



UNIVERSIDADE
ESTADUAL de LONDRINA

LEONARDO DIB DE SOUSA ABUSSAFI

**DESENVOLVIMENTO DE MÉTODOS PARA
PROSPECÇÃO DE BACTÉRIAS DE SOLOS DE
DEPÓSITOS PLÁSTICOS COM POTENCIAL DE
CRESCIMENTO EM MEIO ENRIQUECIDO COM
POLIETILENO DE ALTA DENSIDADE**

LEONARDO DIB DE SOUSA ABUSSAFI

**DESENVOLVIMENTO DE MÉTODOS PARA
PROSPECÇÃO DE BACTÉRIAS DE SOLOS DE
DEPÓSITOS PLÁSTICOS COM POTENCIAL DE
CRESCIMENTO EM MEIO ENRIQUECIDO COM
POLIETILENO DE ALTA DENSIDADE**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós- Graduação em Microbiologia da Universidade Estadual de Londrina - UEL, como requisito parcial para a obtenção do título de Mestre em Microbiologia.

Orientadora: Prof^a. Dr^a. Lucy Megumi Yamauchi Lioni.

Londrina
2026

Ficha de identificação da obra elaborada pelo autor, através do Programa de Geração Automática do Sistema de Bibliotecas da UEL

A167d Abussafi, Leonardo Dib de Sousa.

DESENVOLVIMENTO DE MÉTODOS PARA PROSPECÇÃO DE BACTÉRIAS DE SOLOS DE DEPÓSITOS PLÁSTICOS COM POTENCIAL DE CRESCIMENTO EM MEIO ENRIQUECIDO COM POLIETILENO DE ALTA DENSIDADE / Leonardo Dib de Sousa Abussafi. - Londrina, 2026.
105 f. : il.

Orientador: Lucy Megumi Yamauchi Lioni.

Dissertação (Mestrado em Microbiologia) - Universidade Estadual de Londrina, Centro de Ciências Biológicas, Programa de Pós-Graduação em Microbiologia, 2026.

Inclui bibliografia.

1. Polietileno de alta densidade - Tese. 2. Microplásticos - Tese. 3. Biodegradação - Tese. 4. Bioprospecção - Tese. I. Megumi Yamauchi Lioni, Lucy . II. Universidade Estadual de Londrina. Centro de Ciências Biológicas. Programa de Pós-Graduação em Microbiologia. III. Título.

CDU 579

LEONARDO DIB DE SOUSA ABUSSAFI

**DESENVOLVIMENTO DE MÉTODOS PARA
PROSPECÇÃO DE BACTÉRIAS DE SOLOS DE
DEPÓSITOS PLÁSTICOS COM POTENCIAL DE
CRESCIMENTO EM MEIO ENRIQUECIDO COM
POLIETILENO DE ALTA DENSIDADE**

Dissertação apresentada ao
Programa de Pós- Graduação em
Microbiologia da Universidade
Estadual de Londrina - UEL, como
requisito parcial para a obtenção do
título de Mestre em Microbiologia.

BANCA EXAMINADORA

Prof^a. Dr^a. Lucy Megumi Yamauchi Lioni
Orientador
Universidade Estadual de Londrina - UEL

Dr^a. Helena Tiemi Suzukawa
Universidade Estadual de Londrina - UEL

Dr. Guilherme Bartolomeu Gonçalves
Universidade Estadual de Londrina - UEL

Londrina, 27 de fevereiro de 2026.

AGRADECIMENTOS

À **Prof^a. Dr^a Lucy Megumi Yamauchi Lioni**, por toda a confiança e recursos investidos no trabalho, e pelos desafios apresentados ao percurso, que permitiram testar minhas limitações acadêmicas, pessoais e autonomia.

À **Prof^a. Dr^a Sueli Fumie Yamada Ogatta** e ao **Prof. Dr. Eliandro Reis Tavares** por todos os direcionamentos, e pelo caloroso acolhimento em sua equipe.

Ao **Me. João Paulo de Oliveira**, co-fundador da Bio3, e ao **Prof. Dr. Admilton Gonçalves De Oliveira Junior**, pelas orientações no planejamento das metodologias de prospecção.

À **Prof^a. Dr^a. Tânia Aparecida da Silva Klein**, Coordenadora vigente do Curso de Ciências Biológicas, pelo auxílio em possibilitar a execução desse trabalho.

À **Patrícia Jovêncio Henrique**, por calorosamente possibilitar a coleta de amostras de solo. E ao **Claudinei Batista Cantanti**, sócio administrador da Cantiplas[®], que gentilmente proveu amostras de plásticos comerciais. Exemplos de trabalhadores brasileiros que, mesmo sem perspectivas de receber nada em troca, escolheram prontamente por ajudar o próximo, e por contribuir com o avanço da ciência nacional.

À **IC jr. Sophia Rossi Freire da Rosa**, e ao **IC Guilherme de Oliveira Oti**, pela indispensável ajuda na execução laboral deste trabalho, e por me permitirem guiá-los e ensiná-los nesse percurso, dentro de minhas limitações. E à **Dra. Mickely Liuti Dealis Gomes**, **Dr. Matheus Felipe de Lima Andreata** e **Dr. Leandro Afonso da Silva**, por terem feito o mesmo comigo durante minha graduação.

À CAPES pela bolsa de estudos e apoio financeiro vital concedido.

À minha irmã, **Sofia de Sousa Abussafi**, por ajudar a construir, junto aos meus pais, o lar acolhedor ao qual sempre pude voltar, certo de que seria amado.

À minha brilhante companheira **Tacieli Maria de Almeida**, por confiar em meu potencial, por sempre me motivar a ser melhor, e por trazer cor, leveza, paixão e amor a um processo que, sem ela, seria pouco vivido.

Aos meus pais, **Arley Dib Casagrande Abussafi** e **Diana Florência Gonçalves de Sousa Abussafi**, que juntos, e com grande amor e esforço, sempre possibilitaram e contribuíram para meus sonhos antes mesmo que eu pudesse nomeá-los. Sempre foram, e seguirão sendo por toda minha história, o alicerce silencioso de cada conquista minha.

E a mim mesmo, por ter acordado todos os dias com a possibilidade de desistir e jamais ter considerado outra coisa senão continuar.

“Posso fazer isso o dia todo”

Steven Grant Rogers

..

RESUMO

ABUSSAFI, Leonardo Dib de Sousa. **Desenvolvimento de métodos para prospecção de bactérias de solos de depósitos plásticos com potencial de degradar polietileno de alta densidade**. 2026. 79. Dissertação (Mestrado em Microbiologia) – Centro de Ciências Biológicas, Universidade Estadual de Londrina, Londrina, 2026.

A poluição ambiental por plásticos, em especial pelo polietileno de alta densidade (PEAD), constitui um problema persistente devido à elevada recalcitrância desse polímero, à baixa biodisponibilidade de suas cadeias e à complexidade metodológica envolvida na prospecção e triagem de microrganismos com potencial de interagir com esse substrato. Nesse contexto, o presente trabalho teve como objetivo formular meios de cultivo para triagem e isolamento de microrganismos com potencial de degradar PEAD, utilizando *Pleurotus ostreatus* como modelo. Também de desenvolver métodos de bioprospecção de bactérias com potencial de degradar PEAD e avaliar *pools* obtidos pelos métodos de prospecção por meio de ensaios baseados na formação de halos claros em poços de difusão. Foram formulados meios mínimos contendo PEAD em diferentes granulometrias, combinados ou não com aditivos como Tween80 e óleo mineral, avaliando-se parâmetros críticos como dispersão do polímero no meio solidificado e resposta de crescimento fúngico. Observou-se que o Tween80 melhorou a homogeneização das partículas de PEAD, enquanto o óleo mineral comprometeu a uniformidade do meio, limitando a aplicabilidade de ensaios em placas. Verificou-se também que *P. ostreatus* não formou halos claros em nenhuma das formulações testadas, e que a presença simultânea de múltiplas fontes de carbono (PEAD, Tween e óleo mineral) esteve associada à redução da densidade micelial e à diminuição da velocidade de crescimento, indicando interferência nutricional. Para bioprospecção bacteriana, foram empregadas metodologias baseadas em plaqueamento direto e enriquecimento em meio contendo PEAD, com posterior isolamento em meios não seletivos e em meio solidificado formulado contendo PEAD. A passagem por esse meio “MP1 Ágar” reduziu o número de morfotipos recuperados, evidenciando caráter seletivo do meio, embora sem dados suficientes para inferir se tal seletividade favorece microrganismos

com capacidade de biodegradação de PEAD. Na triagem por poços de difusão, 20 *pools* bacterianos foram avaliados, sendo que apenas o *pool* 101GR apresentou formação consistente de halo claro em meios específicos, com caráter compatível com a degradação dos gelificantes. Quando os integrantes do *pool* foram isolados, o fenótipo de halo não foi reproduzido pelos isolados, sugerindo dependência de alta densidade celular, ou de interações consorciadas, para expressão do efeito observado. Conclui-se que o trabalho estabeleceu um conjunto de formulações e um fluxo experimental de prospecção e triagem reprodutível para seleção inicial de *pools* e isolados obtidos sob pressão seletiva do PEAD, ao mesmo tempo em que identificou limitações fundamentais de interpretação em ensaios baseados exclusivamente em halos, crescimento ou alterações visuais em placas. Assim, os resultados fornecem uma base metodológica inicial para estudos posteriores que integrem validações analíticas específicas e ensaios direcionados à comprovação de biodegradação efetiva do PEAD pelos morfotipos isolados.

Palavras-chave: Polietileno de alta densidade; microplásticos; biodegradação; bioprospecção; *Pleorotus ostreatus*.

ABSTRACT

ABUSSAFI, Leonardo Dib de Sousa. **Development of methods for prospecting soil bacteria from plastic deposits with the potential to degrade high-density polyethylene.** 2026. 79. Dissertação (Mestrado em Microbiologia) – Centro de Ciências Biológicas, Universidade Estadual de Londrina, Londrina, 2026.

