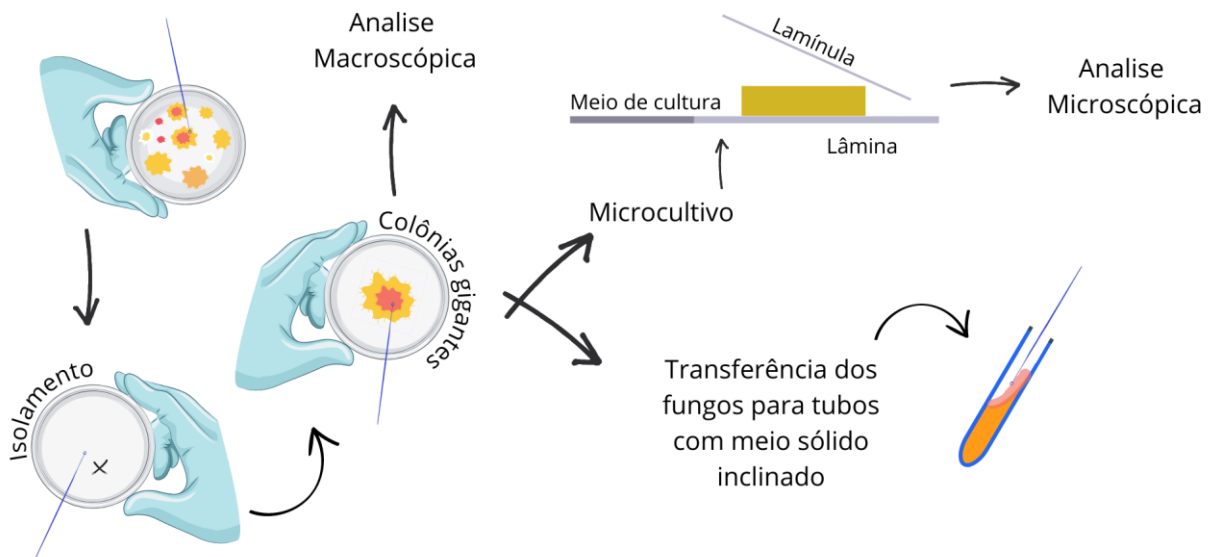
Fonte: Autoria própria (2023)

Figura 11 - Placa de Petri com crescimento de fungo filamentososo no anverso e no reverso



Fonte: Autoria própria (2023)

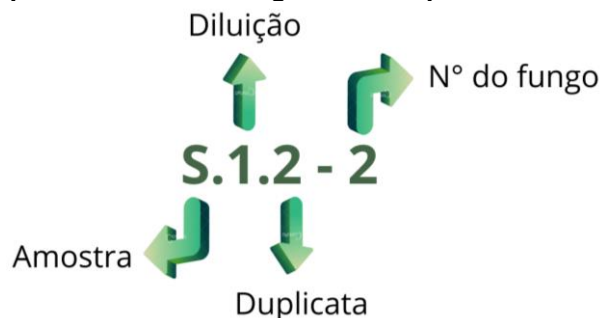
Figura 12 - Procedimento realizado para identificação dos fungos isolados



Fonte: Autoria própria (2023)

Para facilitar a identificação dos fungos criou-se um código considerando a amostra original, a diluição empregada e o número da colônia isolada (Figura 13), onde: “S” indica a amostra retirada do solo, e “L” do lixiviado, a diluição é representada pela letra “B” - bruto (sem diluição) e pelos números 1 e 2, que indicam as diluições 10^{-1} e 10^{-2} que foram utilizadas, a duplicata é representada pelos números 1 e 2, indicando a primeira e a segunda duplicata e por fim, o número do fungo a ser identificado, indicado pelo dígito ao final do código.

Figura 13 - Esquema representativo do código utilizado para identificar as amostras fúngicas



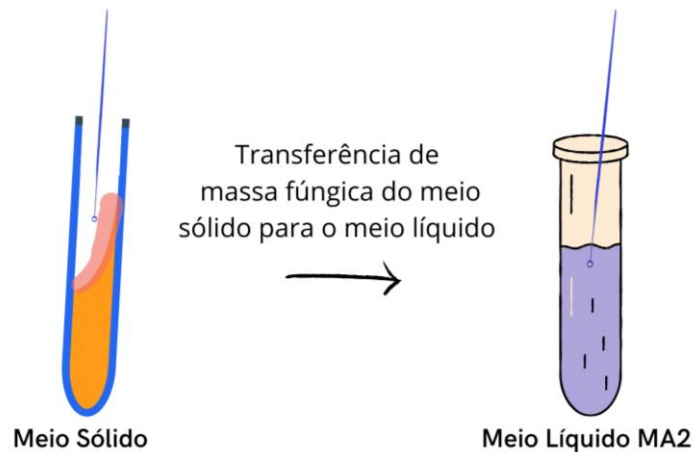
Fonte: Autoria própria (2023)

4.3 Preparação do inóculo para a etapa de micorremediação

Os inóculos foram preparados com as cepas de fungos selecionadas. Para esta etapa foram selecionados 3 isolados (2 fungos filamentosos e 1 levedura), utilizando dois critérios: (i) fungos de maior incidência nas amostras e (ii) fungos que chegassem ao nível de semelhança com espécies conhecidas. Assim, os fungos, L. B. 1 - 1, semelhante a *Candida spp*, L. B . 2 - 1, semelhante a *Trichophyton* e S.1.1 - 5, semelhante a *Mucor*, foram selecionados.

Cada cepa de fungo teve uma porção retirada da massa que cresceu no tubo de ensaio em meio inclinado que foi transferido para 10 mL de meio líquido MA2 (Malte 2% e Peptona 0,2% - Figura 14), sendo incubados em shaker, a 140 rpm a 28°C, por 04 dias, para ser utilizado na próxima fase de micorremediação.

Figura 14 - Procedimento realizado para a preparação do inóculo para a micorremediação



Fonte: Autoria própria (2023)

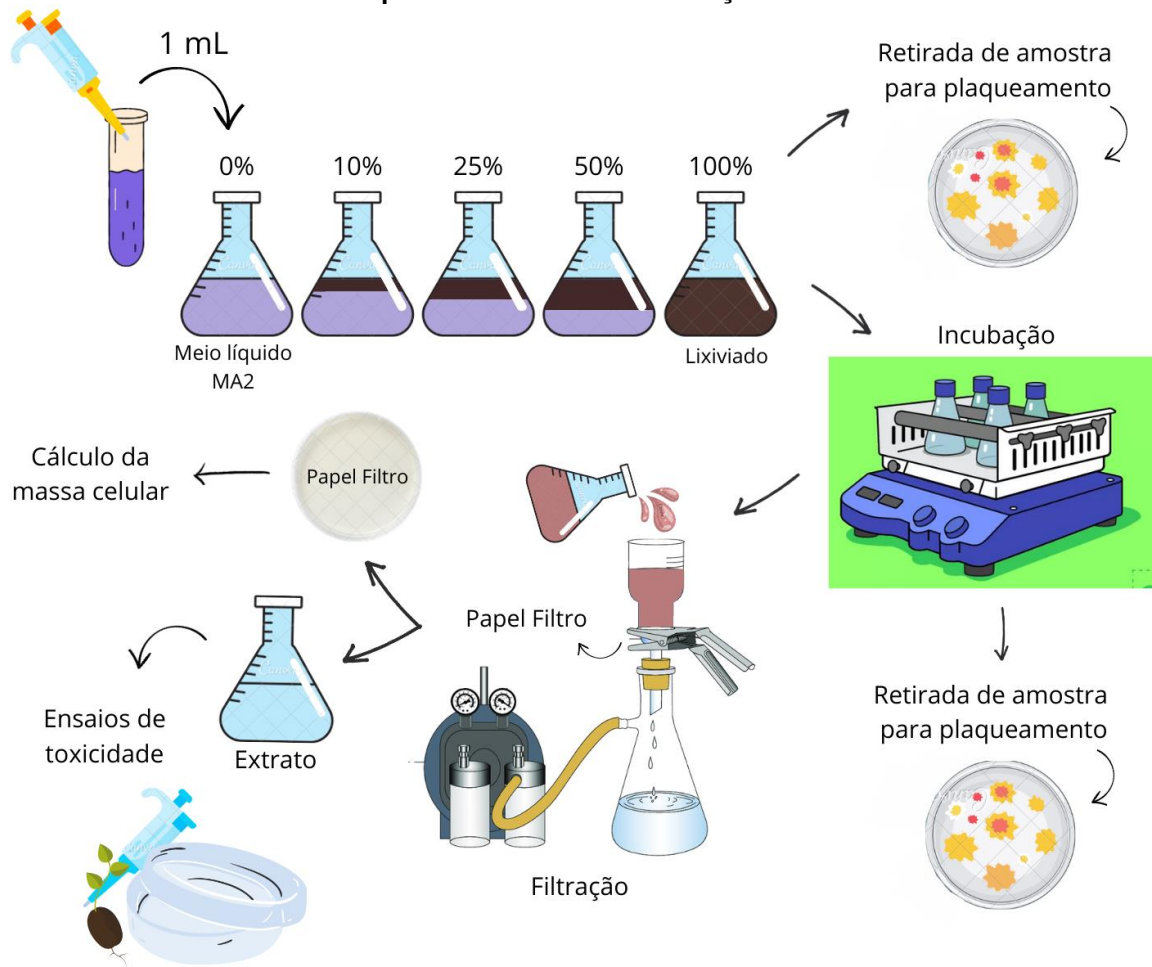
4.4 Micorremediação

Utilizando a metodologia proposta no trabalho de Bonassa (2021) com modificações, foram preparados em erlenmeyers de 250 mL meio líquido contendo diferentes concentrações de lixiviado (0%, 10%, 25%, 50% e 100%). O volume final de meio líquido em cada erlenmeyer foi de 100 mL, sendo 0% preparado somente com meio líquido MA2 (Malte 2% e Peptona 0,2%), 100% preparado somente com o lixiviado e as demais concentrações com 10 mL, 25 mL e 50 mL de lixiviado acrescido de 90 mL, 75 mL e 50 mL de meio líquido MA2 (Malte 2% e Peptona 0,2%), respectivamente. Após a preparação dos meios líquidos nos erlenmeyers, realizou-se a inoculação com 1 mL de inóculo previamente preparado (item 4.3). Após a montagem das UE, retirou-se 0,1 mL do líquido formado para ser analisado o crescimento microbiano em placas de Petri. As UE foram incubadas em shaker, a 140 rpm a 28°C, por 7 dias.

Depois de transcorrido o período de incubação, foram retiradas alíquotas de 0,1 mL para inoculação em placas de Petri, espalhadas pela superfície da placa utilizando a alça de Drigalski, sendo incubadas por 4 dias a 28°C.

Após essa etapa realizou-se a separação da massa celular e do extrato líquido (que foi utilizado nos ensaios de toxicidade) por meio de filtração a vácuo utilizando papel filtro. Os extratos filtrados foram submetidos a testes de toxicidade com *Allium cepa* e a massa celular retida no papel filtro foi colocada em estufa a 80°C para determinação da massa seca. Após esse procedimento as amostras foram pesadas para obtenção do peso seco (massa celular), conforme ilustrado na Figura 15.

Figura 15 - Procedimento realizado para a montagem das unidades experimentais (UE) para o processo de micorremediação



Fonte: Autoria própria (2023)

Analisando os resultados obtidos a partir das UEs montadas, com a finalidade de realizar uma melhor comparação dos efeitos do tratamento foi realizado uma UE adicional inoculada com o fungo L.B. 2 - 1, onde as UEs foram montadas em duplicata seguindo todo o procedimento indicado no item 4.4. a diferença é que uma das duplicadas (L.B.2 - 1.F) foi filtrada após a montagem, não passando pela incubação, fornecendo assim dados iniciais da massa celular inoculada (sem o período de crescimento) e das condições tóxicas da UE, e a outra duplicata (L.B.2 - 1.D) teve um período de duração no processo de micorremediação maior, sendo 9 dias no total.

4.5 Ensaios de toxicidade com *Allium cepa*

Para essa etapa seguiu-se as metodologias de Bagur-González et al. (2011), Sommaggio (2016), Silva; Tofolo (2017) e Leles (2017), utilizando a semente de *Allium cepa* (cebola) como bioindicador.

Após a obtenção dos extratos líquidos descritos no item 6.3, iniciou-se a montagem das UE para avaliação da toxicidade. Para a germinação das sementes foram utilizadas placas de Petri, contendo papel filtro em formato circular, sendo posicionada no interior das placas de Petri expostas a luz ultravioleta por 15 minutos na capela de fluxo laminar para esterilização.

Em cada placa, devidamente identificada, foram adicionadas 10 sementes de cebola sobre o papel filtro estéril e 2 mL de amostra de extrato líquido obtido após filtração do meio líquido. As placas foram incubadas no escuro por 6 dias (144 horas), para a germinação das sementes e crescimento das radículas (Figura 16).