Environmental pollution from plastics, especially high-density polyethylene (HDPE), is a persistent problem due to the high recalcitrance of this polymer, the low bioavailability of its chains, and the methodological complexity involved in prospecting and screening microorganisms with the potential to interact with this substrate. In this context, the present work aimed to formulate culture media for screening and isolating microorganisms with the potential to degrade HDPE, using *Pleurotus ostreatus* as a model. It also aimed to develop bioprospecting methods for bacteria with the potential to degrade HDPE and to evaluate pools obtained by prospecting methods through assays based on the formation of clear halos in diffusion wells. Minimal media containing HDPE in different particle sizes were formulated, combined or not with additives such as Tween80 and mineral oil, evaluating critical parameters such as polymer dispersion in the solidified medium and fungal growth response. It was observed that Tween80 improved the homogenization of HDPE particles, while mineral oil compromised the uniformity of the medium, limiting the applicability of plate assays. It was also found that *P. ostreatus* did not form clear halos in any of the formulations tested, and that the simultaneous presence of multiple carbon sources (HDPE, Tween, and mineral oil) was associated with reduced mycelial density and decreased growth rate, indicating nutritional interference. For bacterial bioprospecting, methodologies based on direct plating and enrichment in a medium containing HDPE were employed, followed by isolation in non-selective media and in a formulated solidified medium containing HDPE. Passage through this "MP1 Agar" medium reduced the number of morphotypes recovered, evidencing the selective nature of the medium, although without sufficient data to infer whether such selectivity favors microorganisms with the capacity to biodegrade HDPE. In diffusion well screening, 20 bacterial pools were evaluated, with only *pool* 101GR showing consistent formation of a clear halo in specific media, consistent with the degradation of gelling agents. When the *pool* components were isolated, the halo phenotype was not reproduced by the isolates,

suggesting a dependence on high cell density or consortiated interactions for the expression of the observed effect. It is concluded that this work established a set of formulations and a reproducible experimental workflow for prospecting and screening for the initial selection of pools and isolates obtained under selective pressure of HDPE, while also identifying fundamental limitations of interpretation in assays based exclusively on halos, growth, or visual changes in plates. Thus, the results provide an initial methodological basis for subsequent studies that integrate specific analytical validations and assays aimed at proving the effective biodegradation of HDPE by isolated morphotypes.

Keywords: High-density polyethylene; microplastics; biodegradation; bioprospecting; *Pleurotus ostreatus*.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Representação da distribuição percentual dos plásticos produzidos no ano de 2025	26
Figura 2 – Representação esquemática dos tipos de plásticos, seus principais usos e destinos após o descarte	27
Figura 3 – Representação esquemática do monômero do polietileno, e da organização dos monômeros em seus subtipos, de alta e baixa densidade.....	33
Figura 4 – Representação esquemática das diferentes metodologias de prospecção empregadas no estudo	48
Figura 5 – Representação ilustrativa da escala de homogeneidade de partículas de PEAD em meio solidificado medida em cruzeiros (a), e da escala de densidade micelial com níveis de 1 a 10 (b)	54
Figura 6 – Imagem de satélite das áreas das cooperativas de reciclagem contendo os pontos de coleta de 1 a 5 (a), e os pontos de 6 a 10 (b). E imagens em solo das cooperativas 1 (c) e 2 (d)	62
Figura 7 – Gráficos representativos das condições de temperatura (a) e precipitação (b) no período da coleta e dos 7 dias anteriores	63
Figura 8 – Imagem do <i>pool</i> 101GR cultivado em AN (a), a placa se mostra tombada permitindo captar a irregularidade da superfície do ágar. Imagem dos poços em MP1 Ágar inoculados com representante da amostra de solo 7, mostrando a iridescência do material ao redor dos poços.....	68
Figura 9 – Imagem dos halos claros formados ao redor de poços inoculados com o <i>pool</i> completo 101GR em MP1 Ágar (a) e MP1 Agarose (b), após 8 dias de incubação.....	70

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Compilado de resultados de destaque em estudos anteriores sobre biodegradação de PEAD, e suas metodologias	40
Tabela 2 – Comparação direta das diferentes formulações utilizadas nos experimentos.....	51
Tabela 3 – Avaliação do crescimento de <i>P. ostreatus</i> em meios com diferentes fontes de carbono	55
Tabela 4 – Relação do número de colônias com morfologias distintas obtidas em cada metodologia de prospecção testada e suas variantes.....	64
Tabela 5 – Análise de formação de halo com <i>pool</i> 101GR e seus isolados em diferentes condições de cultivo.	69
Tabela 6 – Crescimentos de 101GR4 e 101GR6 em meios CNA, MacConkey e Meio Zero.....	76
Tabela 7 – Compilado de coordenadas de cada ponto de amostragem e características do solo coletado.	82

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

°C – Graus Celsius

μL – Microlitro

μm – Micrômetro(s)

¹³C – Carbono-13

¹³CO₂ – Dióxido de carbono marcado com carbono-13

AN – Ágar Nutriente

B.O.D. – *Biochemical Oxygen Demand*

BOPP – *Biaxially Oriented Polypropylene*

CAS – *Chemical Abstracts Service*

CH₄ – Metano

cm – Centímetro(s)

CN – Caldo Nutriente

CNA – *Columbia Nalidixic Acid Agar*

CO₂ – Dióxido de carbono

DDT – Diclorodifeniltricloroetano

DNA – Ácido desoxirribonucleico

DO – Densidade Óptica

DSC – *Differential Scanning Calorimetry*

FT-IR – *Fourier Transform Infrared Spectroscopy*

g – Grama(s)

g/L – Gramas por litro

GC-MS – Cromatografia Gasosa acoplada à Espectrometria de Massas

GEE – Gases de Efeito Estufa

GPC – *Gel Permeation Chromatography*

GUA – *Gesellschaft für umfassende Analysen*

h – Hora(s)

HDPE – *High-Density Polyethylene*

LC-MS – *Liquid Chromatography-Mass Spectrometry*

M0 – Meio Zero

mL – Mililitro(s)

mm – Milímetros

Mn – Massa molar numérica média

MP – Microplástico

MPs – Microplásticos

MP1 – Meio Plástico de primeira formulação

MP2 – Meio Plástico de segunda formulação

MPs – Microplásticos

Mt – Milhões de toneladas

Mw – Massa molar ponderal média

PE – Polietileno

PEAD – Polietileno de alta densidade

PEBD – Polietileno de baixa densidade

PEMD – Polietileno de média densidade

PET – Politereftalato de etileno

PP – Polipropileno

PS – Poliestireno

PVC – Policloreto de vinila

rpm – Rotações por minuto

rRNA – *Ribosomal Ribonucleic Acid*

SEC – *Size-Exclusion Chromatography*

TSA – *Tryptic Soy Agar*

UEL – Universidade Estadual de Londrina

UHMWPE – *Ultra high molecular weight polyethylene*

UV – Ultravioleta

v/v – Relação volume/volume

XRD – *X-ray diffraction*

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	22
2	REVISÃO DA LITERATURA	25
2.1	USO DE PLÁSTICOS PELA HUMANIDADE	25
2.2	MICROPLÁSTICOS E A SAÚDE	28
2.3	MICROPLÁSTICOS COMO PROBLEMA AMBIENTAL	30
2.4	POLIETILENO DE ALTA DENSIDADE	32
2.5	GERENCIAMENTO DE RESÍDUOS	34
2.6	BIODEGRADAÇÃO DO PEAD	36
2.7	OBSTÁCULOS DA PADRONIZAÇÃO DA BIODEGRADAÇÃO NA LITERATURA	40
3	OBJETIVO GERAL	43
3.1	OBJETIVOS ESPECÍFICOS	43
4	DESENVOLVIMENTO	44
4.1	METODOLOGIA	44
4.1.1	<i>Pleurotus ostreatus</i>	44
4.1.1.1	Manejo do fungo	44
4.1.1.2	Fontes de carbono	44
4.1.1.3	Formulação dos meios com diferentes fontes de carbono	44
4.1.1.4	Avaliação do crescimento de <i>P. ostreatus</i> em meios com diferentes fontes de carbono	45
4.1.2	Prospecção de Bactérias com Potencial de Degradar PEAD	45
4.1.2.1	Amostragem de solos ricos em resíduos plásticos	45
4.1.2.2	Prospecção de <i>pools</i> bacterianos de amostras de solos ricos em resíduos plásticos	46
4.1.2.3	Formação de halo em metodologia de poços de difusão	49
4.1.2.4	Seleção e caracterização inicial de isolados	49
5	RESULTADOS E DISCUSSÃO	50
5.1	<i>PLEUROTUS OSTREATUS</i>	50
5.1.1	Formulação dos Meios com Diferentes Fontes de Carbono	50
5.1.2	Avaliação do Crescimento de <i>P. ostreatus</i> em Meios com Diferentes Fontes de Carbono	53
5.2	PROSPECÇÃO DE BACTÉRIAS COM POTENCIAL DE DEGRADAR PEAD	61
5.2.1	Amostragem de Solos Rico em Resíduos Plásticos	61

5.2.2	Prospecção de <i>Pools</i> Bacterianos de Amostras de Solos Ricos em Resíduos Plásticos.....	64
5.2.3	Formação de Halo em Metodologia de Poços de Difusão	67
5.2.4	Seleção e Caracterização Inicial de Isolados.....	75
6	CONCLUSÃO	80
7	MATERIAL SUPLEMENTAR.....	81
7.1	COORDENADAS E DESCRIÇÕES DOS PONTOS DE COLETA DAS AMOSTRAS DE SOLO.....	81
8	REFERÊNCIAS.....	83

1 INTRODUÇÃO

A produção mundial de plásticos apresenta um crescimento contínuo ao longo dos anos (Plastics Europe, 2025). No ano de 2024 foram produzidas aproximadamente 430,9 milhões de toneladas (Mt) de plásticos. Apesar do aumento expressivo na produção global de plásticos, menos de 10% dos plásticos gerados globalmente são reciclados, resultando em sete bilhões de toneladas de resíduos plásticos produzidos até hoje (Geyer *et al.*, 2020), e milhões de toneladas de plásticos sendo descartados todos os anos (Houqian Li *et al.*, 2022). Em 2022, 103,10 Mt foram enviadas para aterros, 89,99 Mt destinadas para queima, e 29,6 Mt descartadas de maneira irregular, em rios, lagos, oceanos ou solo (Houssini, Li, Tan, 2025). Em todas as condições de descarte citadas, os plásticos sofrem foto-oxidação, oxidação térmica, abrasão, degradação química e biológica. Nesses processos os plásticos são fragmentados em partículas com diâmetro inferior a 5mm, conhecidas como microplásticos (Luo *et al.*, 2022; Zhang *et al.*, 2021a).