Figura 16 - Procedimento realizado para a montagem do ensaio de toxicidade



Fonte: Autoria própria (2023)

4.5.1 Análises macroscópicas

As análises macroscópicas foram realizadas após o período de incubação das sementes de *Allium cepa*, conforme as etapas seguintes:

- (1) Quantificação das sementes germinadas;
- (2) Medição do tamanho das raízes;
- (3) Registro de possíveis alterações nas raízes (morfologia – formato, textura, comprimento, espessura e mudança de cor);

(4) Determinação dos índices macroscópicos.

No Quadro 6 pode-se observar os cálculos que foram realizados para determinação dos índices macroscópicos:

Quadro 6 - Cálculo dos índices macroscópicos

GRS (%) - Germinação relativa de sementes	$GRS = \frac{\text{número de sementes germinadas com amostra}}{\text{número de sementes germinadas no controle negativo}} * 100$
CRR (%) – Crescimento relativo da radícula	$CRR = \frac{\text{Comprimento médio da radícula com amostra}}{\text{comprimento médio da radícula no controle negativo}} * 100$
IG (%) – Índice de germinação	$IG = \frac{GRS * CRR}{100}$
IGN (%) – Índice de porcentagem de germinação residual normalizado	$IGN = \frac{\text{Germ x} - \text{Germ controle}}{\text{Germ controle}}$ Germ x = porcentagem média de sementes germinadas em cada amostra. Germ controle = porcentagem de sementes germinadas no controle.
IER (%) – Índice de porcentagem de alongamento radical residual normalizado	$IER = \frac{\text{Along x} - \text{Along controle}}{\text{Along controle}}$ Along x = comprimento médio da radícula das sementes germinadas em cada amostra. Along controle = comprimento médio da radícula das sementes germinadas no controle.

Fonte: Bagur-González et al. (2011) e Leles (2017)

Segundo a metodologia de Bagur-Gonzales et al. (2011), os índices de IGN e IER são classificados por meio de diferentes níveis de toxicidade, como mostra o Quadro 7:

Quadro 7 - Níveis de toxicidade considerando os índices de germinação

ÍNDICES	NÍVEL DE TOXICIDADE
Maior que 0	Hormese
0 a -0,25	Toxicidade Baixa
-0,25 a -0,5	Toxicidade Moderada
-0,5 a -0,75	Toxicidade Alta
-0,75 a -1,0	Toxicidade muito Alta

Fonte: Bagur-Gonzales et al. (2011)

A hormese corresponde a baixas concentrações de contaminante, não significando que este não seja prejudicial aos organismos presentes no meio.

4.6 Análise de dados

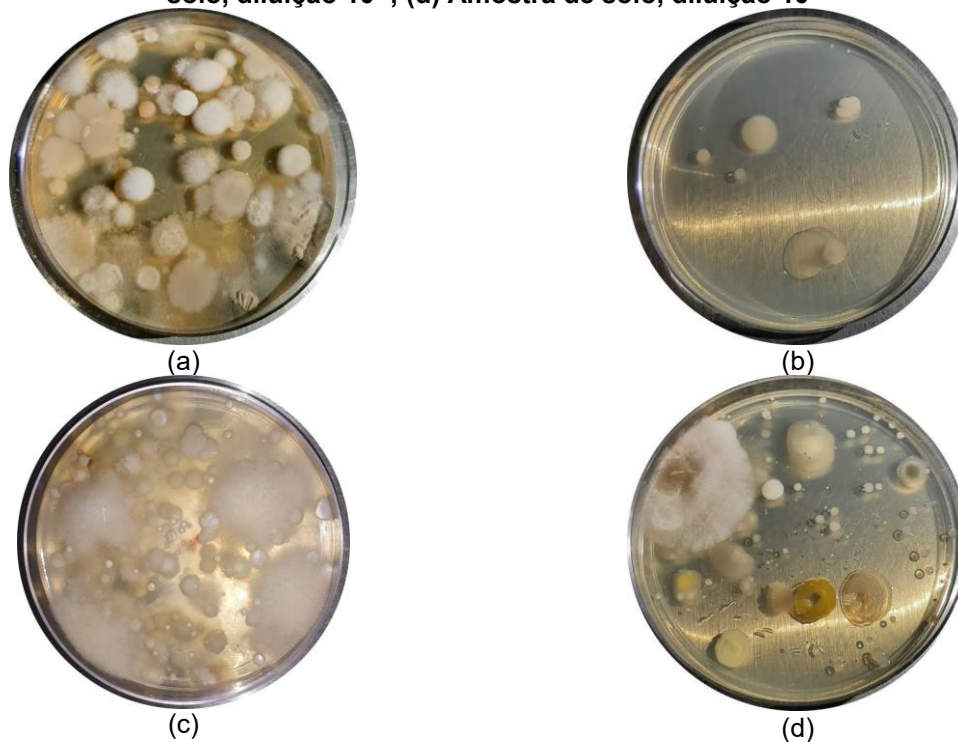
Com base nos resultados obtidos a análise de dados foi realizada considerando a massa celular fúngica dos fungos inoculados nas UEs, assim como a relação entre a massa celular fúngica e os níveis de toxicidade.

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 Seleção de fungos para utilização na biorremediação

Para a seleção dos fungos para utilização na micorremediação foram utilizadas as placas de Petri inoculadas com as amostras proveniente do lixiviado bruto e da diluição 10^{-1} do lixiviado e das amostras de solo provenientes das diluições 10^{-1} e 10^{-2} (Figura 17). O número de UFCs de cada amostra está presentes na Tabela 2.

Figura 17 - Placas com crescimento fúngico das amostras coletadas com suas respectivas diluições. (a) Amostra de lixiviado bruto; (b) Amostra de lixiviado, diluição 10^{-1} ; (c) Amostra de solo, diluição 10^{-1} ; (d) Amostra de solo, diluição 10^{-2}



Fonte: Autoria própria (2023)

Tabela 2 - Número de Unidades Formadoras de Colônias (UFCs) das amostras de lixiviado e de solo

Código	UFC
L.B	700 UFC/mL
L.1	550 UFC/mL
S.1	9050 UFC/g
S.2	31000 UFC/g

(L.B) = Amostra de lixiviado bruto; (L.1) = Amostra de lixiviado, diluição 10^{-1} ; (S.1) = Amostra de solo, diluição 10^{-1} ; (S.2) = Amostra de solo, diluição 10^{-2} .

Fonte: Autoria própria (2023)

As diluições 10^{-2} para a amostra de lixiviado e 10^{-3} para ambas as amostras (lixiviado e solo) não obtiveram crescimento fúngico.

O número de UFCs obtido indica que tanto o lixiviado quanto o solo que esteve em contato com esse efluente, apesar de serem muito tóxicos, são meios que possuem uma boa diversidade de fungos.

Foram selecionadas 12 colônias da amostra de solo e 8 colônias da amostra de lixiviado para realizar análises macroscópicas e microscópicas. No Quadro 8 podem ser observados os resultados das características macroscópicas das colônias gigantes isoladas.

Quadro 8 - Características macroscópicas das colônias fúngicas isoladas

AMOSTRA	Nº DA COLÔNIA	COR	TAMANHO (cm)	ASPECTO	BORDA	SUPERFÍCIE
L.B.1	1	Âmbar	0,6 - 1,0	Seco	Irregular	Rugosa
	2	Âmbar	0,6 - 1,0	Creoso	Irregular	Sulcos
L.B.2	1	Branca	1,0 – 1,5	Algodonoso	Inteira	Lisa
L.1.1	1	Vinho	1,0 – 1,5	Algodonoso	Irregular	Sulcos
	4	Branca	1,0 – 1,5	Aveludado	Inteira	Protuberância
	5	Preta	0,1 – 0,5	Cotonoso	Inteira	Protuberância
L.1.2	1	Âmbar	0,6 - 1,0	Creoso	Inteira	Lisa
	2	Transparente	1,0 – 1,5	Úmido	Inteira	Lisa
S.1.1	1	Branca	> 1,5	Algodonoso	Irregular	Protuberância
	4	Branca	> 1,5	Aveludado	Irregular	Lisa
	5	Âmbar	> 1,5	Aveludado	Irregular	Protuberância
S.1.2	1	Âmbar	> 1,5	Algodonoso	Irregular	Protuberância
	4	Âmbar	> 1,5	Aveludado	Irregular	Sulcos
S.2.1	1	Alaranjada	> 1,5	Algodonoso	Inteira	Lisa
	2	Amarela	> 1,5	Seco	Inteira	Lisa
S.2.2	1	Vinho	> 1,5	Algodonoso	Irregular	Lisa
	2	Branca	1,0 – 1,5	Algodonoso	Irregular	Lisa
	3	Âmbar	1,0 – 1,5	Creosa	Irregular	Lisa
	5	Transparente	1,0 – 1,5	Creoso	Inteira	Lisa
	6	Branca	1,0 – 1,5	Creoso	Irregular	Rugosa

(L.B.1) = Amostra de lixiviado bruto, primeira duplicata; (L.B.2) = Amostra de lixiviado bruto, segunda duplicata; (L.1.1) = Amostra de lixiviado, diluição 10^{-1} , primeira duplicata; (L.1.2) = Amostra de lixiviado, diluição 10^{-1} , segunda duplicata; (S.1.1) = Amostra de solo, diluição 10^{-1} , primeira duplicata; (S.1.2) = Amostra de solo, diluição 10^{-1} , segunda duplicata; (S.2.1) = Amostra de solo, diluição 10^{-2} , primeira duplicata; (S.2.2) = Amostra de lixiviado, diluição 10^{-2} , segunda duplicata.

Fonte: Autoria própria (2023)

Foi observada a produção de pigmento somente na colônia fúngica de código S.2.1 - 2 (amostra de solo, diluição 10^{-2} , primeira duplicata, colônia nº 2). As características microscópicas analisadas estão apresentadas no Quadro 9.

Quadro 9 - Características microscópicas das colônias fúngicas isoladas

AMOSTRA	Nº DA COLÔNIA	TIPOLOGIA	CARACTERÍSTICAS
L.B.1	1	Levedura	Possui pseudo-hifa com blastocôndios alongados
	2	Filamentoso	Hifas cenocíticas, reprodução assexuada com presença de conidióforo oval
L.B.2	1	Filamentoso	Hifas cenocíticas, reprodução assexuada com presença de conidióforo oval
L.1.1	1	Filamentoso	Hifas septadas, reprodução assexuada com presença de conidióforo oval
	4	Filamentoso	Hifas cenocíticas, reprodução assexuada com presença de conidióforo oval
	5	Filamentoso	Hifas septadas, reprodução assexuada com presença de conidióforo retangular
L.1.2	1	Levedura	Reprodução por brotamento
	2	Levedura	Reprodução por brotamento
S.1.1	1	Filamentoso	Hifas cenocíticas, reprodução sexuada com presença de esporangióforos
	4	Filamentoso	Hifas septadas, reprodução assexuada com presença de artroconídios
	5	Filamentoso	Hifas cenocítica, reprodução sexuada com presença de esporangióforos
S.1.2	1	Levedura	Não identificado
	4	Filamentoso	Hifas cenocítica, reprodução sexuada com presença de esporangióforos
S.2.1	1	Filamentoso	Hifas cenocítica, reprodução sexuada com presença de esporangióforos
	2	Filamentoso	Hifas septadas, reprodução assexuada com presença de conidióforo oval
S.2.2	1	Filamentoso	Hifas cenocíticas, reprodução assexuada com presença de conidióforo oval
	2	Filamentoso	Hifas septadas, reprodução assexuada com presença de conidióforo oval
	3	Levedura	Possui pseudo-hifa com blastocôndios e artroconídios.
	5	Levedura	Possui blastocôndias e artroconídios
	6	Levedura	Possui pseudo-hifas, com reprodução por brotamento

(L.B.1) = Amostra de lixiviado bruto, primeira duplicata; (L.B.2) = Amostra de lixiviado bruto, segunda duplicata; (L.1.1) = Amostra de lixiviado, diluição 10^{-1} , primeira duplicata; (L.1.2) = Amostra de lixiviado, diluição 10^{-1} , segunda duplicata; (S.1.1) = Amostra de solo, diluição 10^{-1} , primeira duplicata; (S.1.2) = Amostra de solo, diluição 10^{-1} , segunda duplicata; (S.2.1) = Amostra de solo, diluição 10^{-2} , primeira duplicata; (S.2.2) = Amostra de lixiviado, diluição 10^{-2} , segunda duplicata.

Fonte: Aatoria própria (2023)

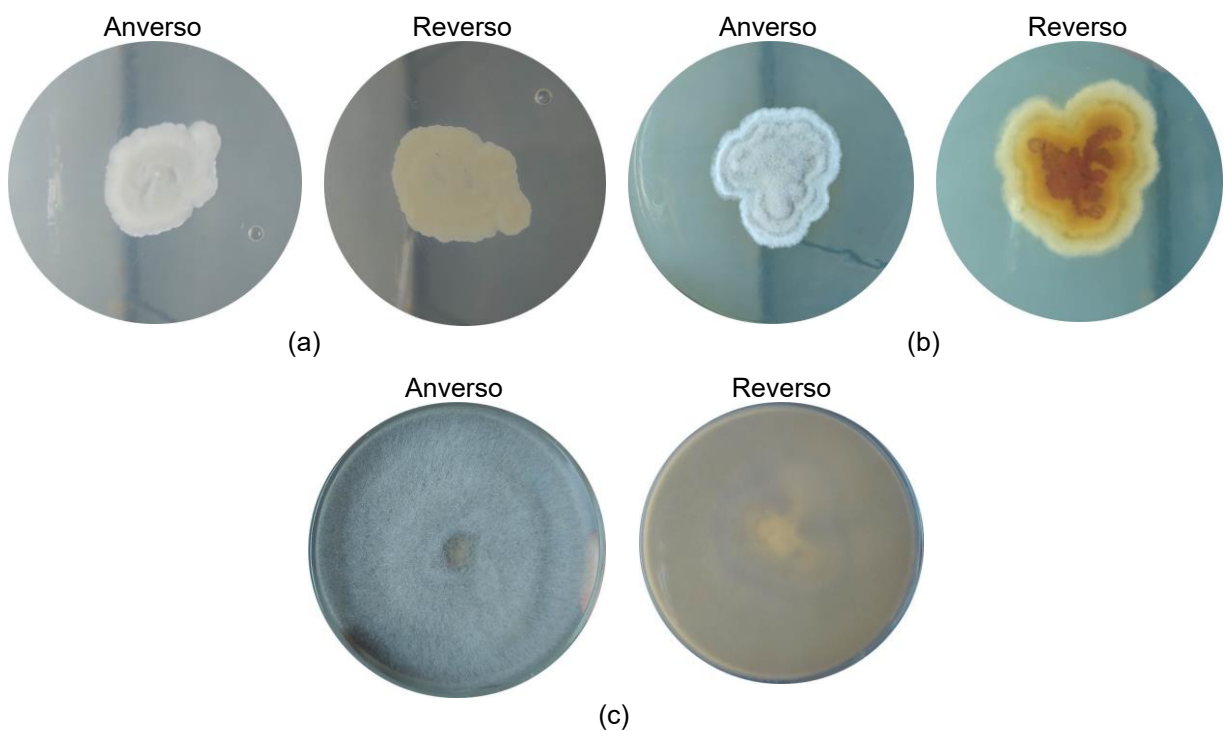
Na Figura 18 se encontram os fungos selecionados para a etapa de micorremediação. A levedura de código L.B.1 - 1, é semelhante à *Candida spp.*, os fungos filamentosos de código L.B.2 - 1 e S.1.1 - 5 são semelhantes à *Trichophyton spp.* e a *Mucor spp.*, respectivamente.

Segundo Goes (2009), o gênero *Candida* pertence à família *Cryptococcaceae*, da classe *Ascomycetes* e filo *Ascomycota* sendo caracterizado por leveduras com reprodução por brotamento ou gemulação. Algumas espécies, como a *Candida albicans* possuem pseudo-hifas. Esse gênero possui entre 150 a 200

espécies diferentes, sendo a principal levedura causadora de patologias em humanos (MEDEIROS, 2021).

Muitas espécies de levedura da *Candida spp.* têm se destacado em estudos de biorremediação por conta dos biossurfactantes que este organismo produz, sendo aplicados para micorremediar petróleo, óleo motor, metais tóxicos e hidrocarbonetos aromáticos policíclicos (HAPs) (SOARES et al., 2011; DURVAL, 2017).

Figura 18 - Fungos selecionados para a micorremediação. (a) Fungo L. B. 1 - 1; (b) Fungo L. B. 2 - 1; (c) Fungo S. 1. 1 - 5



(L.B.1 - 1) = levedura semelhante à *Candida spp.* proveniente da amostra de lixiviado bruto, primeira duplicata; (L.B.2 - 1) = fungo filamentososo semelhante à *Trichophyton spp.* proveniente da amostra de lixiviado bruto, segunda duplicata; (S.1.1 - 5) = fungo filamentososo semelhante a *Mucor spp.* proveniente da amostra de solo, diluição 10^{-1} , primeira duplicata.

Fonte: Autoria própria (2023)

O fungo filamentososo *Trichophyton spp* pertence ao filo *Ascomycota* que possui micro e macroconídios sendo classificado como um fungo queratinofílico, ou seja, esse grupo de fungo utiliza proteínas queratinosas como fonte de carbono e nitrogênio, convertendo substratos queratinosos em compostos de baixo peso molecular. Algumas espécies de *Trichophyton spp* se mostraram eficientes na biorremediação de corantes azo têxteis e pentaclorofenol (SANTOS, 2023).

Mucor é um gênero de fungos da ordem Mucolares, pertencem ao filo *Zygomycota* e classe *Zygomycetes*, formados de células multicelulares de

crescimento rápido com presença de hifas cenocíticas. Utilizam a matéria orgânica como fonte de energia e podem degradar carbono. Algumas espécies apresentam termotolerância e alta produção enzimática, o que aumenta a chance de micorremediação de compostos tóxicos (MEDEIROS, 2013; CÂNDIDO, 2022).

Fungos deste gênero se mostram promissores no processo de biorremediação de petroderivados, corantes azo têxteis, metais tóxicos, fenóis e benzeno (SOARES et al., 2011; MEDEIROS, 2013; SILVA, 2017; ALMEIDA, 2018; CÂNDIDO, 2022).




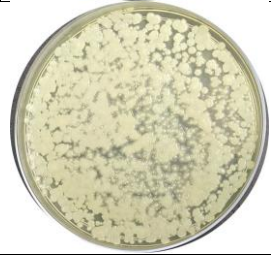







5.2 Micorremediação

Os resultados da micorremediação se dividiram entre: (i) crescimento fúngico das UEs em placa de Petri, (ii) massa celular e (iii) teste de toxicidade.

Realizando uma comparação visual entre as placas com crescimento fúngico obtidas a partir das UEs da levedura L.B.1 – 1 (semelhante à *Candida spp.*) antes e após a micorremediação (inicial e final, respectivamente - Quadro 10), percebe-se que o inóculo não apresenta contaminação, assim considera-se que todas as UEs foram inoculadas com o fungo selecionado. Tanto nas placas iniciais quanto finais das UEs 0, 10, 25 e 50% nota-se a predominância do fungo inoculado. A partir da placa inicial da UE-25% é possível perceber o crescimento de colônias fúngicas com morfologias diferentes do organismo inoculado. Já na placa final da UE-100%, o fungo inoculado teve taxa de crescimento bem reduzida, o que indica que os fungos presentes no lixiviado bruto podem ter inibido o crescimento do fungo inoculado durante o período de biorremediação. As placas correspondentes ao final da micorremediação apresentam maior crescimento fúngico do que as placas correspondentes ao início da micorremediação para as UEs de 0, 10 e 25% de lixiviado, o que indica que o fungo inoculado resistiu às condições tóxicas deste meio.

Vale salientar que a amostra de lixiviado utilizada neste estudo não passou por nenhum processo de desinfecção ou esterilização, sendo, portanto, um efluente com microrganismos viáveis, que submetidos às condições adequadas de incubação poderiam se reproduzir e influenciar os organismos inoculados nos ensaios de micorremediação.

Quadro 10 - Crescimento fúngico da unidade experimental (UE) realizada com o fungo L.B.1 - 1

UE	INICIAL	FINAL	MASSA CELULAR FINAL (g)
Inóculo		-	-
0			0,16
10			0,24
25			0,13
50			0,02
100			NQ

(L.B.1 - 1) = levedura semelhante à *Candida spp.* proveniente da amostra de lixiviado bruto, primeira duplicata; (NQ) = não quantificado, fora do limite de detecção da balança.

Fonte: Autoria própria (2023)

Comparando as massas celulares obtidas nota-se que a UE-10% possui um maior valor de massa celular do que a UE-0%, o que indica maior adaptação dos microrganismos presentes nesta UE. A UE-50% obteve os menores valores de massa celular (0,02 g) o que indica que em altas concentrações de lixiviado, a levedura apresenta inibição. Não foi possível quantificar a UE-100%.

Para as UEs inoculadas com o fungo L.B.2 - 1, não foram registrados os crescimentos fúngicos em placas, sendo os resultados complementados na montagem da duplicata da UE inoculada com o fungo L.B.2 - 1.

No Quadro 11 é possível observar as placas de crescimento fúngico proveniente das UEs realizada com o fungo filamentososo S.1.1 – 5 (semelhante à *Mucor spp.*) no início e no final do processo de micorremediação, assim como a massa celular após a micorremediação.



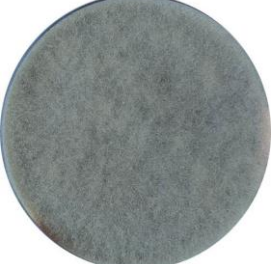








As placas do inóculo e das UE-0% inicial e final, mostram que não houve contaminação fúngica. Comparando as placas iniciais e finais nota-se um aumento das colônias nas UEs 0, 10, 25 e 50% no final da micorremediação, sendo um indicativo de que o fungo conseguiu prevalecer neste ambiente tóxico.

Outro aspecto notável é a diferença na coloração do fungo, segundo Medeiros (2013) devido à semelhança com o fungo *Mucor spp.*, a tonalidade mais cinza pode ser característica do desenvolvimento de esporos.

Na placa final referente à UE-100% verifica-se a ausência do fungo S.1.1 – 5. Como na placa inicial da mesma UE há a presença do fungo inoculado, assume-se que por ser um fungo proveniente da amostra de solo, ao ser inoculado em um meio com microrganismos indígenas de lixiviado, o fungo filamentososo pode ter sofrido a inibição causada pela competição fúngica com os outros organismos mais resistentes presentes no efluente.

A massa celular apresentada indica que a adição crescente de lixiviado teve um impacto significativo no desenvolvimento dos microrganismos, visto que quanto maior a concentração de lixiviado menor a massa celular obtida.

Quadro 11 - Crescimento fúngico da unidade experimental (UE) realizada com o fungo S.1.1 - 5

UE	INICIAL	FINAL	MASSA CELULAR FINAL (g)
Inóculo		-	-
0			0,42
10			0,14
25			0,09
50			0,11
100			NQ

(S.1.1 - 5) = fungo filamentososo semelhante à *Mucor spp.* proveniente da amostra de solo, diluição 10^{-1} , primeira duplicata; (NQ) = não quantificado, fora do limite de detecção da balança.

Fonte: Autorial própria (2023)







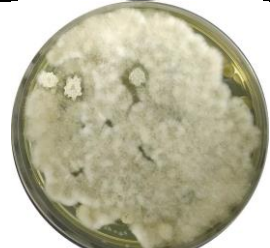





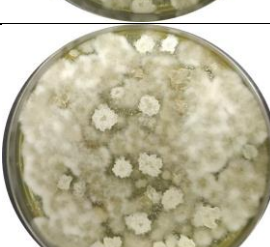

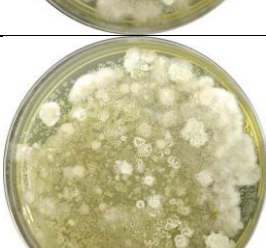
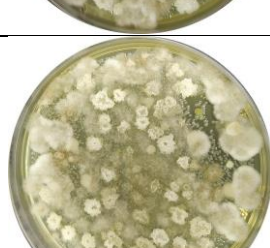

Analisando as placas de crescimento fúngico montadas para ambas as UEs do fungo L.B.2 – 1 (L.B.2 – 1.F, antes da micorremediação e L.B.2 – 1.D, após a micorremediação) percebe-se pelo inóculo e pela UE- 0 que não há contaminação de diferentes colônias fúngicas. Já as placas iniciais das UEs 10, 25, 50 e 100% apontam o crescimento de diferentes colônias fúngicas.

Comparando as placas iniciais antes e após a micorremediação, não se tem muitas diferenças nas características macroscópicas, indicando que o procedimento foi efetuado corretamente.

Analisando as placas após o processo de micorremediação verifica-se que há um aumento nas colônias fúngicas do fungo filamentosso inoculado nas UEs 0, 10, 25 e 50%. A UE-100% indica a inibição do organismo inoculado, assumindo que a concentração de lixiviado ou a competição entre os organismos presentes na amostra inibiram o crescimento do fungo L.B.2 - 1.

No Quadro 12 constam as informações do plaqueamento inicial e final das UEs inoculadas com o fungo filamentosso L.B.2 - 1 antes e após o processo de micorremediação (L.B.2 – 1.F e L.B.2 – 1.D, respectivamente).