Microplásticos (MP), a todo momento, são dispersos no ambiente, podendo ser encontrados no ar, na água potável, nos alimentos, em lagos, rios e oceanos (Barbosa *et al.*, 2020; Boyle *et al.*, 2020; Chen *et al.*, 2020a; Chen *et al.*, 2020b; Frias e Nash, 2019; Hui *et al.*, 2021; Materić; Holzinger; Niemann, 2022; Mitrano, Wick, Nowack, 2021; Patti *et al.*, 2020; Xu *et al.*, 2020). Os microplásticos carregam consigo substâncias tóxicas próprias de sua composição: estabilizantes, corantes, plastificantes ou retardadores de chama (Seewoo *et al.*, 2024); e substâncias adsorvidas à sua superfície durante toda sua passagem no ambiente, como metais pesados (Liu *et al.*, 2022a), diclorodifeniltricloroetano (DDT) (Zhang *et al.*, 2021b), hidrocarbonetos aromáticos policíclicos (Verla *et al.*, 2019), também microrganismos invasores, genes de resistência a antibióticos e até microrganismos patogênicos resistentes a antibióticos (Jaafarzadeh *et al.*, 2024). Microplásticos, muitas vezes, provocam aumento na taxa de transferência horizontal de genes nas regiões em que se encontram, inclusive daqueles que codificam resistência a antibióticos (Zhao *et al.*, 2023a).

Microplásticos também afetam a saúde humana (Li *et al.*, 2023). Com enorme capacidade de dispersão, e ubiquidade, MPs são diariamente ingeridos

e inalados (Zhang *et al.*, 2020; Zuri *et al.*, 2023). Evidências em modelos animais apontam que essas partículas podem perdurar por longos períodos nos pulmões e acumularem-se em fígado, rins e cérebro, gerando significativa toxicidade celular (Cetin *et al.*, 2023; Guo *et al.*, 2024; Horvatits *et al.*, 2022; Jenner *et al.*, 2022; Lourenço *et al.*, 2024). Também podem provocar mutagênese e carcinogênese (Balali *et al.*, 2024; Domenech *et al.*, 2023; Lithner *et al.* 2011), perda de peso e morte (Meng *et al.*, 2022; Wong *et al.*, 2020). Assim, geram impactos constantes à saúde humana e meio ambiente, afetando a vida aquática e terrestre (Blettler *et al.*, 2021; Seewoo *et al.*, 2024; Wright *et al.*), não só de animais e microrganismos, mas também de algas e plantas (Hartmann *et al.*, 2022; Li *et al.*, 2020).

O polietileno é um polímero termoplástico de ampla utilização em embalagens, e representa 26% de toda a massa de plásticos produzida por ano (Plastics Europe, 2025). Seu subtipo mais recalcitrante, o Polietileno de Alta Densidade (PEAD), representa sozinho 46,9% desse valor (Plastics Europe, 2025), que hoje frequentemente representa a maior parte dos MPs encontrados (Beibei He *et al.*, 2020; Ramaremissa *et al.*, 2022; Saad *et al.*, 2024). Portanto, uma estratégia que ao menos mitigue a dispersão de MPs de PEAD se faz mais do que necessária.

As opções de manejo atuais de macroplásticos (posteriores geradores de MP) se mostram ineficazes, com a reciclagem mecânica produzindo mais MPs, assim como o descarte em aterros sanitários e a incineração (Yang *et al.*, 2021; Zhao *et al.*, 2023b). Uma alternativa discutida é a biodegradação, que utiliza microrganismos, como o fungo degradador de PEAD *Pleurotus ostreatus* (Ratuchne *et al.*, 2023), para degradar macro e microplásticos. A biodegradação também reduz a necessidade de limpeza ou triagem prévia dos plásticos pós-consumo, caso haja na aplicação a diversidade metabólica necessária para se lidar com os plásticos descartados. A biodegradação é considerada uma solução sustentável, e de subprodutos ecologicamente seguros (Barone *et al.*, 2020; Chandra *et al.*, 2020; Liu *et al.*, 2021; Pham *et al.*, 2021).

A biodegradação de PEAD, no entanto, lida atualmente com uma séria limitação em relação à padronização de métodos. Principalmente no que tange aos métodos de prospecção de bactérias com potencial de degradar PEAD. Atualmente, não há padronização de condições de cultivo, temperatura,

composição do meio, carga microbiana, do próprio formato e tipo do plástico a ser utilizado, ou sobre a presença de aditivos como óleo mineral, Tween80 e gelificantes (Martínez *et al.*, 2021; McDonough *et al.*, 2023; Menzies *et al.*, 2022; Montazer *et al.*, 2020; Ghatge *et al.*, 2020). Com métodos nos quais se obtém “zonas de clareamento” que não indicam degradação com exatidão.

Nesse contexto, este estudo insere-se na problemática ao contribuir com a análise de condições padronizadas para prospecção, seleção e avaliação de bactérias potencialmente capazes de utilizar o PEAD como fonte exclusiva de carbono. Busca-se, assim, gerar bases conceituais e metodológicas que possam subsidiar futuras aplicações biotecnológicas voltadas à mitigação da poluição plástica, especialmente no que diz respeito à fração microplástica ambientalmente persistente.

2. REVISÃO DA LITERATURA

2.1 USO DE PLÁSTICOS PELA HUMANIDADE

A humanidade tira proveito de polímeros fabricados desde aproximadamente 1600 a.C., quando a borracha natural foi processada pela primeira vez, pelos antigos mesoamericanos para produzir objetos diversos (Hosler *et al.*, 1999). Desse momento em diante, a humanidade foi elevando o status de materiais semelhantes cada vez mais de “convenientes” a “estruturalmente necessários” sendo fabricados polímeros naturais com chifre, ceras, borracha natural e resinas, até o início do século XIX, quando se deu início ao desenvolvimento dos termoplásticos conhecidos hoje. Em 1839, Eduard Simon, um boticário alemão, descobriu o poliestireno (PS), e um tempo depois o policloreto de vinila (PVC), foi sintetizado, e pelo menos mais 15 classes de polímeros foram desenvolvidas apenas na primeira metade do século XX. (Andrady *et al.*, 2009).

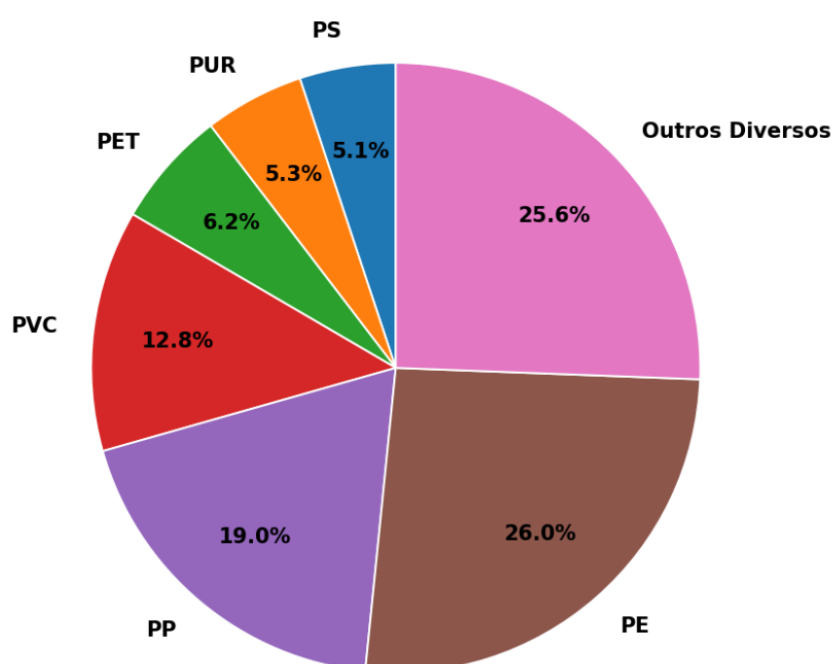
Os plásticos representaram uma revolução na engenharia de materiais. Podendo ser leves, resistentes a choque, calor, produtos químicos, estiramento, eletricidade, corrosão, sendo baratos e versáteis, bem como facilmente introduzidos em plantas fabris (Andrady *et al.*, 2009). Além disso, podem reduzir o consumo de energia e as emissões de gases de efeito estufa (GEE), ao substituir outros materiais (Meng *et al.*, 2024). Nesse sentido, um estudo publicado em janeiro de 2005 pela GUA (Gesellschaft für umfassende Analysen) constatou que o envase de bebidas em politereftalato de etileno (PET), em comparação com vidro ou metal, reduzia o consumo de energia em 52% e as emissões de gases de efeito estufa em 55%. Outro estudo reportou que o investimento energético para a fabricação de um copo de cerâmica, no lugar de um copo de poliestireno expandido (isopor), fazia com que um único copo de cerâmica tivesse de ser usado centenas de vezes para igualar a relação “uso do produto por investimento energético para sua produção” entre ambos (Hocking *et al.*, 1994; Ivanov *et al.*, 2016). Assim, durante os últimos 60 anos, a produção e o consumo globais de plásticos aumentaram enormemente devido a fatores como: crescimento populacional, à industrialização, ao consumismo e ao desenvolvimento tecnológico etc (Mohajan, 2025), com as demandas atuais

girando em torno de mais de 430 milhões de toneladas de plásticos anualmente (Plastics Europe, 2025).

Da gama de plásticos mais produzidos hoje, destacam-se o Poliestireno (PS), Poliuretano (PUR), Politereftalato de etileno (PET), Policloreto de vinila (PVC), Polipropileno (PP) e o Polietileno (PE), como representado na Figura 1.

Figura 1 – Representação da distribuição percentual dos plásticos produzidos no ano de 2025.

Distribuição percentual dos plásticos produzidos atualmente



Fonte: Adaptado de Plastics Europe 2025. – Poliestireno (PS), Poliuretano (PUR), Politereftalato de etileno (PET), Policloreto de vinila (PVC), Polipropileno (PP) e Polietileno (PE).