Quadro 12 - Crescimento fúngico da unidade experimental (UE) realizada com o fungo L.B.2 – 1

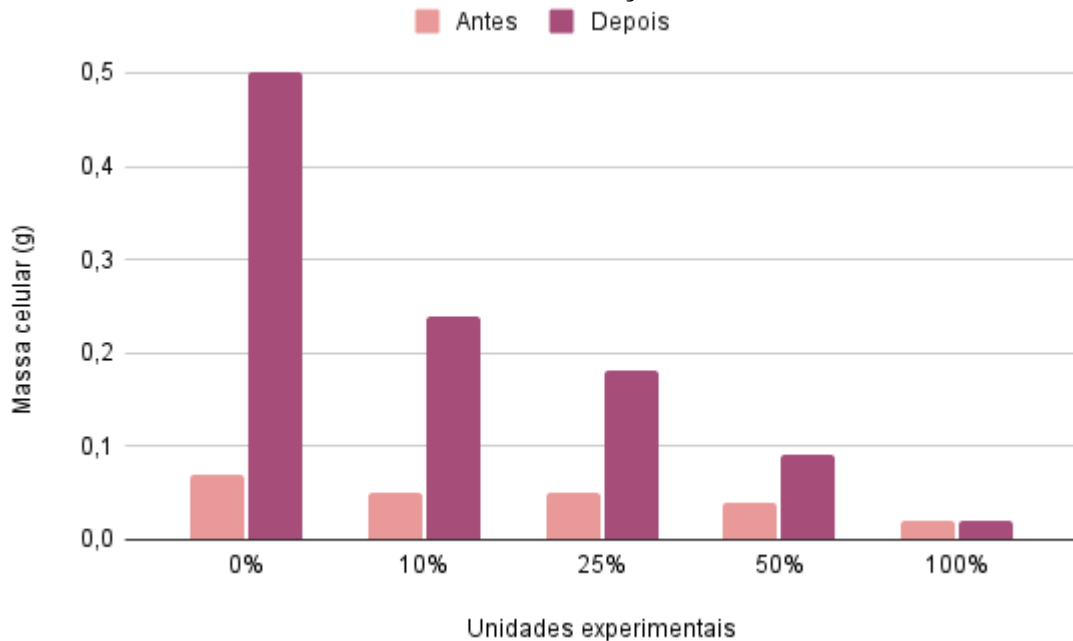
UE	L. B. 2 - 1.F		L.B.2 - 1.D	
	Inicial	Inicial	Final	
Inóculo			-	
0				
10				
25				
50				
100				

(L.B.2 - 1.F) = fungo filamentososo semelhante à *Trichophyton spp.* proveniente da amostra de lixiviado bruto, segunda duplicata, amostragem filtrada antes do processo de micorremediação; (L.B.2 - 1.D) = fungo filamentososo semelhante à *Trichophyton spp.* proveniente da amostra de lixiviado bruto, segunda duplicata, duração maior no processo de micorremediação; (NQ) = não quantificado, fora do limite de detecção da balança.

Fonte: Autoria própria (2023)

A massa celular obtida para as UEs inoculadas com o fungo filamentososo L.B.2 - 1 está apresentada na Figura 19.

Figura 19 - Comparativo da massa celular final do fungo L.B.2 - 1.D antes e depois o processo de micorremediação



(L.B.2 - 1.F) = fungo filamentososo semelhante à *Trichophyton spp.* proveniente da amostra de lixiviado bruto, segunda duplicata, amostragem filtrada antes do processo de micorremediação; (L.B.2 - 1.D) = fungo filamentososo semelhante à *Trichophyton spp.* proveniente da amostra de lixiviado bruto, segunda duplicata, duração maior no processo de micorremediação.

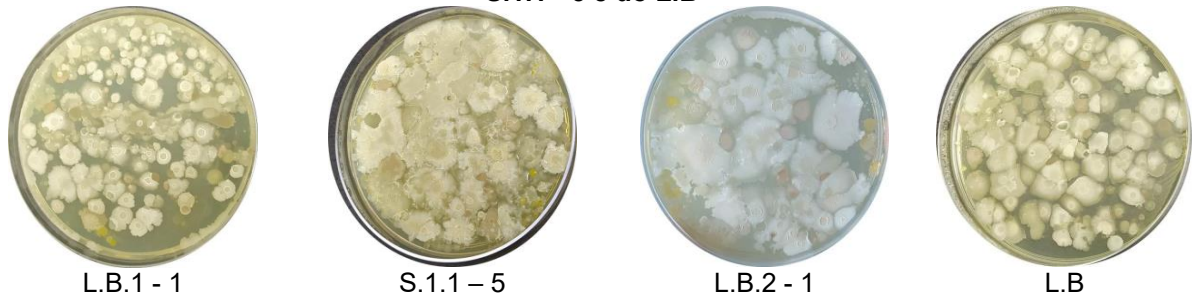
Fonte: Autoria própria (2023)

Comparando a massa celular inicial, sem a etapa da micorremediação (L.B.2 - 1.F) com a massa celular após o processo de micorremediação (L.B.2 - 1), apresentada na Figura 18, nota-se a massa celular após a micorremediação obteve os maiores valores. O aumento de células da UE-0% foi de 33%, seguido de um crescimento de 23% na UE-10% e de um crescimento de 10,5% na UE-25%. Tal resultado indica também que, apesar do grande crescimento, a diferença nas concentrações de lixiviado pode ter influência no aumento celular. As UEs 50 e 100% se mostraram ser um ambiente inóspito para o crescimento microbiano, tendo um crescimento de 2 e 1%, respectivamente, interferindo principalmente no crescimento do fungo inoculado, como pode ser observado nas fotos das placas de Petri apresentadas no Quadro 8, onde observa-se crescimento de outras morfológicas fúngicas diferente da do fungo inoculado.

Devido à prevalência de organismos diferentes do que o inoculado na UE-100% da levedura L.B.1 - 1 e a inibição do fungo filamentososo S.1.1 - 5, apresentada na UE-100% foi realizado o plaqueamento de uma amostra de lixiviado bruto (L.B),

sem o inóculo, para realizar uma comparação das colônias formadas nas placas de Petri. Na Figura 20 é possível fazer a comparação entre as amostras.

Figura 20 - Placas provenientes das unidades experimentais 100% dos fungos L.B.1 - 1, S.1.1 - 5 e do L.B



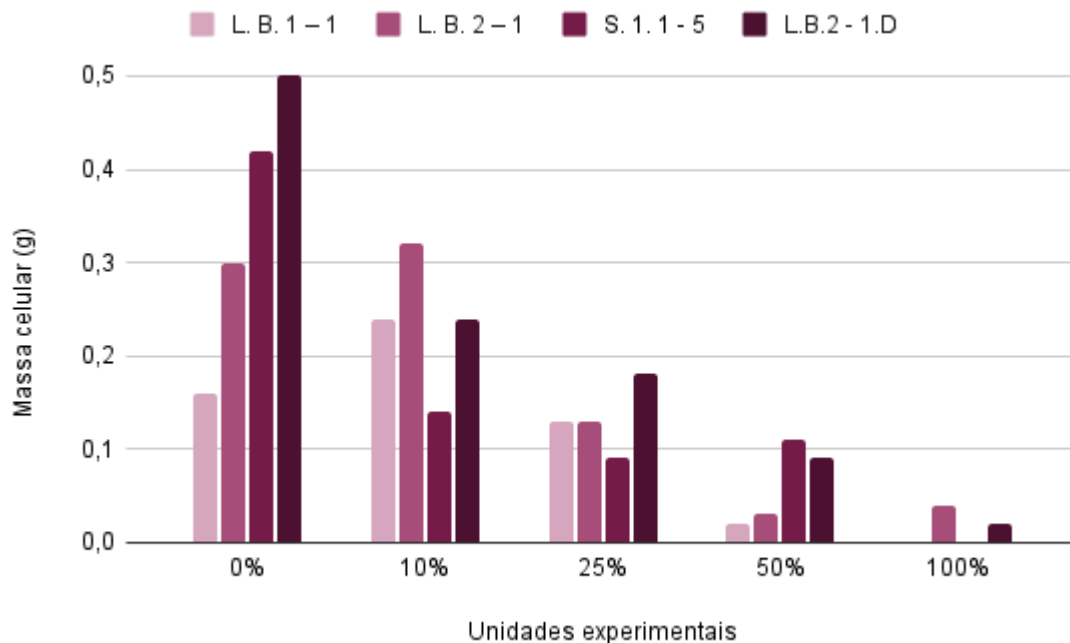
(L.B.1 - 1) = levedura semelhante à *Candida spp.* proveniente da amostra de lixiviado bruto, primeira duplicata; (L.B.2 - 1) = fungo filamentoso semelhante à *Trichophyton spp.* proveniente da amostra de lixiviado bruto, segunda duplicata; (S.1.1 - 5) = fungo filamentoso semelhante a *Mucor spp.* proveniente da amostra de solo, diluição 10^{-1} , primeira duplicata; (L.B.2 - 1.D) = fungo filamentoso semelhante à *Trichophyton spp.* proveniente da amostra de lixiviado bruto, segunda duplicata, duração de 9 dias da micorremediação; (L.B) = amostra de lixiviado sem inóculo.

Fonte: Autoria própria (2023)

Comparando os resultados apresentados na Figura 20, nota-se que os fungos possuem características morfológicas semelhantes. Como tem uma grande quantidade de colônias fúngicas mesmo em uma concentração alta de lixiviado é possível que devido à resistência desses organismos, alguns deles possuam a capacidade de biorremediar o efluente, o que pode alterar os resultados dos ensaios de micorremediação e exhibe novos fungos para serem testados.

Na Figura 21 é possível comparar a massa celular fúngica dos experimentos realizados, onde a UE inoculada com fungo L.B.2 - 1.D é o fungo filamentoso proveniente da amostra de lixiviado bruto, segunda duplicada, que ficou em micorremediação por 9 dias (2 dias a mais do que as outras UEs).

Figura 21 - Comparativo da massa celular filtrada após o processo de micorremediação



(L.B.1 - 1) = levedura semelhante à *Candida spp.* proveniente da amostra de lixiviado bruto, primeira duplicata; (L.B.2 - 1) = fungo filamentososo semelhante à *Trichophyton spp.* proveniente da amostra de lixiviado bruto, segunda duplicata; (S.1.1 - 5) = fungo filamentososo semelhante a *Mucor spp.* proveniente da amostra de solo, diluição 10^{-1} , primeira duplicata; (L.B.2 - 1.D) = fungo filamentososo semelhante à *Trichophyton spp.* proveniente da amostra de lixiviado bruto, segunda duplicata, duração maior no processo de micorremediação.

Fonte: Autoria própria (2023)

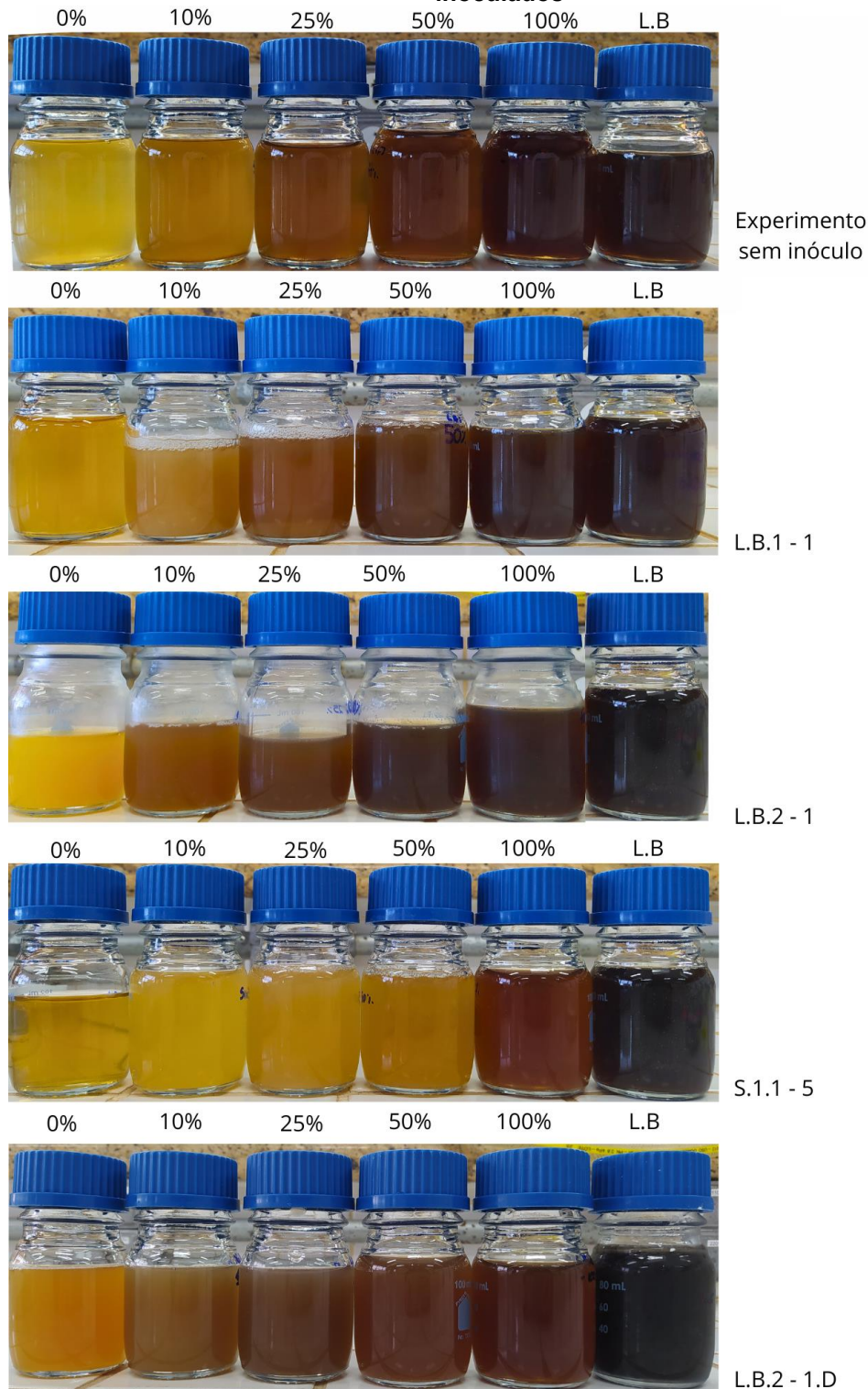
É possível visualizar que para os fungos filamentosos (L.B.2 - 1, S.1.1 - 5 e L.B.2 - 1.D), o meio 0% foi o ambiente propício para o desenvolvimento fúngico, dos fungos filamentosos (L.B.2 - 1, S.1.1 - 5, L.B.2 - 1.D) o que era esperado visto que nestas UEs não há adição de lixiviado. A UE-10% se mostrou propícia para o crescimento da levedura L.B.1 - 1, obtendo o melhor resultado de massa celular para este fungo (0,24 g). O fungo de código L.B.2 - 1 apresenta resultados melhores do que do fungo L.B.1 - 1 em todas as concentrações e do que do fungo S.1.1 - 5 nas concentrações 10, 25 e 100% e do que o fungo L.B.2 - 1.D, nas concentrações 10, 50 e 100%. Apesar do fungo filamentososo S.1.1 - 5 possuir maior massa celular na concentração 0% e 50%, ele também apresenta menor massa celular nas UEs 10 e 25%, tendo sua inibição na UE-100%, resultados que necessitam de uma confirmação para sua validade. Ambas as UEs inoculadas com o fungo filamentososo L.B.2 - 1 (L.B.2 - 1, L.B.2 - 1.D), apresentam massa celular quantificada na UE-100% (0,04 g e 0,02 g, respectivamente). Vale salientar que a massa celular de fungos filamentosos são maiores do que de leveduras, devido a diferenças estruturais, onde