O PS é comumente utilizado na forma de copos descartáveis, bandejas de alimentos, isopor, embalagens, caixas térmicas, potes rígidos, e talheres descartáveis. O PUR encontra-se na composição de espumas de colchões e estofados, espumas rígidas de isolamento térmico, solas de calçados, selantes/colas, vernizes e tintas. O PET, em garrafas de refrigerante, água, frascos de óleo e alimentos, embalagens transparentes, fibras têxteis (na forma de poliéster) e filmes. Enquanto o PVC é reconhecido em tubos e conexões hidráulicas, mangueiras, cabos elétricos (revestimento), pisos vinílicos,

esquadrias e cartões plásticos. O PP, por sua vez, é encontrado em potes de alimentos, tampas, seringas e outros materiais hospitalares descartáveis, sacarias, embalagens rígidas e peças automotivas. Enquanto o PE pode compor sacolas e filmes plásticos, embalagens flexíveis, frascos de detergente, leite, tampas, baldes, galões, tubulações etc. Uma representação esquemática, contendo esses e outros tipos de plásticos, seus principais usos e destinos após o descarte se encontra na Figura 2.

Figura 2 – Representação esquemática dos tipos de plásticos, seus principais usos e destinos após o descarte.



Fonte: O próprio autor. – Politereftalato de etileno (PET), Polietileno de alta densidade (HDPE), Policloreto de vinila (PVC), Polietileno de baixa densidade (LDPE), Polipropileno (PP) e Poliestireno (PS).

Somado a alta produção atual, estima-se que aproximadamente 50% dos plásticos produzidos são descartados após um único uso, muitas vezes após poucos dias ou minutos (Geyer *et al.*, 2017). Assim, com uma crescente tão agressiva na produção de plásticos desde 1950 (Kumagai *et al.*, 2020), houve também o fracasso de técnicas adequadas para o manejo dos resíduos plásticos. Como consequência, observa-se que até o ano de 2020, das sete bilhões de toneladas de resíduos plásticos geradas até o momento, estimou-se que apenas cerca de 10% foram recicladas, 14% foram incineradas, enquanto os 76% restantes teriam sido descartados em aterros sanitários, lixões ou no meio

ambiente (Geyer *et al.*, 2017). Em números absolutos, em 2022, com cerca de 400 milhões de toneladas de plástico produzidas somente nesse ano, mais de 267 milhões de toneladas foram descartadas, 103,10 milhões sendo enviadas para aterros, 89,99 milhões sendo destinadas para queima, e 29,6 milhões sendo descartadas de maneira irregular, em rios, lagos, oceanos ou solo (Houssini; Li; Tan, 2025).

Em todas as condições de descarte citadas, os plásticos são colocados sob ação de foto-oxidação, oxidação térmica, abrasão mecânica, degradação química e biológica. Sob tais condições, os plásticos são fragmentados e particulados dando origem a corpos com diâmetro menores do que 5mm, conhecidos como microplásticos (Halle *et al.*, 2017; Luo *et al.*, 2022; Zhang *et al.*, 2021a).

2.2 MICROPLÁSTICOS E A SAÚDE

Os microplásticos (MPs) são usualmente classificados em primários ou secundários com base em sua origem. MPs primários são propositalmente produzidos em processos fabris. Geralmente sendo utilizados como pós abrasivos, usados em cosméticos ou produtos de limpeza. Enquanto MPs secundários são microplásticos advindos do processo de degradação, envelhecimento e deterioração de plásticos maiores (macroplásticos) (Andrady, 2011; Browne *et al.*, 2007; Browne *et al.*, 2011).

Devido ao seu pequeno tamanho, e grande área superficial relativa, os MPs são geralmente considerados um risco ambiental maior do que partículas de plástico maiores (Cole *et al.*, 2015). Por onde passam, os microplásticos carregam consigo substâncias tóxicas que foram adicionadas à sua composição durante sua fabricação, nomeadas de aditivos. Esses aditivos somam até 13.000 substâncias que possuem diversas funções, sendo as principais delas modificar propriedades do plástico. Tais aditivos podem tornar os plásticos mais resistentes à radiação ultravioleta (UV) ou calor, torná-los mais macios, transparentes, endurecidos, ou ainda atuar como estabilizantes, corantes, plastificantes, retardadores de chama, sequestrantes de ácido, agentes antiestáticos, lubrificantes, plastificantes etc. Esses aditivos, muitas vezes incluem em sua composição metais, como cádmio, cromo, chumbo, mercúrio,

cobalto e zinco (Megill *et al.*, 2024; Turner *et al.*, 2021), e podem, mesmo que raramente, representar até 50% do peso total do polímero (Hahladakis *et al.*, 2018; Turner *et al.*, 2021).

Os MPs não carregam consigo apenas aditivos tóxicos, mas também substâncias que são adsorvidas à sua superfície durante sua passagem no ambiente. Dentre essas substâncias estão metais pesados (Liu *et al.*, 2021), diclorodifeniltricloroetano (DDT) (Zhang *et al.*, 2021b), e hidrocarbonetos aromáticos policíclicos (Verla *et al.*, 2019). Os MPs também podem carregar genes de resistência a antibióticos e até microrganismos patogênicos resistentes a antibióticos (Jaafarzadeh *et al.*, 2024). Microplásticos também podem provocar aumento na taxa de transferência horizontal de genes nas regiões em que se encontram, podendo facilitar a transferência de genes envolvidos em resistências diversas (Zhao *et al.*, 2023a).

No que tange à saúde humana, pessoas absorvem MPs diariamente. As vias principais são: pela ingestão de alimentos contaminados, pela água, ao terem contato com itens de higiene pessoal, roupas sintéticas, e até mesmo a poeira ou o ar (Zhang *et al.*, 2020; Zuri *et al.*, 2023). Tais fenômenos, hoje, se dão em escala tão significativa que se estima que cada ser humano ingira entre 39.000 e 52.000 partículas, e inale outras 96.832, todos os anos (Coppock *et al.*, 2019; Cox *et al.*, 2019; Vianello *et al.*, 2019). Parte dessas partículas acumulam-se em vários tecidos e órgãos (Cetin *et al.* 2023; Guo *et al.* 2024; Horvatits *et al.* 2022; Jenner *et al.* 2022; Lourenco *et al.* 2024; Zhao *et al.* 2023b), mas também fluidos corporais (Abbasi e Turner 2021; Huang *et al.* 2022b; Leslie *et al.* 2022; Montano *et al.* 2023; Ragusa *et al.* 2022). Partículas mais diminutas podem ser transportadas para a circulação sanguínea ou para o sistema linfático por macrófagos (Rahman *et al.*, 2022), sendo encontradas até mesmo na placenta de mulheres da República Tcheca (Halfar *et al.* 2023), Itália (Ragusa *et al.* 2021), Alemanha (Braun *et al.* 2021), China (Liu *et al.* 2022b e 2023; Sun *et al.* 2024a), Irã (Amereh *et al.* 2022), Estados Unidos da América (Garcia *et al.* 2024; Weingrill *et al.* 2023), Canadá (Zurub *et al.* 2024) e Brasil (Oliveria *et al.*, 2025).

Evidências em modelos animais apontam que os MPs podem perdurar por longos períodos nos pulmões, e acumularem-se em fígado, rins e cérebro, gerando significativa toxicidade celular (Gaspar *et al.*, 2023). Em casos extremos, MPs podem levar à perda de peso e morte (Meng *et al.*, 2022; Wong

et al., 2020). Mesmo que não levem o organismo à morte, suas espécies químicas adsorvidas também podem provocar: disfunção do sistema endócrino, diabetes tipo 2, puberdade precoce, obesidade, anormalidades neurocomportamentais, distúrbios de crescimento, artrite, comprometimento neurológico, mutagênese, carcinogênese, infertilidade e até hipometilação do DNA (Balali *et al.*, 2024; Domenech *et al.*, 2023; Lithner *et al.* 2011). Dessa forma, o impacto transgeracional das alterações epigenéticas moleculares produzidas é capaz de afetar diversos sistemas orgânicos (Wade *et al.*, 2024).

2.3 MICROPLÁSTICOS COMO PROBLEMA AMBIENTAL

Microplásticos não se apresentam como danosos apenas à saúde humana (Li *et al.*, 2023), mas também afetam a vida aquática e terrestre (Blettler *et al.*, 2021; Seewoo *et al.*, 2024), não só de animais e microrganismos, mas também de algas e plantas (Hartmann *et al.*, 2022; Li *et al.*, 2020). Esses contaminantes são constantemente depositados no solo, e sua entrada pode ocorrer por diversas vias, com as principais sendo: i) o uso de filmes plásticos como cobertura morta para controle de crescimento e umidade (*mulching*) (Huang *et al.*, 2020; Qi *et al.*, 2020; Sun *et al.*, 2020); ii) a adição de fertilizantes orgânicos à base de resíduos de origem urbana (Watteau *et al.*, 2018); iii) a aplicação de biossólidos (van den Berg *et al.*, 2020); iv) o aumento de revestimentos de fertilizantes de liberação lenta (Katsumi *et al.*, 2021) e v) deposição atmosférica (Allen *et al.*, 2019).

A presença de tantas vias insistentes de contaminação do solo por MPs resulta em estimativas de que a entrada anual de plásticos, em solos agrícolas, esteja entre $63 - 430 \times 10^3$ t na Europa, $44 - 300 \times 10^3$ t na América do Norte, e potencialmente excedendo $1,3 \times 10^6$ t na China (Jian *et al.*, 2020; Nizzetto *et al.*, 2016). Enquanto no Brasil, uma pesquisa, realizada em uma bacia agrícola no sudeste brasileiro, apontou para a presença de entre 0,039 e 405 kg/ha de território cultivado (Arévalo-Hernández *et al.*, 2025), dados que, se extrapolados para o restante do território cultivado nacional, resultariam em números de até $25917,76 \times 10^3$ t de plásticos, apenas em solos agrícolas brasileiros (Miranda, 2018).

Os resultados da presença insistente de MPs no solo podem ser diversos,

incluindo perturbações na composição e no desenvolvimento da comunidade microbiana local (Miao *et al.*, 2019). Um exemplo seria os microplásticos de PEBD, que podem promover aumento do número de representantes da família *Burkholderiaceae* associadas à fixação de nitrogênio, mas diminuir a representatividade de *Sphingomonadaceae* e *Xanthobacteraceae* relacionadas à biodegradação de xenobióticos no solo (Fei *et al.*, 2020).

Obviamente esses impactos no solo acabam afetando suas funcionalidades ecológicas (Cui *et al.*, 2024). Tais efeitos sobre a comunidade microbiana afeta diretamente a atividade enzimática geral do solo, bem como ciclagem de nutrientes (Fei *et al.*, 2020; Huang *et al.*, 2019; Yi *et al.*, 2021), saúde da mesofauna (Huerta Lwanga *et al.*, 2019; Lahive *et al.*, 2019; Lin *et al.*, 2020), fitossanidade (de Souza Machado *et al.*, 2019; Zang *et al.*, 2020) e até emissões de gases com efeito de estufa (GEE) (Ren *et al.*, 2020; Sun *et al.*, 2020), regulação de pH e composição orgânica (Azeem *et al.*, 2021; Sun *et al.*, 2024b).

Ao contrário do que se pode imaginar, essas problemáticas não se abrandam com o passar do tempo. Na realidade, a grande maioria dessas propriedades deletérias ao ambiente se agrava com o tempo. Nos ambientes de descarte já citados, os microplásticos sofrem processos de deterioração, ou “envelhecimento”, que alteram suas propriedades físico-químicas, e por consequência seus impactos ambientais (Andrady, 2011; Jahnke *et al.*, 2017; Liu *et al.*, 2020b). Durante esse processo, o polímero sofre ação de diversos fenômenos de oxidação, seja radioativa (UV), térmica ou biológica. Gerando grupos oxigenados em sua superfície, que aumentam a carga superficial, a hidrofilicidade e a polaridade dos MPs. Essa oxidação influi diretamente em sua interação com poluentes ambientais (Duan *et al.*, 2021), podendo aumentar sua capacidade de adsorver poluentes orgânicos, como tetraciclina e ciprofloxacina. Mas também íons metálicos, como cátions divalentes de cádmio, cobre e zinco (Johansen *et al.*, 2019).

Durante a deterioração dos MPs, o diâmetro médio das partículas de MPs é reduzido (Hidalgo-Ruz *et al.*, 2012; Miranda-Urbina *et al.*, 2015). À medida que os MPs diminuem, a soma de sua área superficial específica aumenta, o que também aumenta seu contato com o ambiente, e sua adsorção de poluentes. Essa diminuição também acelera sua fragmentação, a liberação dos poluentes carregados, e facilita a adesão microbiana, o que propicia a formação de

biofilme, o que também aumenta a sua capacidade de adsorver poluentes diversos (Johansen *et al.*, 2019; Luo *et al.*, 2020; Wang *et al.*, 2020a; Zhang *et al.*, 2022a). Além disso, os MPs vão se tornando mais suscetíveis à captura por zooplânctons marinhos (Vroom *et al.*, 2017). O que acelera sua entrada em cadeias alimentares, e intensifica processos de bioacumulação não só dos MPs como também de seus poluentes adsorvidos.

Esse conjunto de problemáticas talvez não fossem de tamanha importância se a dispersão dos MPs fosse limitada. Contudo, a todo momento MPs são dispersos no ambiente por correntes de água e ar, podendo ser encontrados em praticamente todos os compartimentos ambientais. A exemplo: solo, sedimentos, águas superficiais, em diversas espécies de organismos, em produtos alimentícios como sal, mel, água engarrafada, em rios, lagos, oceanos, no fundo do mar, bem como suspensos na atmosfera (Barbosa *et al.*, 2020; Boyle *et al.*, 2020; Chen *et al.*, 2020a; Chen *et al.*, 2020b; Frias and Nash, 2019; Hui *et al.*, 2021; Materić, Holzinger, Niemann, 2022; Mitrano, Wick, Nowack, 2021; Patti *et al.*, 2020; Xu *et al.*, 2020). Como resultado, os MPs acabam atingindo até mesmo os espaços mais ermos do globo, como nos alpes e árticos (Allen *et al.*, 2019; Ambrosini *et al.*, 2019; Bergmann *et al.*, 2019), bem como no Himalaia (Sridharan *et al.*, 2021).

Por soma de todos os fatores acima citados é que a poluição ambiental por microplásticos foi reconhecida como um problema emergente no ambiente global (Sridharan *et al.*, 2021), exercendo efeitos profundos na integridade do ecossistema, na diversidade biológica e na saúde pública (Ding *et al.*, 2021). E em diversos desses ambientes contaminados, os microplásticos mais frequentemente encontrados são compostos em sua maioria por PE, principalmente PEAD (Beibei He *et al.*, 2020; Ramaremissa *et al.*, 2022; Saad *et al.*, 2024).

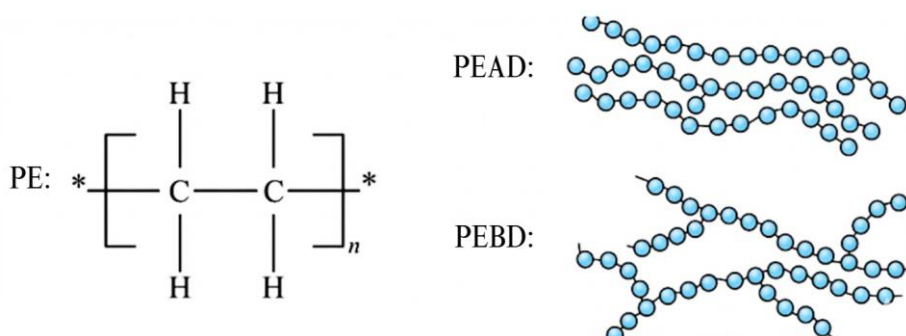
2.4 POLIETILENO DE ALTA DENSIDADE

O polietileno (PE) foi descoberto em 1933, por Reginald Gibson e Eric Fawcett, sendo sintetizado pela primeira vez em 1935. O PE é um polímero sintético de hidrocarboneto, produzido a partir da polimerização do gás etileno, e apresenta uma cadeia de alto peso molecular em uma estrutura de saturação

linear, podendo ser expresso como $-\text{[CH}_2\text{-CH}_2\text{]}_n-$ (Ahmad e Rodrigue, 2022; Clere *et al.*, 2022; Zhong *et al.*, 2017). A depender da temperatura e pressão usadas em seu processo de síntese, o PE resultante pode apresentar propriedades diferentes, sendo que em condições mais brandas o PEBD é formado, enquanto com temperaturas e pressões mais elevadas produz-se o polietileno de alta densidade (PEAD). Outros tipos de polietileno, de densidades mais intermediárias, ou até mais extremas, também podem ser formados, como o PEMD (polietileno de média densidade) e o UHMWPE (*ultra-high molecular weight polyethylene*, ou polietileno de peso molecular ultra alto).

A principal diferença entre essas duas variantes de PE (PEBD e PEAD) reside no nível de ramificação de suas cadeias. Enquanto PEBD apresenta maior número de ramificações, PEAD apresenta poucas ou nenhuma ramificação. Como consequência, as cadeias com menos ramificações do PEAD formam um empacotamento mais simétrico, unido e denso, com as cadeias construindo fortes interações por força de Van der Waals entre si. O resultado são cadeias próximas e um polímero mais denso, resistente e cristalino (Hussain *et al.*, 2024 e 2025; Yao *et al.*, 2023). O PEBD, por sua vez, possui mais ramificações em sua cadeia, o que provoca menor simetria, menores possibilidades de interação e aproximação entre suas cadeias, resultando em um polímero mais maleável, menos denso, menos resistente, menos cristalino e com uma proporção maior de porções amorfas, onde as cadeias possuem menor organização (Doran *et al.*, 2001; Kolesov *et al.*, 2015), conforme ilustrado na Figura 3.

Figura 3 – Representação esquemática do monômero do polietileno, e da organização dos monômeros em seus subtipos, de alta e baixa densidade.



Fonte: Adaptado de Baxter *et al.*, 2020.

O PEBD, representando atualmente 13,9% da produção mundial de plásticos (Plastics Europe, 2025), é um material semicristalino com cor base branco-leitosa, translúcido ou opaco, e toque ceroso, apresentando densidades próximas a 0,930 a 0,935 g/cm³. Possui grande resistência a choque mecânico; a produtos químicos e isolamento elétrico, sendo especificamente utilizado na produção de filmes ou sacos, recipientes, frascos dispensadores, frascos de lavagem, frascos flexíveis, tubos, sacos de lixo, fios, cabos, componentes elétricos, caixas de baterias, peças automotivas, utensílios domésticos etc (Sarker *et al.*, 2020).

O PEAD, por sua vez, representa atualmente 12,1% da produção mundial de plásticos (Plastics Europe, 2025), e apresenta densidades próximas a 0,945 a 0,965 g/cm³. Tem aspecto rígido, transparente ou branco opaco, sendo muito resistente a corrosão e degradação enzimática (Tao *et al.*, 2023), sendo utilizado em frascos de produtos de limpeza, caixilhos de janelas, sistemas de tubulação, móveis, sacolas de mercado, membranas impermeabilizantes, recipientes para armazenamento de alimentos, brinquedos, componentes pirotécnicos, tábuas de corte, equipamentos médicos, recipientes de químicos, fármacos etc (Paxton *et al.*, 2019; Vidakis *et al.*, 2021).

2.5 GERENCIAMENTO DE RESÍDUOS

Diversas estratégias têm sido propostas para lidar com o acúmulo de resíduos macroplásticos, os quais dão origem a partículas menores, como alternativas aos aterros sanitários, ambientes nos quais esses plásticos permanecem expostos ao meio ambiente e, de forma gradual, originam microplásticos (Kabir *et al.*, 2023).

A reciclagem mecânica é hoje a rota mais usada, responsável por mais de 90% da reciclagem de plásticos em massa global (Chen *et al.*, 2024; K. Ragaert *et al.*, 2017). Seu processo demanda coleta seletiva, triagem por tipo de polímero e cor, lavagem, trituração, fusão e extrusão em *pellets* que substituem resina virgem (Jiang *et al.*, 2025; Schyns *et al.*, 2020). Sua desvantagem reside na mistura de plásticos diferentes e contaminações que degradam as propriedades mecânicas do plástico e reduzem o valor do reciclado (Schyns *et al.*, 2020). Resultando na produção de polímeros de baixa qualidade (Asiandu *et*

al., 2021) e, adicionalmente, levar à geração de maiores quantidades de microplásticos.