fungos filamentosos são multicelulares formando micélios e leveduras são unicelulares.

Na Figura 22 é possível observar a diferença de coloração entre os extratos obtidos após o processo de filtração. Nota-se que o experimento realizado com o fungo S.1.1 - 5 apresenta uma maior diferença na coloração dos extratos comparando - os com os extratos do experimento não inoculado.

Outra característica observada é a diferença de volume dos extratos obtidos, principalmente na unidade experimental do fungo L.B.2 - 1. Isso se dá pela quantidade maior de massa celular e características fúngicas, visto que a massa fúngica retém umidade no processo de filtração.

Figura 22 - Diferença de tonalidade de cor das unidades experimentais dos diferentes fungos inoculados



(L.B.1 - 1) = levedura semelhante à *Candida spp.* proveniente da amostra de lixiviado bruto, primeira duplicata; (L.B.2 - 1) = fungo filamentoso semelhante à *Trichophyton spp.* proveniente da amostra de lixiviado bruto, segunda duplicata; (S.1.1 - 5) = fungo filamentoso semelhante a *Mucor spp.* proveniente da amostra de solo, diluição 10^{-1} , primeira duplicata; (L.B.2 - 1.D) = fungo filamentoso semelhante à *Trichophyton spp.* proveniente da amostra de lixiviado bruto, segunda duplicata, duração maior no processo de micorremediação.

Fonte: Autoria própria (2023)

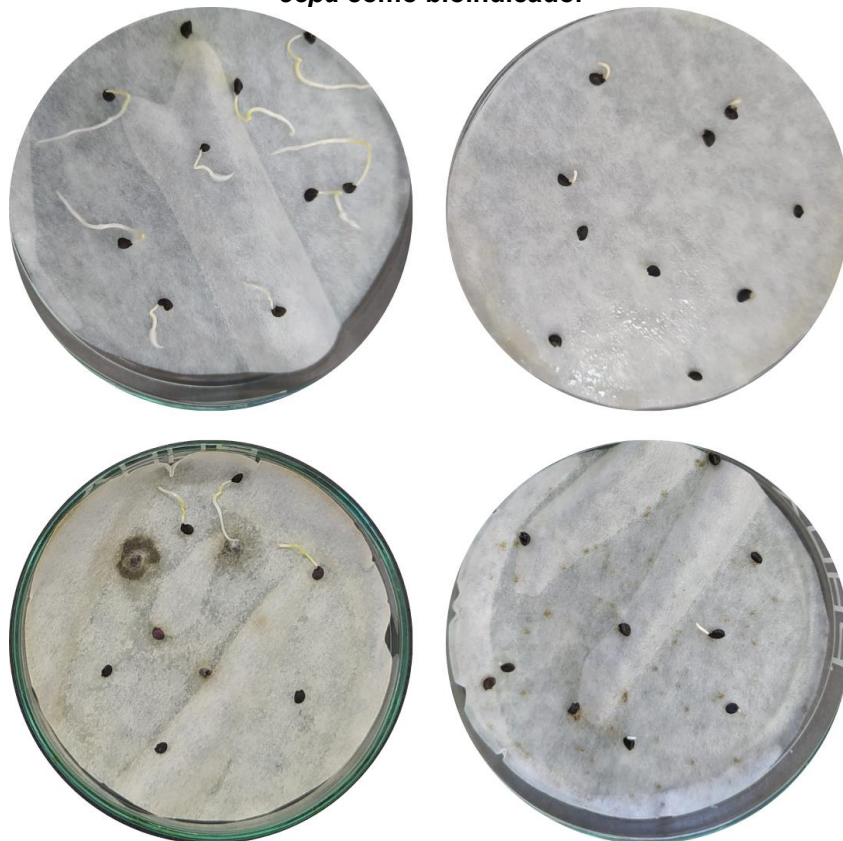
5.3 Testes de toxicidade

Durante as análises macroscópicas realizadas, notou-se que:

- Houve sementes germinadas e apodrecidas na concentração 100% de lixiviado para o experimento realizado com o fungo L.B.1 - 1;
- Houve sementes germinadas e apodrecidas nas concentrações 25, 50 e 100% de lixiviado para o experimento realizado com o fungo L.B.2 - 1 e a concentração de 10% se encontraram fungada;
- Houve sementes germinadas e apodrecidas nas concentrações 10, 25, 50 e 100% de lixiviado para o experimento realizado com o fungo L.B.2 - 1.F.

Algumas das características apresentadas acima podem ser visualizadas na Figura 23.

Figura 23 – Exemplos dos resultados dos testes de toxicidade utilizando sementes de *Allium cepa* como bioindicador



Fonte: Autoria própria (2023)

Na Tabela 3 pode-se visualizar os índices calculados a partir dos resultados dos testes de toxicidade para as UEs, a UE-0% corresponde ao controle negativo e a UE-100% corresponde ao controle positivo do teste de toxicidade.

Tabela 3 - Índices macroscópicos calculados a partir dos resultados dos testes de toxicidade das unidades experimentais (UEs)

UNIDADES EXPERIMENTAIS	GRS(%)	CRR (%)	IG (%)	IGN (%)	IER (%)
L.B.1 - 1					
0 %	100,00	100,00	100,00	0,00	0,00
10 %	106,25	156,20	165,96	0,66	0,56
25 %	87,50	182,37	159,57	0,60	0,82
50 %	18,75	79,43	14,89	-0,85	-0,21
100 %	6,25	68,09	4,26	-0,96	-0,32
L.B.2 - 1					
0 %	100,00	100,00	100,00	0,00	0,00
10 %	92,53	70,14	67,19	-0,58	-0,41
25 %	74,35	48,72	56,59	-0,98	-0,90
50 %	52,27	27,26	28,50	-1,00	-1,00
100 %	25,00	10,75	5,37	-1,00	-1,00
S.1.1 - 5					
0 %	100,00	100,00	100,00	0,00	0,00
10 %	10,53	40,00	4,21	-0,96	-0,60
25 %	5,27	20,00	1,05	-0,99	-0,80
50 %	84,25	91,25	76,88	-0,23	-0,09
100 %	47,39	39,30	18,63	-0,81	-0,61

(GRS) = Germinação relativa das sementes; (CRR) = Crescimento relativo da radícula; (IG) = Índice de germinação; (IGN) = Índice de germinação residual normalizado; (IER) = Índice de alongamento radical residual normalizado; (L.B.1 - 1) = levedura semelhante à *Candida spp.* proveniente da amostra de lixiviado bruto, primeira duplicata; (L.B.2 - 1) = fungo filamentoso semelhante à *Trichophyton spp.* proveniente da amostra de lixiviado bruto, segunda duplicata; (S.1.1 - 5) = fungo filamentoso semelhante a *Mucor spp.* proveniente da amostra de solo, diluição 10⁻¹, primeira duplicata.

■ Hormese
■ Toxicidade baixa
■ Toxicidade Moderada
■ Toxicidade Alta
■ Toxicidade Muito Alta

Fonte: Autoria própria (2023)

Analisando os índices apresentados na Tabela 3 é possível averiguar que para as UEs montadas com o fungo L.B.1 - 1, o maior valor de germinação relativa das sementes (GRS) foi obtido na UE-10%, possuindo um valor mais alto que a UE-0%. Os resultados do crescimento relativo da radícula (CRR) indicam que as UEs 10 e 25% possuem um bom crescimento radicular (156,20 e 182,37%, respectivamente). As UEs 50 e 100% inoculadas com a levedura não apresentam bons valores para a GRS e nem para o CRR, indicando que não foi um meio propício para o desenvolvimento das sementes de *Allium cepa*.

Os índices de germinação residual normalizado e de alongamento radical residual normalizado (IGN e IER, respectivamente) indicam que a toxicidade das UEs analisadas para a levedura L.B.1 - 1 varia de hormese à toxicidade muito alta, onde ambos os índices classificam as UEs 10 e 25% como hormese, ou seja, com baixas concentrações de poluentes. O índice IGN classifica as UEs 50 e 100% como

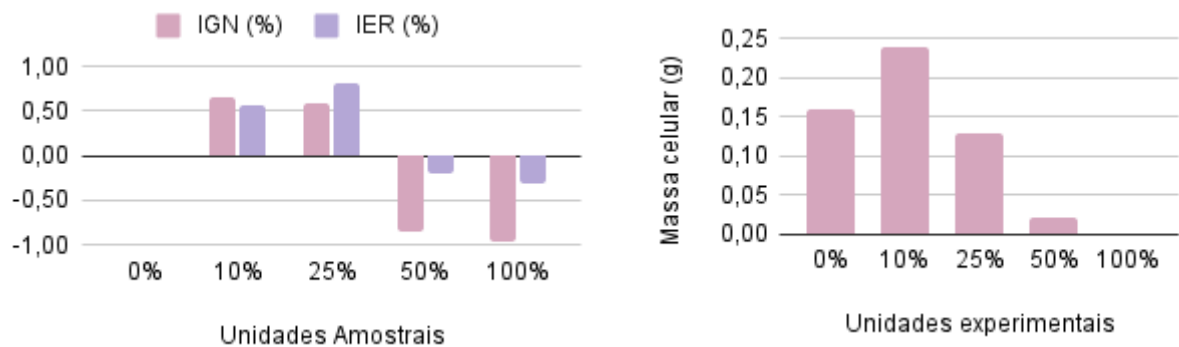
toxicidade muito alta e o índice IER as classificam como toxicidade baixa e alta respectivamente.

Verifica-se na Tabela 3 que para as UEs 10 e 25 e 100% inoculadas com o fungo S.1.1 - 5 não apresentam bons índices de GRS, CRR e IG, ou seja, não foram meios propícios para a germinação e/ou crescimento das sementes. A UE-50% apresenta um bom índice de GRS (84,25%) e de CRR (91,25), se aproximando do controle negativo (UE-0%) e sendo classificada pelos índices IGN e IER como toxicidade baixa. O IGN classifica as UEs 10, 25 e 100% como toxicidade muito alta e o IER classifica as UEs 10 e 100% como toxicidade alta e a UE-25% como toxicidade muito alta. Como são resultados inesperados, é necessário refazer o experimento com este fungo para confirmar os dados obtidos.