Outra abordagem é a reciclagem química, na qual o polímero é quebrado em moléculas menores (monômeros ou matérias-primas petroquímicas) por processos como pirólise, solvólise, gasificação, hidrocraqueamento, hidrotratamento (Anunciato *et al.*, 2021; Kleczkowska *et al.*, 2022). Contudo, a reciclagem química necessita de alto consumo de energia (temperaturas em geral >400 °C em pirólise/gasificação) e necessidade de catalisadores sofisticados, possuindo escala industrial ainda limitada e custos elevados (Chanda *et al.*, 2021). Além de estar associada à emissão de gases de efeito estufa e à produção de resíduos tóxicos (Thiyagarajan *et al.*, 2022).

A incineração, por sua vez, pode contar com a produção de energia. Mas também promove a liberação de grandes volumes de gases de efeito estufa, estimados em aproximadamente 2,8 gigatoneladas de CO₂ por ano até 2050 (Lomwongsopon *et al.*, 2022). Se mal controlada, a incineração de plásticos também pode provocar a liberação de poluentes tóxicos como dioxinas, metais etc. (Fu *et al.*, 2022), exigindo sistemas caros de controle (Ajay *et al.*, 2023). E muitas vezes resulta em resíduos de material não completamente queimado presentes nas cinzas, que constituem uma fonte potencial de MPs a serem liberados no meio ambiente (Yang *et al.*, 2021).

Por fim, apresenta-se como alternativa a biodegradação desses polímeros por microrganismos. Essa estratégia, diferentemente das demais, baseia-se no fato de que muitos componentes das maquinarias metabólicas microbianas são naturalmente selecionados para operar de forma eficiente sob condições amenas de temperatura e pressão, não exigindo dispêndio energético adicional para a manutenção de condições específicas. Ademais, a degradação de resíduos plásticos pós-consumo pode ocorrer sem a necessidade de triagem ou limpeza prévia, desde que exista uma diversidade de microrganismos capazes de atuar sobre todo o conjunto de materiais descartados.

Além disso, esse processo não requer o uso de produtos químicos tóxicos para o processamento dos polímeros. A biodegradação é considerada por muitos autores uma solução sustentável (Barone *et al.*, 2020; Barth *et al.*, 2015; Chandra *et al.*, 2020; Liu *et al.*, 2021; Pham *et al.*, 2021) e uma abordagem realista, eficiente, de baixo custo e que não promove poluições secundárias

(Moharir e Kumar, 2019). Somado a isso, a identificação de cepas com características satisfatórias de degradação de MP pode servir como modelo para o desenvolvimento de fábricas de células microbianas, por meio da aplicação da engenharia genética, capazes de promover a produção de alto desempenho dessas vias metabólicas, de maneira semelhante ao que atualmente ocorre na produção de combustíveis e materiais (Lee *et al.*, 2023).

A biodegradação de polímeros plásticos constitui uma necessidade, uma vez que, mesmo no cenário em que materiais biodegradáveis viessem a monopolizar o mercado de plásticos, ainda seriam indispensáveis estratégias para lidar com os plásticos inertes, não facilmente biodegradáveis, produzidos ao longo do último século, bem como para evitar as consequências de sua deposição e fragmentação em MPs, além da poluição de diversos ambientes e dos riscos à saúde associados a esses materiais.

Desde a década de 1970, diversos estudos vêm sendo conduzidos com o objetivo de rastrear e identificar organismos capazes de degradar plásticos (Yang *et al.*, 2023), tendo sido identificados, até o momento, bactérias, fungos, algas e até mesmo organismos macroscópicos, como insetos, capazes de decompor e degradar plásticos e MPs em subprodutos ecologicamente seguros (Amobonye *et al.*, 2021; Chandra *et al.*, 2020). Contudo, todos os achados de biodegradação de plásticos até hoje, incluindo da biodegradação do PEAD, atribuem tal capacidade fundamentalmente aos microrganismos (Yang *et al.*, 2023).

2.6 BIODEGRADAÇÃO DO PEAD

O PEAD possui significativa hidrofobicidade por ser inteiramente composto de unidades repetidas de $-\text{CH}_2-\text{CH}_2-$, sem nenhum grupo polar oxigenado (Yang *et al.*, 2022). Tal propriedade dificulta a ação microbiana sobre o plástico, visto que, a maioria dos microrganismos possui uma superfície hidrofílica (Oliveira *et al.*, 2025; Tribedi e Sil 2013). A hidrofobicidade do PEAD também dificulta o ataque enzimático em si, visto que enzimas são proteínas solúveis cujos sítios ativos operam em fase aquosa, precisando adsorver ao substrato para gerar uma reação (Zhang *et al.*, 2022b). Assim, o PE naturalmente repele água e proteínas, impedindo a formação dessa interface

enzima–substrato (Poncin-Epaillard *et al.*, 2012).

Além da questão da hidrofobicidade, o PEAD apresenta grande prevalência de regiões cristalinas. Nessas regiões, as cadeias do PEAD estão densamente embaladas, paralelas e com mobilidade molecular mínima (Haider *et al.*, 2020; Vozniak, Bartczak, 2022). Nessas porções a cadeia está no estado de menor energia, com baixo grau de liberdade e praticamente nenhuma superfície acessível. Sob essas condições o acesso enzimático é prejudicado, já que para que uma ligação C–C seja quebrada, deve haver alguma flexibilidade local, ou acesso conformacional, para que radicais ou grupos funcionais sejam inseridos (Liang *et al.*, 2023).

Assim, mesmo que a enzima consiga alcançar a superfície do PEAD, não há espaço para induzir distorções ou para iniciar processos oxidativos, tornando as ligações internas quimicamente e fisicamente inacessíveis. Dessa forma, a cristalinidade cria uma barreira de baixa entropia e alta estabilidade, que inibe o ataque enzimático e produz regiões efetivamente inertes (Wei, Zimmermann, 2017), em qualquer porção da cadeia, com exceção de seus pontos terminais mais superficiais (Ammala *et al.*, 2011; Koutny *et al.*, 2006).

Por esses motivos a biodegradação do PE tem início, na realidade, em processos abióticos. Esses processos abióticos na natureza se apresentam como intemperismos mecânicos e oxidativos. Processos mecânicos realizam a quebra inicial do PE, possibilitando a exposição de áreas mais vulneráveis da cadeia, e a geração de porções terminais mais acessíveis. O processo oxidativo mais documentado ocorre por radiação UV. Esse processo se mostra como um forte fator para a quebra das ligações de carbono e hidrogênio, liberação de radicais livres, fragilização da cadeia, e principalmente inserção de grupos oxigenados tais como carboxila, carbonila e hidroxila, na superfície do polímero (Cornell *et al.*, 1984; Huang *et al.*, 1990; Krupp *et al.*, 1992; Mochizuki *et al.*, 1999). Com a inserção desses grupos oxigenados esse processo acaba tornando a superfície do PEAD mais hidrofílica, e por consequência mais suscetível ao ataque enzimático (Wu *et al.*, 2003; Hadiyanto *et al.*, 2022). Em laboratório esses processos são mimetizados, ou potencializados, geralmente com a exposição do PE a quebras mecânicas, fontes de calor ou, principalmente, à radiação UV. A esses preparos prévios do polímero, anteriores à biodegradação, se dá o nome de “pré-tratamento”.

Só então os fenômenos bióticos tomam espaço no processo. Pois após a adesão do microrganismo na superfície do plástico por interações hidrofóbicas, como ligações de Van der Waals ou eletrostática (Ammala *et al.*, 2011), a formação de biofilme, se torna mais acessível graças à inserção de grupos oxigenados na cadeia (Arkatkar *et al.* 2010; Kamal e Huang 1992; Lucas *et al.*, 2008; Restrepo-Florez *et al.*, 2014). Passo importante, já que o biofilme fornece adesão prolongada na superfície, mantendo células e enzimas em contato contínuo com o polímero, o que aumenta a probabilidade de ataque oxidativo localizado e propicia o enriquecimento desse biofilme com biossurfactantes.

Os biossurfactantes são moléculas anfifílicas que atuam de forma a auxiliar na adaptação à hidrofobicidade do polímero. Como moléculas anfifílicas, parte dos biossurfactantes se ancora no PEAD, enquanto sua porção hidrofílica interage com a água e com proteínas, reduzindo a energia interfacial e tornando a superfície ainda mais hidrofílica, e suscetível a enzimas (Liu *et al.*, 2025). Em conjunto, biofilme e biossurfactantes superam parcialmente a repulsão hidrofóbica e a falta de interação do PEAD, criando pontos de contato onde a oxidação e a quebra da cadeia podem começar.

Nesse estágio as enzimas possuem papel fundamental. Entre as enzimas frequentemente associadas à degradação de PEAD, na literatura, estão as Laccases, produzidas principalmente por fungos ligninolíticos como *Trametes versicolor*, *Bjerkandera adusta*, *Pleurotus ostreatus*, e por bactérias do gênero *Acinetobacter*, *Rhodococcus*, e *Bacillus*, descritas com capacidade de realizar a oxidação da superfície do PEAD, diminuir sua massa, e introduzir grupos como hidroxila e carbonila (Aguiar *et al.*, 2023; Carr *et al.*, 2020; Ghatge *et al.*, 2020; Kang *et al.*, 2019; Ratuchne *et al.*, 2023; Wei *et al.*, 2017; Zhang *et al.*, 2023). Outras enzimas de destaque são as manganês peroxidase e lignina peroxidase, produzidas pelos fungos *Phanerochaete chrysosporium*, e diversas espécies do gênero *Pleurotus*, capazes de realizar a oxidação de ligações C–C semelhantes às da lignina, bem como formar grupos carbonila em PEAD (Ghatge *et al.*, 2020; Temporiti *et al.*, 2022; Wei *et al.*, 2017). Também possuem certo destaque peroxidases e peroxigenases, produzidas usualmente por diversos fungos filamentosos, e que também geram grupos oxigenados no PEAD, bem como promovem a geração de radicais oxidativos (Temporiti *et al.*, 2022). E por fim as Alcana-hidroxilases, principalmente as pertencentes à família AlkB, mas também

monooxigenases P450, produzidas usualmente por bactérias dos gêneros *Pseudomonas*, *Rhodococcus*, *Comamonas*, *Acinetobacter* (Ghatge *et al.*, 2020; Newrick *et al.*, 2024; Rong *et al.*, 2023; Tao *et al.*, 2023; Zhang *et al.*, 2022b).

Tais enzimas, por meio da oxidação, e da clivagem das ligações carbono-carbono das cadeias do PEAD, possibilitam a despolimerização em fragmentos moleculares menores (Ammala *et al.*, 2011; Jeon *et al.*, 2021; Koutny *et al.*, 2006; Wilkes e Aristilde, 2017). Após quebras enzimáticas há formação de ácidos carboxílicos ou hidrocarboxílicos, ésteres, bem como aldeídos e álcoois, e posteriormente oligômeros de *n*-alcanos (Ammala *et al.*, 2011; Zadjelovic *et al.*, 2022).

Após isso ocorre a bioassimilação, etapa na qual bactérias ou fungos absorvem e interiorizam pequenos fragmentos de hidrocarbonetos gerados pela biofragmentação no interior celular. Esse processo é aparentemente restrito a moléculas de massa entre 850 e 1500 Da (Chiellini *et al.*, 2003; Eyheraguibel *et al.*, 2017; Kawai *et al.*, 2004). Finalmente então ocorre a mineralização, quando as estirpes assimilam e metabolizam os produtos da oxidação para a geração de energia e síntese de biomassa. O que ocorre por meio do ciclo do ácido tricarboxílico, e que culmina na biodegradação do polietileno em seu último estado, terminando com a formação de CO₂ e H₂O (Li *et al.*, 2019; Wilkes e Aristilde, 2017; Zadjelovic *et al.*, 2022). A mineralização também pode culminar na produção de dióxido de carbono, água e metano durante a biodegradação anaeróbica (García-Depraect *et al.*, 2021). Ou ainda em substâncias com valor agregado (Pérez-García *et al.*, 2025).

A biodegradação aeróbica geralmente tem lugar em solos e ambientes aquáticos, podendo ser realizada tanto por fungos quanto por bactérias, enquanto a biodegradação anaeróbica ocorre em aterros sanitários e sedimentos (Revie, Uhlig 2000; Sangale *et al.* 2012), sendo restrita às bactérias e arqueias (Pires *et al.*, 2024).

Como exemplos de microrganismos capazes de degradar MPs, destacam-se a cepa *Comamonas testosteroni* NCIMB 8955, que se mostrou capaz de reduzir a massa de microplásticos de PEAD em 21,81% em apenas 8 dias, em caldo nutriente suplementado com partículas de PEAD (Newrick *et al.*, 2025); A cepa *Klebsiella pneumoniae* CH001 que reduziu a massa de tiras de sacola de PEAD em 18,4% em 60 dias em caldo nutritivo enriquecido com o

plástico (Awasthi *et al.*, 2017); E outros consórcios bacterianos listados na Tabela 1.

Tabela 1 – Compilado de resultados de destaque em estudos anteriores sobre biodegradação de PEAD, e suas metodologias.

Microrganismo (Cepa)	Aparência ao Gram	Referência (Autor/Ano)	Eficiência / Taxa	Tempo (Dias)	Substrato Testado	Mecanismo / Gene	Condições de cultivo	Origem
Consórcio Bacteriano NLJ-1	Bactérias (Gram-positivas)	Zhang et al. (2023)	31,3% (Perda de Massa)	60	Filmes de PEAD comerciais (cortados em pedaços de 2 x 2 cm)	Sinergia Bacteriana + Redução de Cristalinidade de 33,2% para 11,8%	Meio Mineral + PEAD a 30°C, 180 rpm	Solo agrícola contaminado com filmes de cobertura (mulching) em Xinjiang, China. Solo enriquecido com testosterona em Berkeley (Califórnia) - Cepa de Coleção (CECT/NCIMB).
<i>Comamonas testosteroni</i> NCIMB 8955	Bactéria (Gram-negativa)	Newrick et al. (2025)	21,81% (Perda de Massa)	8	Microplásticos de PEAD (Pó: 20–100 µm)	Biofilme + Oxidação (Inserção de grupos oxigenados à cadeia do PEAD)	Caldo Nutritivo + PEAD 35°C, 200 rpm	Solo de lixão de resíduos plásticos (Varanasi, Índia).
<i>Klebsiella pneumoniae</i> CH001	Bactéria (Gram-negativa)	Awasthi, S. et al. (2017)	18,4% (Perda de Massa)	60	Tiras (10 x 4,5 cm) de sacolas de PEAD (40 µm de espessura) pré-tratadas termicamente (70°C por 10 dias)	Biofilme Espesso + Oxidação (Redução de 60% na tensão de rutura)	Caldo Nutritivo + PEAD a 30°C, 120 rpm	Aterro Sanitário de Colomba-El Guabal, no município de Yotoco, perto de Cali, Colômbia.
Consórcio Bacteriano JP5 e JP8	Bactérias (Gram-negativa e Gram-positiva)	Martínez-Delgado & Benítez-Campo (2024)	18,1% (Perda de Massa)	82	Pedaços de PEAD (3x3 mm)	<i>Tsukamurella</i> ancora o biofilme (surfactantes) e <i>Streptomyces</i> ataca com enzimas	Meio Mineral + PEAD a 30°C	

Fonte: O próprio autor.

2.7 OBSTÁCULOS DA PADRONIZAÇÃO DA BIODEGRADAÇÃO

Contudo, a biodegradação sofre atualmente com uma série de obstáculos, que dificultam com que a técnica se estabeleça como uma robusta via de resolução na problemática dos resíduos plásticos.

A literatura sobre a degradação de polietileno apresenta inconsistências que dificultam a comparação entre estudos. Montazer, Najaf e Levin (2020) argumentam que, embora muitos trabalhos reportem uma suposta degradação, a evidência conclusiva de biodegradação completa permanece vaga. A ausência de definições e métodos precisos exigem uma distinção entre fenômenos superficiais e a quebra real do polímero. Algumas revisões alertam que, em muitos casos relatados na literatura, o crescimento observado pode resultar do consumo de aditivos plastificantes lixiviados e não da matriz polimérica em si,

exigindo cautela na atribuição de competência degradativa baseada apenas em isolamento ou perda de massa (Montazer; Najaf; Levin, 2020; Restrepo-Flórez *et al.*, 2014).

Segundo Montazer, Najaf e Levin (2020), a eliminação efetiva do poluente só é comprovada pela quantificação da conversão do carbono polimérico em biomassa microbiana e gases como CO₂ (em condições aeróbias) ou CH₄ (em condições anaeróbias). Para superar as inconsistências metodológicas de análise, revisões de Gao *et al.* (2024) e Montazer, Najaf e Levin (2020) estabelecem que a comprovação da biodegradação exige uma abordagem que analise vários parâmetros, abandonando métodos isolados, como apenas *gas chromatography-mass spectrometry* (GC-MS), *fourier transform infrared spectroscopy* (FT-IR), microscopia Raman, ou microscopia eletrônica de varredura (MEV). Nesse contexto, algumas técnicas se destacam, como o rastreo isotópico (¹³C) que usa de polímeros marcados para distinguir com precisão o CO₂ derivado do polímero daquele proveniente da respiração basal do solo ou de impurezas orgânicas; a detecção de ¹³CO₂ confirma, portanto, que o carbono da estrutura polimérica foi efetivamente metabolizado (Montazer, Najaf, Levin, 2020; Zumstein *et al.*, 2018)

Também não são todos os estudos que utilizam das mesmas condições de cultivo. Como no caso da temperatura, e composição de meio, carga microbiana, pontos que alteram fortemente cinética de mineralização em testes padronizados com polímeros solúveis (McDonough *et al.*, 2023; Menzies *et al.*, 2022). A padronização de um único tipo de substrato também não ocorre, mesmo entre os estudos que trabalham com a degradação de um mesmo tipo de plástico. De forma que frequentemente são utilizadas *beads*, filmes, microplásticos, e até mesmo sacolas, muitas vezes sem nenhuma descrição dos aditivos ali presentes (Ghatge *et al.*, 2020; Martínez *et al.*, 2021). A adição de materiais aos meios microbianos para melhorar a dispersibilidade do polietileno pode, por vezes indicar a adição não intencional de uma nova fonte de carbono. Exemplos incluem agentes como EDTA, óleo mineral, Triton-X100, Tween 60 e Tween 80 (Montazer *et al.*, 2020). Além disso, nem sempre há controle sem microrganismos nesses experimentos, controle com aditivos/solventes isolados ou com polímero sem pré-tratamento (Ghatge *et al.*, 2020; Montazer *et al.*, 2020)

Sob essas condições, muitos ensaios alegam “crescimento com PEAD

como única fonte de C”, ou “zonas de clareamento”. Resultados que, sem atenção à pureza do PEAD utilizado, podem refletir apenas consumo de impurezas, aditivos ou surfactantes, e não necessariamente do polímero. Fatores que prejudicam que uma metodologia, ou até mesmo um meio de cultivo, seja padronizado para a experimentação.

Em conjunto, a literatura analisada evidencia que a degradação microbiana do polietileno de alta densidade, embora amplamente investigada, ainda carece de rigor conceitual e metodológico que permita afirmar, de forma inequívoca, a ocorrência de biodegradação efetiva, ou em grande escala. A recorrente confusão entre biodeterioração superficial, consumo de aditivos e quebra real da cadeia polimérica tem levado a interpretações superestimadas, reforçando a necessidade de critérios claros para diferenciar colonização, modificação física e mineralização do polímero, bem como tem desviado pesquisadores de uma padronização efetiva para métodos de prospecção de bactérias e fungos com capacidade de degradar o polietileno de alta densidade.

Diante do exposto, observa-se que, embora existam avanços nos estudos abordando microrganismos associados à deterioração, e possível biodegradação de plásticos, ainda há dificuldades práticas e metodológicas relacionadas à prospecção, ao isolamento seletivo e à triagem inicial de bactérias com potencial de interagir com o (PEAD). Especialmente considerando a baixa biodisponibilidade e alta recalcitrância do PEAD. Nesse sentido, este estudo busca contribuir de forma pontual para essa área ao propor e testar meios de cultivo e estratégias de bioprospecção voltadas ao isolamento de microrganismos com potencial de utilizar o PEAD como fonte exclusiva de carbono, utilizando *Pleurotus ostreatus* como modelo para orientar a seleção e o enriquecimento microbiano. Além disso, avaliar os *pools* obtidos por metodologias baseadas na formação de halos claros em poços, com o intuito de utilizar de uma base experimental, e reprodutível, para seleção de isolados com potencial de degradar PEAD. Buscando oferecer suporte para trabalhos posteriores que aprofundem a caracterização e a descrição do potencial de biodegradação de PEAD desses microrganismos.