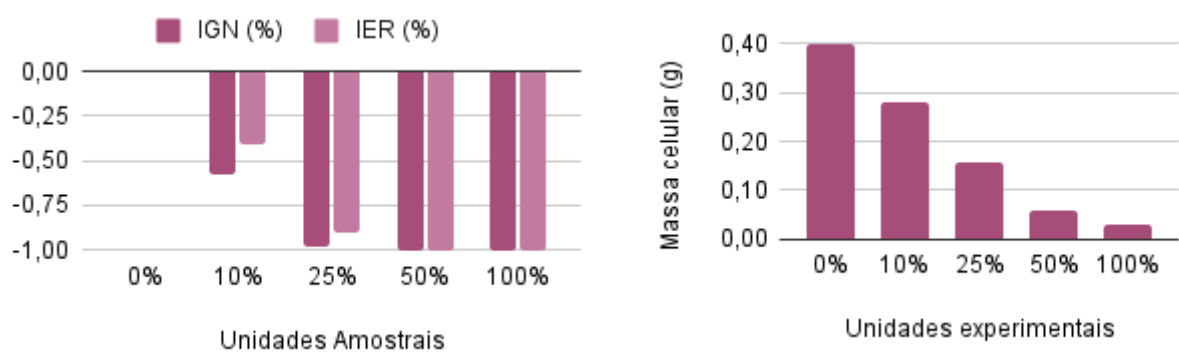
Dentre os índices expostos, a levedura L.B.1 - 1 apresenta os melhores resultados nas UEs de 10 e 25%, considerando os índices de CRR e IG comparado com os outros organismos. A UE inoculada com o fungo filamentososo L.B.2 - 1.D, apresentou os melhores resultados para o índice GRS. Observando os níveis de toxicidade os fungos L.B.1 - 1 foi o único que apresentou hormese em suas UEs, desconsiderando o controle negativo (UE-0%) das UEs, o que indica que a levedura é um organismo capaz de micorremediar o lixiviado e o aumento na duração da micorremediação trouxe vantagens para o fungo filamentososo L.B.2 - 1.D.

Na Figura 23 apresenta-se a comparação entre os níveis de toxicidade das UEs e a massa celular fúngica.

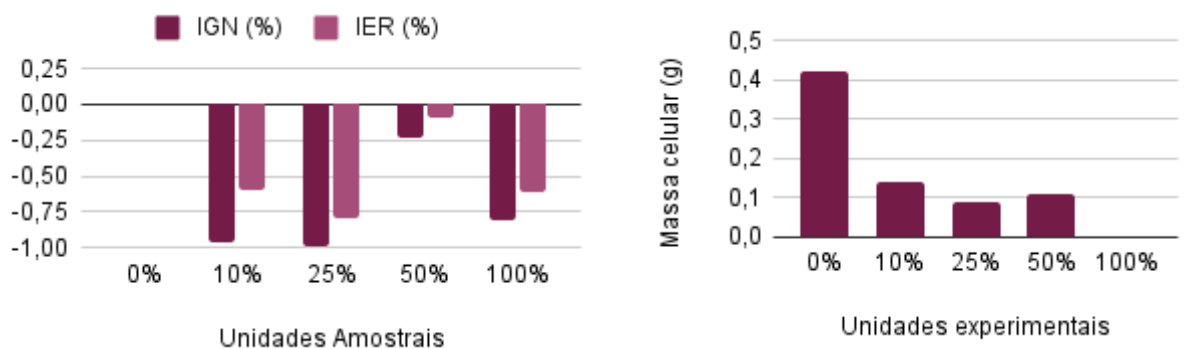
Figura 24 - Comparação entre os níveis de toxicidade das UEs a massa celular fúngica
L.B.1 - 1



L.B.2 - 1



S.1.1 - 5



(L.B.1 - 1) = levedura semelhante à *Candida spp.* proveniente da amostra de lixiviado bruto, primeira duplicata; (L.B.2 - 1) = fungo filamentoso semelhante à *Trichophyton spp.* proveniente da amostra de lixiviado bruto, segunda duplicata; (S.1.1 - 5) = fungo filamentoso semelhante a *Mucor spp.* proveniente da amostra de solo, diluição 10^{-1} , primeira duplicata.

Fonte: Autoria própria (2023)

Para a levedura L.B.1 - 1, as UEs com concentração de 50 e 100% são as que apresentam os maiores níveis de toxicidade e onde se tem os menores valores de massa celular. A UE-10% apresenta a maior massa celular (0,24 g) e o menor nível de toxicidade do índice IGN, já a UE-25% possui uma massa celular de 0,13 g e o menor nível de toxicidade do índice IER. Ambas as UEs são classificadas como hormese, indicando assim, que houve uma melhora na toxicidade do lixiviado pela levedura L.B.1 - 1 nas concentrações 10 e 25%.

O fungo filamentososo L.B.2 - 1 não demonstrou muita eficiência na redução da toxicidade do lixiviado e as UEs 10 e 25% inoculadas com o fungo S.1.1 - 5 possuem os maiores níveis de toxicidade deste experimento, o que já é um indício de que o processo de micorremediação não foi eficiente. Nota-se que ocorre uma diminuição dos níveis de toxicidade nas UEs 50 e 100%, considerando que as placas finais e a massa celular da unidade experimental 100% apontam para a inibição do fungo inoculado e que a massa celular da unidade experimental 50% é baixa (0,11 g), a redução da toxicidade pode ser resultado do processo de micorremediação de outro organismo presente na amostra.

Comparando os índices macroscópicos obtidos a partir das UEs inoculadas com o fungo filamentososo L.B.2 - 1 com o aumento na duração do processo de micorremediação antes e após a micorremediação (L.B.2- 1.F e L.B.2 - 1.D, respectivamente), apresentados na Tabela 4, é possível verificar que o fungo foi capaz de reduzir a toxicidade do lixiviado.

Tabela 4 - Índices macroscópicos calculados a partir dos resultados dos testes de toxicidade das unidades experimentais inoculadas com o fungo L.B.2 - 1 antes e após a micorremediação

UNIDADES EXPERIMENTAIS	GRS(%)	CRR (%)	IG (%)	IGN (%)	IER (%)
Antes da micorremediação					
0 %	100,00	100,00	100,00	0,00	0,00
10 %	100,00	66,19	66,19	-0,34	-0,34
25 %	57,89	78,08	45,19	-0,55	-0,22
50 %	31,58	69,02	21,80	-0,78	-0,31
100 %	10,53	21,69	2,28	-0,98	-0,78
Após a micorremediação					
0 %	100,00	100,00	100,00	0,00	0,00
10 %	113,64	80,96	92,00	-0,08	-0,19
25 %	127,27	87,21	110,99	0,11	-0,13
50 %	104,55	54,52	57,00	-0,43	-0,45
100 %	50,00	21,49	10,75	-0,89	-0,79

(TG) = Taxa de germinação; (GRS) = Germinação relativa das sementes; (CRR) = Crescimento relativo da radícula; (IG) = Índice de germinação; (IGN) = Índice de germinação residual normalizado; (IER) = Índice de alongamento radical residual normalizado; (CN) = Controle Negativo; (CP) = Controle Positivo.

Hormese
 Toxicidade baixa
 Toxicidade Moderada
 Toxicidade Alta

 Toxicidade Muito Alta

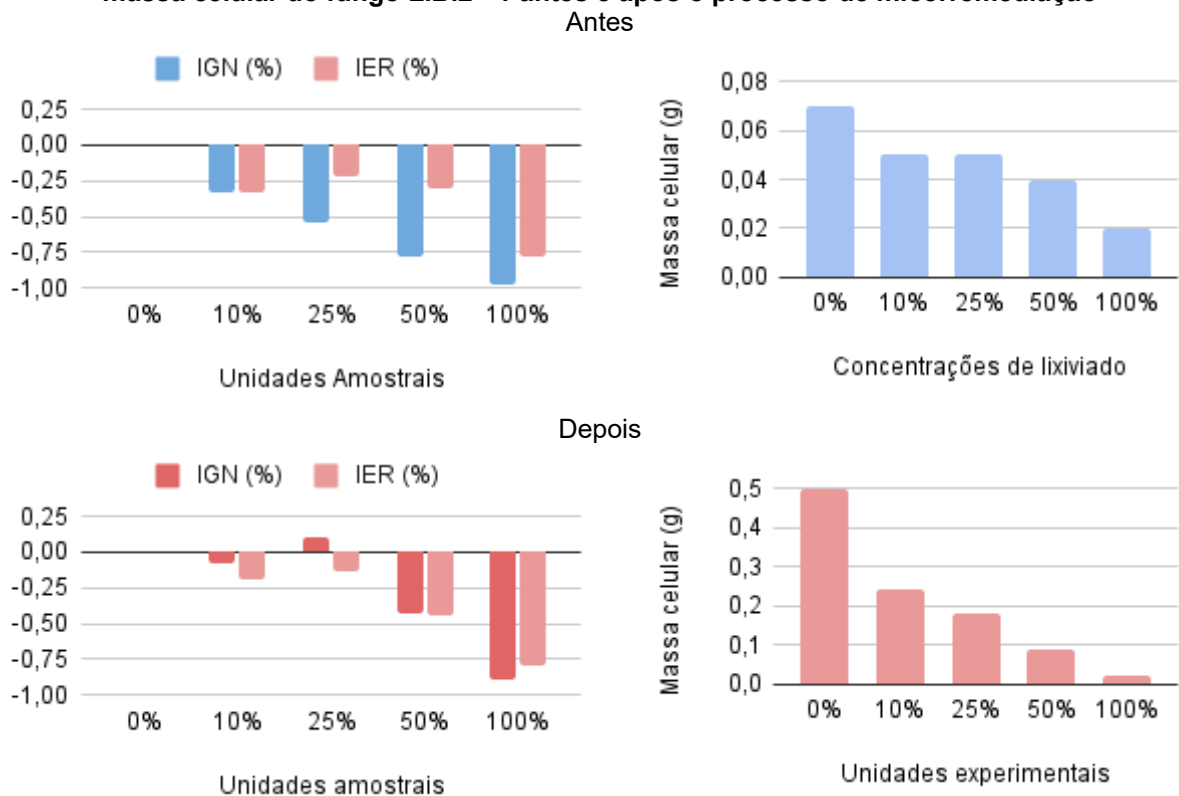
Fonte: Autoria própria (2023)

Os índices apresentados (Tabela 4) mostram que as UEs 10, 25 e 50% apresentam boa germinação de sementes, obtendo valores melhores que a UE-0%. O índice CRR das UEs 10 e 25% possuem os valores mais altos, sendo 80,96% e 87,91%, respectivamente. As mesmas UEs apresentam os maiores valores de IG (92,00 % e 110,99%, respectivamente). Comparando com os índices apresentados

antes da micorremediação percebe-se que o tratamento aumentou a qualidade de germinação e de crescimento radicular das sementes de *Allium cepa*. Os índices IGN e IER classificam a UE-10% como toxicidade baixa, a UE-50% como toxicidade moderada e a UE-100% como toxicidade muito alta. A UE-25% é classificada como hormese para o índice IGN e como toxicidade baixa para o índice IER.

Na Figura 24 apresenta-se a comparação entre os níveis de toxicidade das UEs e a massa celular do fungo L.B.2 – 1 antes e após o processo de micorremediação (L.B.2 - 1.F e L.B.2 - 1.D).

Figura 25 - Comparação entre os níveis de toxicidade das unidades experimentais (UEs) e a massa celular do fungo L.B.2 - 1 antes e após o processo de micorremediação



(L.B.2 – 1.F) = fungo filamentososo semelhante à *Trichophyton spp.* proveniente da amostra de lixiviado bruto, segunda duplicata filtrada; (L.B.2 – 1.D) = fungo filamentososo semelhante à *Trichophyton spp.* proveniente da amostra de lixiviado bruto, segunda duplicata, duração do tratamento de 9 dias.

Fonte: Autoria própria (2023)

Com os níveis de toxicidade apresentados percebe-se que a UE-10% teve uma redução de toxicidade moderada para toxicidade baixa após a micorremediação para ambos os índices, a UE-25% antes da micorremediação estava classificada como toxicidade alta e moderada pelos índices IGN e IER, já após o processo de micorremediação os níveis de toxicidade caem para hormese e toxicidade baixa, respectivamente e a UE-50% tem uma redução no nível de toxicidade considerando

o índice IGN de toxicidade muito alta para toxicidade moderada, indicando assim que a duração do processo de micorremediação influencia na eficiência do tratamento.

Dentre índices expostos nas Tabelas 3 e 4, a levedura L.B.1 - 1 apresenta os melhores resultados nas UEs de 10 e 25%, considerando os índices de CRR e IG comparado com os outros organismos. A UE inoculada com o fungo filamentoso L.B.2 - 1.D, apresentou os melhores resultados para o índice GRS. Observando os níveis de toxicidade os fungos L.B.1 - 1 e L.B.2 - 1.D foram os únicos que apresentaram hormese em suas UEs, desconsiderando o controle negativo (UE-0%) das UEs, o que indica que a levedura é um organismo capaz de micorremediar o lixiviado e o aumento na duração da micorremediação trouxe vantagens para o fungo filamentoso L.B.2 - 1.D.

6 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Pela análise dos resultados observou-se que mesmo com a toxicidade do lixiviado, o efluente é um meio que promove o crescimento fúngico e que os organismos testados foram capazes de se desenvolver neste ambiente degradando os compostos presentes no lixiviado.

Por meio das análises de massa celular fúngica, foi possível avaliar o crescimento dos fungos selecionados nas diferentes concentrações de lixiviado. Como esperado, na média, conforme a concentração de lixiviado aumenta a massa celular fúngica diminui, sendo um forte indicativo de que a concentração do efluente influencia o crescimento fúngico.

Os testes de toxicidade com a semente de *Allium cepa* demonstram que a levedura L.B.1 – 1 semelhante a *Candida* spp. foi capaz de reduzir a toxicidade do lixiviado a nível de hormese nas concentrações de 10 e 25%, para ambos os índices e o fungo filamentososo L.B.2 - 1 semelhante a *Trichophyton* spp., foi capaz de reduzir a toxicidade do lixiviado a nível de hormese na concentração 25% do índice relacionado a germinação da semente.

Outro indicativo dos testes de toxicidade foi a duração do processo de micorremediação. Constatou-se que para o fungo filamentososo L.B.2 - 1 semelhante à *Trichophyton* spp., ter uma duração maior no tratamento foi benéfico para a redução no nível de toxicidade do lixiviado, indicando assim que 7 dias é um prazo curto para empregar o tratamento.

7 SUGESTÕES DE TRABALHOS FUTUROS

São sugestões para trabalhos futuros:

- Estudar a utilização de outros bioindicadores, como por exemplo, sementes de *Phaseolus mungo* (feijão), *Lactuca sativa* (alface e *Cucumis sativa* (pepino), bulbo da *Allium cepa*, bactéria *Escherichia coli*, entre outros.
- Aumentar duração do processo de micorremediação para 10 e/ou 15 dias.
- E por fim, empregar a micorremediação para avaliar a diminuição da toxicidade de lixiviado proveniente das lagoas de tratamento primário de aterro sanitário.

REFERÊNCIAS

- ABDULLAH, N. et al. Treatment of Landfill Leachate Using *Ganoderma Australe* Mycelia Immobilized on Ecomat. **International Journal of Environmental Science and Development**, v. 4, n. 5, p. 483-487. 2013.
- ABRELPE – Associação Brasileira de Empresas de Limpeza Pública e Resíduos Especiais. **Panorama dos resíduos sólidos no Brasil**. 2003, 2004, 2005, 2007, 2008, 2009, 2010, 2011, 2012, 2013, 2014, 2015, 2016, 2017, 2018, 2019, 2020, 2021.
- ABRELPE – Associação Brasileira de Empresas de Limpeza Pública e Resíduos Especiais. **Universalização da limpeza urbana**. 2021
- AKHTAR, N; MANNAN, M. A. Mycoremediation: Expunging environmental pollutants. **J. Biotechnology Reports**, v. 26. 2020.
- ALMEIDA, T. T. **Potencial biorremediador do fungo endofítico *Mucor sp.* Isolado da macrófita aquática *Eichornia crassipes***. Tese (Doutorado em Ciências) - Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2018.
- ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS. **ABNT NBR 10006**: Procedimento para obtenção de extrato solubilizado de resíduos sólidos. Rio de Janeiro-RJ, 2004.
- ALVARES, D. Marco na gestão de resíduos em Londrina, CTR completa 10 anos. **CMTU - Companhia municipal de trânsito e Urbanização de Londrina**. 2021.
- ANDRADE, F. N. **A influência da recirculação de lixiviado na produção e qualidade do biogás gerado em aterros sanitários: revisão sistemática**. Dissertação (Mestrado em Engenharia Ambiental) – Universidade do Estado do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2022.
- BAGUR-GONZÁLEZ, M. G. et al. Toxicity assessment using *Lactuca sativa* L. bioassay of the metal(loid)s As, Cu, Mn, Pb and Zn in soluble-in-water saturated soil extracts from an abandoned mining site. **Journal of Soils and Sediments**, v. 11, n. 2, p. 281–289, 2011.
- BATALHA, E. Mesmo com sua extinção determinada por lei, lixões persistem como problema ambiental. **Revista Radis**, n. 149. 2015.
- BARDI, A. et al. Effect of cellulose as co-substrate on old landfill leachate treatment using white-rot fungi. **Bioresour Technol**, v. 241, p. 1067-1076. 2017.
- BESEN, G. R; LAZARO, L. L. B. Queimar resíduos urbanos é (in)sustentável? O caso da Unidade de Recuperação Energética da Baixada Santista. **Diálogos Socioambientais**, v. 3, n. 9, p. 28-31, fev. 2021.

BOCKLER, T. P. et al. Utilização de fungos na biorremediação de águas contaminadas por coliformes fecais. **Revista Thêma et Scientia**, v. 6, n. 2E, 2016.

BRASIL, Resolução CONAMA nº357, de 17 de março de 2005. Dispõe sobre a classificação dos corpos de água e diretrizes ambientais para seu enquadramento, bem como estabelece as condições e padrões de lançamento de efluentes e dá outras providências. **Diário Oficial da União**, Brasília, DF, mar. 2005.

BRASIL. Lei nº 12.305, de 2 de agosto de 2010. Institui a Política Nacional de Resíduos Sólidos; altera a Lei nº 9.605, de 12 de fevereiro de 1998; e dá outras providências. **Diário Oficial da União**, Brasília, DF, ags. 2010.

BRASIL. Lei nº 14.026, de 15 de julho de 2020. Atualiza o marco legal do saneamento básico e altera a Lei nº 9.984, de 17 de julho de 2000, e dá outras providências. **Diário Oficial da União**, Brasília, DF, jul. 2020.

CÂNDIDO, T. R. da. S. **Produção de biossurfactante por *Mucor sp.* e *Rhizopus sp.* e aplicação na biorremediação de amostras de água e solo contaminados por petróleo.** Dissertação (Mestrado em Desenvolvimento de Processos Ambientais) - Universidade Católica de Pernambuco, Recife, 2022.

CAVALCANTE, F. S. et al. A percepção ambiental sobre fungos: uma revisão integrativa. **Novos Cadernos NAEA**, v. 24, n. 3, dez. 2021.

COLEN, G. **Isolamento e seleção de fungos filamentosos produtores de lipases.** Dissertação (Doutorado em Ciência de Alimentos) – Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 2006.

CONCEIÇÃO, M. M. M. da. C; TEIXEIRA, L. C. G. M. Relação entre produção de resíduos sólidos urbanos e crescimento populacional na região norte. **Revista AIDIS de Ingeniería y Ciencias Ambientales; Investigación, desarrollo y práctica**, v. 14, n. 3, p. 1383-1396.

DANTAS, E. R. B. et al. Identificação de compostos orgânicos em lixiviado de aterro sanitário durante tratamento por processo fenton. **Revista Ibero-Americana de Ciências Ambientais**, v. 12, n. 6, p. 274-287, 2021.

COSTA, E. M. F. **Tratamento físico, químico e biológico de lixiviado de aterro sanitário e vinhaça de cana-de-açúcar.** Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia Ambiental) - Universidade Estadual da Paraíba, Campina Grande, 2022.

DURVAL, I. J. B. **Estudo de um biossurfactante produzido por espécies de *Bacillus* isoladas de água do mar e seu potencial para biorremediação de derramamento de petróleo.** Dissertação (Mestrado em Biotecnologia Industrial) – Universidade Federal de Pernambuco, Recife, 2017.

DESTRO, G. E. **Caracterização e proposição de tratamento adequado a lixiviados produzidos em aterros sanitários de resíduos sólidos urbanos.** Dissertação (Mestrado em Agronegócio e Desenvolvimento) – Universidade Estadual Paulista, Tupã, 2020.

EBC, Programa Tarde Nacional. Vinte lixões foram desativados no Brasil entre março e junho. **Rádio Nacional**, 2021.

ESTADÃO Conteúdo. O fim dos lixões em 2 anos e reaproveitamento de 48% dos resíduos até 2040. **Exame 55**, 2022.

FERREIRA, M. K. de. S. **Degradação ambiental na área do lixão de Parelhas-RN**. Trabalho de conclusão de curso em Engenharia Ambiental. Universidade Federal de Campina Grande, Pombal, Paraíba, 2022.

GAYLARDE. C. C. Biorremediação: Aspéctos biológicos e técnicos da biorremediação de xenobióticos. **Revista Biotecnologia Ciência & Desenvolvimento**, n. 34, 2005.

GOES. V. F. F. **Ação de extratos, óleos essenciais e frações isoladas de plantas medicinais sobre a formação do biofilme em *Candida spp.*** Tese (Doutorado em Biologia Buco-Dental) - Universidade Estadual de Campinas, Piracicaba, 2009.

HASSAN, A. et al. Bioaugmentation assisted mycoremediation of heavy metal and/metalloid landfill contaminated soil using consortia of filamentous fungi. **Biochemical Engineering Journal**, v. 157. 2020.

HENNING. A. A. Guia prático para identificação de fungos mais frequentes em sementes de soja. **EMBRAPA**, 2015.

IBGE – Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. **Atlas de saneamento: manejo de resíduos sólidos**. 2011

IBGE – Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. **Áreas Territoriais**. 2022

IKECHI-NWOGU, G. C; AKPAN, D. Mycoremediation Potential of Edible Mushroom (*Lentinus squarrosulus* Mont.) for Reduction of Physicochemical Properties and Microbial Load of Landfill Leachate obtained from Choba Dumpsite, Rivers State, Nigeria. **Journal of Applied Sciences and Environmental Management**, v. 26, n. 12, p. 2101-2106. 2022.

KALCIKOVA, G. et al. Fungal and enzymatic treatment of mature municipal landfill leachate. **Waste Manag**, v. 34, n. 4, p. 789-803. 2014.

KAKUDI, R. A. et al. The significance of microbial techniques as a tool for biological remediation of landfill leachate: Mini review. **World Journal of Pharmaceutical Research**, v. 8, n. 7, p. 211-237. 2019.

KAWAHIGASHI. F. et al. Pós-tratamento de lixiviado de aterro sanitário com carvão ativado *Revista de Engenharia Sanitaria Ambiental*, v. 19, n. 3, p. 235-244, 2014

KIM, Y. et al. Treatment of landfill leachate by white rot fungus in combination with zeolite filters. *J Environ Sci Health A Tox Hazard Subst Environ Eng*, n. 38, v. 4, p. 671-683. 2003.

KULSHRESHTHA, S. et al. Mushroom as a product and their role in mycoremediation. **AMB Express**, v. 4, n. 29, p. 2-7. 2014.

KUMAR, V. DWIVEDI, S. K. Mycoremediation of heavy metals: processes, mechanisms, and affecting factors. **Environmental Science and Pollution Research**, V. 28, P. 10375 – 10412. 2021.

LANGE, L. C. et al. Tratamento de lixiviado de aterro sanitário por processo oxidativo avançado empregando reagente de fenton, **Revista Engenharia Sanitária e Ambiental**, v. 11, n. 2, p. 175-183, 2006.

LANZA, V. C. V. **Avaliação da ocorrência de contaminação por lixiviados no depósito de resíduos sólidos urbanos do município de Bugre MG**. Dissertação (Mestrado em Geotecnia) - Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 2012.

LELES, D. **Avaliação ecotoxicológica de efluente têxtil com corante utilizando sementes de Lactuca sativa e Allium cepa**. Trabalho de conclusão de curso em Engenharia Ambiental. Universidade Federal de Goiás, Goiânia, 2017.

LEITE, N. D. et al. Lixões, aterros controlados e aterros sanitários: o que mudou no Brasil após a publicação da lei federal 12.305/2010?. IN: **Congresso Brasileiro De Engenharia Sanitária E Ambiental**, 30°. Anais. Natal, Rio Grande do Norte, 2019.

LEONEL, L. V. et al. Biorremediação do solo. **Revista Terra & Cultura: Cadernos de Ensino e Pesquisa**, v. 26, n. 51, p. 37-52, ago. 2018. ISSN 2596-2809.

LOPES, V. E. A. et al. Comportamento de fungos totais em lixiviado de aterro sanitário. **CONAPESC**, n. 3. 2018.

LUSTOSA, E. A. et al. Avaliação do potencial genotóxico de agrotóxicos utilizando Allium cepa como organismo modelo: Uma breve revisão. **CONAPESC**, n 7. 2022

MALLMANN, V. et al. As vantagens da biorremediação na qualidade ambiental. **Revista Ensaios e Ciência**, v. 23, n. 1, p. 12-15. 2019.

MARINHO, C. de. O. et al. Influência da fonte primária de carbono e de macronutrientes na remoção de índigo carmim por *Aspergillus Niger* em reator de escoamento contínuo. **Revista AIDIS de Ingeniería y Ciencias Ambientales; Investigación, desarrollo y práctica**, v. 15, n. 1, p. 36-54. 2022.

MEDEIROS. M. R. C. A. **Produção de quitosana por *Mucor subtilissimus* por fermentação semi-sólida em meio alternativo e aplicação na remoção do corante azul de metileno**. Dissertação (Mestrado em Desenvolvimento de processos Ambientais) - Universidade Católica de Pernambuco, Recife, 2013.

MEDEIROS, S. Y. S. **Atividade antifúngica do extrato de Rosmarinus officinalis linn (Alecrim) sobre cepas clínicas de Candida ssp**. Dissertação (Mestrado em Sistemas Agroindustriais) - Universidade Federal de Campina Grande, Paraíba, 2021.

MENDES, P. B. L. **A microbiologia está entre nós: a ubiquidade microbiana vista pelos alunos do segundo ano do ensino médio de uma escola pública no município de Fortaleza–Ceará.** Trabalho de conclusão de curso em Ciências Biológicas. Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 2018.

MONSALVE, S. O. **Microrremediação de efluentes de tingimento de couro usando cepas de fungos nativos.** Dissertação (Doutorado em Engenharia Química) – Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2019.

MORITA, A. K. M; MORENO, F. N. Fitorremediação aplicada a áreas de disposição final de resíduos sólidos urbanos. **Revista Engenharia Sanitária e Ambiental**, v. 27, n. 2, p. 377-389. 2021.

MOREIRA, F. M. et al. Identificação de fungos filamentosos em indústrias farmacêuticas: Uma revisão integrativa da literatura. **Revista Científica UBM**, v. 24, n. 46, p. 124-144. 2022.

NUNES, L. A. O. et al. Impactos ambientais ocasionados pelo lançamento de lixiviado de aterro sanitário no meio ambiente: uma revisão. **Anais II CONAPESC.** Campina Grande, 2017.

OLIVEIRA, J. F. R. Avaliação ecotoxicológica do efluente da ETE-MARATOAN utilizando sementes de *Lactuca sativa L.* e *Cucumis sativus L.* Trabalho de Conclusão de Curso em Engenharia Ambiental e Sanitária. Universidade Federal do Ceará, Crateús, 2021.

OLIVEIRA, K. Fim dos lixões é adiado por falta de comprometimento dos municípios. **Jornal da USP**, 2020.

OLIVEIRA, O. S. et al. Avaliação da disposição de resíduos sólidos na paisagem da bacia hidrográfica do Rio Jundiáí Mirim, Jundiáí/SP. **Revista Valore**, v. 6, 2021.

PERNA, G. P. A. **Biorremediação do lixiviado de aterro de resíduos sólidos urbanos.** Monografia de conclusão de curso em Microbiologia Aplicada. Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 2018.

PRATES, L. F. et al. Alternativas tecnológicas para tratamento de resíduos sólidos urbanos. **Revista APPREHENDERE – Aprendizagem & Interdisciplinaridade**, v. 1, n. 2, Edição Especial, 2019.

PEREIRA, Eduardo Vinícius. Resíduos sólidos. Senac

QUEIROZ, C; SOUSA, A. C. B. Produção de enzimas hidrolíticas por fungos filamentosos em diferentes substratos. **Brazilian Journal of Development**, v. 6, n. 7, p. 51849–51860, 2020.

REIS, B. G. **Avaliação da eficiência de processos avançados na remoção de toxicidade de lixiviado de aterro sanitário.** Dissertação (Mestrado em

Saneamento, Meio Ambiente e Recursos Hídricos). Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 2014.

RESENDE, L. A. et al. Crescimento e sobrevivência de espécies arbóreas em diferentes modelos de plantio na recuperação de área degradada por disposição de resíduos sólidos urbanos. **Revista Árvore**, v. 39, n. 1, p. 147-157, 2015.

RHAMAN, S. M. S. A. et al. Mushroom Quality Related with Various Substrates' Bioaccumulation and Translocation of Heavy Metals. **Journal of Fungi**, v. 8, n. 42, p. 2-17. 2022.

RIBEIRO, B. M. G; MENDES, C. A. B. Avaliação de parâmetros na estimativa da geração de resíduos sólidos urbanos. **Revista Brasileira de Planejamento e Desenvolvimento**, v. 7, n. 3, p. 422-443. Curitiba. Paraná, 2018.

RIBEIRO, I. **Caracterização multielementar de lixiviado e testes de adaptação de plantas no pós-tratamento por banhados construídos**. Artigo (Especialista em Gestão ambiental em Municípios – POLO UAB). Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Medianeira, 2018.

SANTOS, G. K. S. **Isolamento de fungos filamentosos em sistema aberto de tratamento do soro do leite por microalgas**. Trabalho de Conclusão de Curso Bacharelado em Engenharia Química, Universidade Federal de Alagoas, Maceió, 2023.

SANTOS, K. da C. G. **Remoção do corante Azo Direct Black 22 utilizando fungos Aspergillus**. Trabalho de Conclusão de Curso Bacharelado em Ciências Biológicas. Universidade Federal Rural de Pernambuco, Recife, 2021.

SILVA, J. N. O uso de parâmetros físico-químicos na delimitação de contaminação por lixiviado em áreas degradadas por resíduos sólidos urbanos: uma revisão sistemática de literatura com ênfase em metanálise. **Revista Brasileira de Geografia Física**, v.15, n.3, p. 1587-1604, 2022.

SILVA, R. L. A. **Biorremediação de águas fluviais contaminadas com corantes da indústria têxtil por fungos filamentosos isolados do bioma Caatinga**. Dissertação (Mestrado em Biotecnologia) - Universidade Federal de Pernambuco, Recife, 2017.

SIMÕES, A. L. G. et al. Panorama geral dos resíduos sólidos urbanos no âmbito mundial. **Congresso Sul-Americano de Resíduos Sólidos e Sustentabilidade**, 2°. Foz do Iguaçu. Paraná, 2019.

SIRACUSA, G. et al. Mycoremediation of Old and Intermediate Landfill Leachates with an Ascomycete Fungal Isolate, *Lambertella* sp. **Water**, v. 12, n. 800. 2020.

SNIS – Sistema Nacional de Informações sobre o Saneamento. **Diagnóstico Temático Manejo de Resíduos Sólidos**. 2021

SOARES, I. A. et al. Fungos na biorremediação de áreas degradadas. **Periódico Instituto Biológico**, v. 78, n. 2, p. 341-350, 2011. São Paulo.

SOMMAGGIO, L. R. D. **Avaliação da possibilidade de detoxicação e utilização agrícola de lodo de esgoto, após bioestimulação, por meio de diferentes bioensaios**. Dissertação (Mestrado em Ciências Biológicas) - Universidade Estadual Paulista, Rio Claro, 2016.

SOUTO, G. A. de B. **Lixiviado de aterros sanitários brasileiros - estudo de remoção do nitrogênio amoniacal por processo de arraste com ar (“stripping”)**. Dissertação (Doutorado em Engenharia Hidráulica e Saneamento) – Universidade de São Paulo, São Carlos, 2009.

SPINA, F. et al. Bioremediation of Landfill Leachate with Fungi: Autochthonous vs. Allochthonous Strains. **Life**, v. 8, n. 3. 2018.

WALSH, T. J.; HAYDEN, R. T.; LARONE, D. H. **Larone’s medically importante fungi: A guide to identification**. 6th. ed. Washington, DC: ASM Press, 2018.


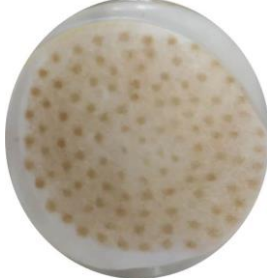








WEIRICH, C. E. **Estrutura da Comunidade de Fungos Endofíticos e Bioprospecção de Isolados de *Aspilia grazielae* (Santos), Espécie Vegetal Endêmica de Mato Grosso do Sul**. Dissertação (Doutorado em Ecologia) – Universidade Federal de Mato Grosso do Sul, Campo Grande, 2020.

YUAN, Q.; JIA, H.; POVEDA, M. Study on the effect of landfill leachate on nutrient removal from municipal wastewater. **Journal of Environmental Sciences (China)**, v. 43, p. 153-158, 2016.

ZAMONER, M. Bioindicadores, Relatores Ambientais / Divulgação científica. Disponível em: <http://www.protexto.com.br/texto.php?cod_texto=371>. Acesso em 09 de nov de 2022.

APÊNDICE - Massa celular úmida e seca proveniente dos ensaios de micorremediação utilizando os fungos L.B.1 - 1, L.B.2 - 1, S.1.1 - 5.









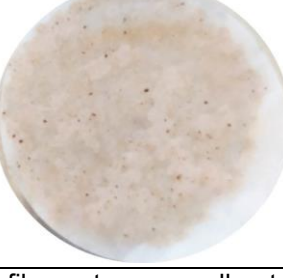

Quadro 13 - Massa celular fúngica úmida e seca proveniente das unidades experimentais (UEs) realizadas com o fungo L. B. 1 - 1

	ÚMIDA	SECA
0%		
10%		
25%		
50%		
100%		

(L.B.1 - 1) = levedura semelhante à *Candida spp.* proveniente da amostra de lixiviado bruto, primeira duplicata.

Fonte: Aatoria própria (2023)











Quadro 14 - Massa celular fúngica úmida e seca proveniente das unidades experimentais (UEs) realizadas com o fungo L. B. 2 - 1

	ÚMIDA	SECA
0%		
10%		
25%		
50%		
100%		

(L.B.2 - 1) = fungo filamentososo semelhante à *Trichophyton spp.* proveniente da amostra de lixiviado bruto, segunda duplicata.

Fonte: Autoria própria (2023)









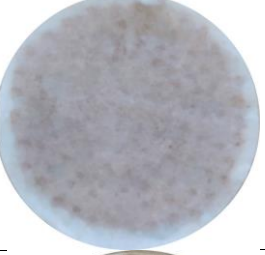







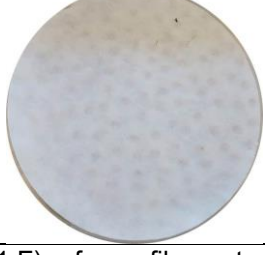
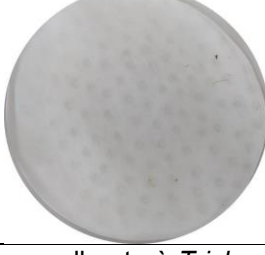


Quadro 15 - Massa celular fúngica úmida e seca proveniente das unidades experimentais (UEs) realizadas com o fungo S. 1. 1 - 5

	ÚMIDA	SECA
0%		
10%		
25%		
50%		
100%		

(S.1.1 - 5) = fungo filamentososo semelhante a *Mucor spp.* proveniente da amostra de solo, diluição 10^{-1} , primeira duplicata

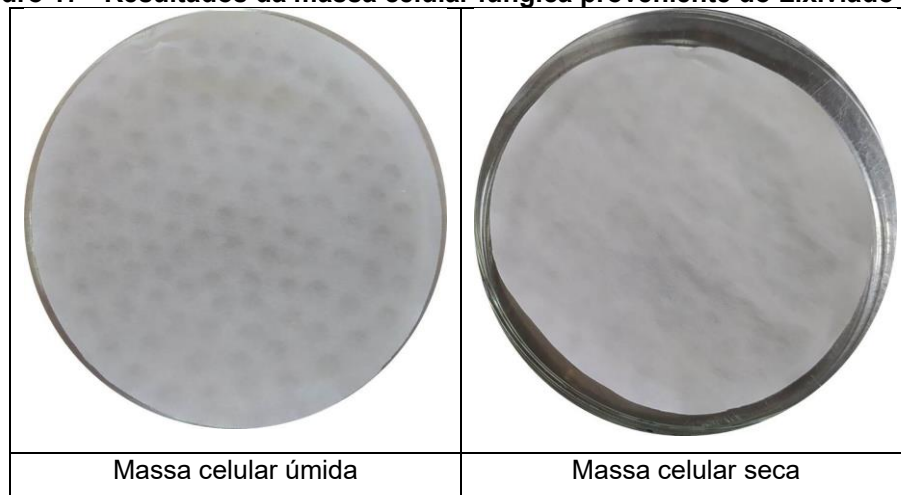
Fonte: Autoria própria (2023)

Quadro 16 - Massa celular fúngica úmida e seca proveniente das unidades experimentais (UEs) realizadas com o fungo L. B. 2 - 1.F e L.B.2 - 1.D, respectivamente

	L. B. 2 - 1.F		L.B.2 - 1.D	
	Úmida	Seca	Úmida	Seca
0%				
10%				
25%				
50%				
100%				

(L.B.2 - 1.F) = fungo filamentoso semelhante à *Trichophyton spp.* proveniente da amostra de lixiviado bruto, segunda duplicata, amostragem filtrada antes do processo de micorremediação; (L.B.2 - 1.D) = fungo filamentoso semelhante à *Trichophyton spp.* proveniente da amostra de lixiviado bruto, segunda duplicata, duração maior no processo de micorremediação.

Fonte: Autoria própria (2023)

Quadro 17 - Resultados da massa celular fúngica proveniente do Lixiviado Bruto

Fonte: Autoria própria (2023)