3. OBJETIVO GERAL

Desenvolver métodos para prospecção de bactérias de solo com potencial de crescimento em meio enriquecido com polietileno de alta densidade.

3.1 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Formular meios de cultivo para isolamento de microrganismos com capacidade de crescimento em meio enriquecido com PEAD utilizando *P. ostreatus* como modelo;
- Desenvolver métodos de bioprospecção de bactérias com potencial de crescimento em meio enriquecido com PEAD;
- Avaliar *pools* obtidos pelos métodos de bioprospecção em meio formulado pela metodologia de formação de halos claros em poços de difusão.

4. DESENVOLVIMENTO

4.1 METODOLOGIA

4.1.1 *Pleurotus ostreatus*

4.1.1.1 Manejo do fungo

O fungo degradador de PEAD, *Pleurotus ostreatus*, foi isolado em estudos anteriores (Ratuchne *et al.*, 2023) a partir de corpos de frutificação comercializados na cidade de Guarapuava-Paraná, e foram cedidos para o presente estudo pelo Prof. Dr. Luciano Aparecido Panagio, do Laboratório de Micologia Médica e Microbiologia Bucal da Universidade Estadual de Londrina (UEL). O cultivo e manutenção do fungo ocorreu em placas de Petri esterilizadas contendo ágar Sabouraud (SDA) (Sigma-Aldrich), sendo incubadas em estufa BOD (Biochemical Oxygen Demand) (SS Scientific) a 28°C. Sua preservação se deu por repiques sucessivos, e as culturas em meio solidificado foram mantidas sob refrigeração a 4 °C.

4.1.1.2 Fontes de carbono

As fontes de carbono utilizadas na formulação dos meios de cultivo para os testes com o fungo *Pleurotus ostreatus* foram i) PEAD em pó de com 34 a 50 µm de diâmetro, e superfície modificada para conter grupos ácidos e hidroxila, sem aditivos, obtido pela Sigma-Aldrich® sob o número 9002-88-4 pela *Chemical Abstract Services* (CAS); ii) PEAD em *beads* particulado em moinho de facas e passado por tamizes de até 60 *mesh* (250 µm); iii) óleo mineral MultiLab®; iv) Tween80®, sob o número CAS 9005-65-6; v) ágar bacteriológico e vi) agarose E.

4.1.1.3 Formulação dos meios com diferentes fontes de carbono

Os meios de cultivo formulados continham diferentes fontes de carbono, bem como diferentes combinações dessas. Uma formulação de meio sal mineral mínimo sem nenhuma fonte de carbono (Meio Zero) foi utilizada como base

sobre a qual seriam adicionadas as diferentes fontes de carbono para compor os outros meios. Assim, a fórmula do Meio Zero contém os seguintes componentes para um volume final de 1000 ml de água destilada: $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ (1g), K_2HPO_4 (1g), $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ (0,2g), KCl (0,15g), $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ (0,0010692g), $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ (0,001g), e $\text{MnSO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ (0,0011193g). Essa base foi formulada de forma semelhante aos meios mínimos utilizados por outros pesquisadores (Hadad *et al.*, 2004; Jadhav *et al.*, 2015; Jeon *et al.*, 2015; Montazer *et al.*, 2018; Sivan *et al.*, 2006; Usha *et al.*, 2011; Yoon *et al.*, 2012). Nenhuma fonte de carbono sofreu qualquer tipo de pré-tratamento antes de serem adicionadas aos meios.

4.1.1.4 Avaliação do crescimento de *P. ostreatus* em meios com diferentes fontes de carbono

Todos os meios formulados foram testados com inóculos de *P. ostreatus*, e as culturas foram incubadas a 28 °C. Para minimizar a influência da nutrição prévia do fungo em meio Sabouraud, todos os inóculos fúngicos foram previamente cultivados em Meio Zero, por três repiques sucessivos. Para os ensaios nos diferentes meios contendo as fontes de carbono, os seguintes parâmetros foram avaliados: i) capacidade do meio de sustentar crescimento fúngico; ii) homogeneidade das partículas de PEAD no meio (quando aplicado); iii) presença ou ausência de halos claros ao redor do fungo após 9 dias de incubação; iv) densidade do micélio sobre os meios após 12 dias de incubação; v) número de dias de incubação necessários para que o fungo atingisse a borda das placas em cada formulação. Os resultados permitiram a escolha do uso da formulação “MP1 Ágar” para os testes seguintes, pelos caracteres de homogeneidade de partículas de PEAD e restrição de outras fontes de carbono.

4.1.2 Prospecção de Bactérias com Potencial de Degradar PEAD

4.1.2.1 Amostragem de solos ricos em resíduos plásticos

Amostras de solo rico em resíduos plásticos foram obtidas de duas sedes de uma mesma cooperativa de reciclagem da região de Londrina-Paraná,

localizadas em coordenadas próximas a “-23.2944272, -51.1491003” e “23.3151189, -51.2145586”. As amostras foram coletadas em 10 pontos diferentes, com no mínimo 10 metros de distância entre si, e a 10 cm de profundidade em relação à superfície do solo. As condições meteorológicas dos setes dias anteriores à coleta, bem como as condições no período da coleta, foram registradas. Os pontos também foram analisados de forma subjetiva com relação a sombreamento, umidade, aeração, e composição dos resíduos depositados no solo.

4.1.2.2 Prospecção de *pools* bacterianos de amostras de solos ricos em resíduos plásticos

Foram realizadas três metodologias de prospecção nesse estudo (Figura 4). Cada uma contendo duas variantes, que se distinguiram pelos meios de cultivo utilizados para crescimento dos microrganismos, antes de serem armazenados.

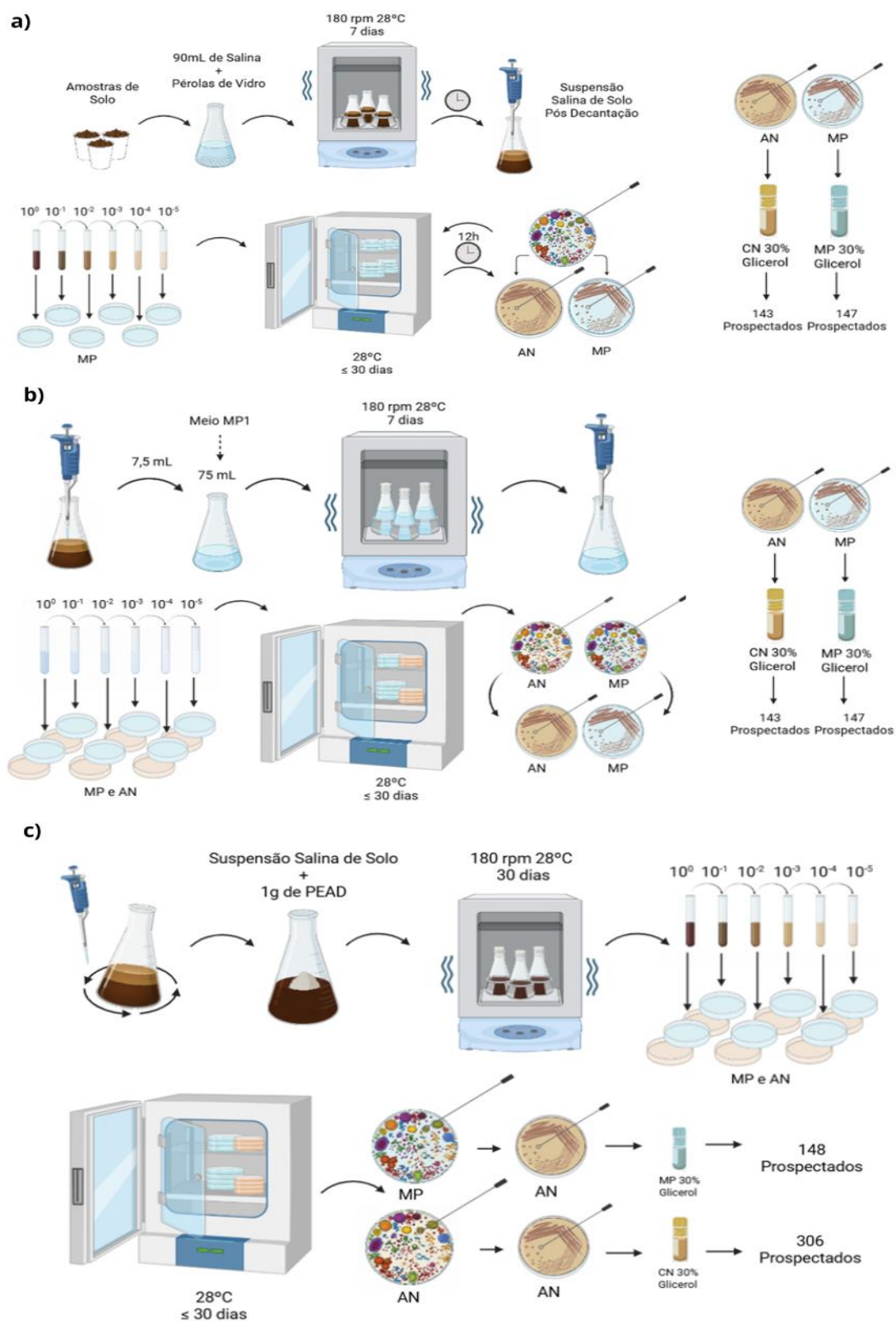
Na primeira metodologia de prospecção (Figura 4a), porções de 10 g de cada amostra de solo foram adicionadas a erlenmeyers contendo pérolas de vidro e salina esterilizada (0,85% m/v). O solo foi adicionado à salina na proporção de 10% (m/v). A suspensão resultante permaneceu por 1 hora sob agitação de 180 rpm. Em seguida, 1 ml do sobrenadante de cada suspensão foi submetido à uma diluição seriada (razão 10). As diluições de 10^{-1} até 10^{-5} foram semeadas em MP1 Ágar. As placas foram incubadas a 28°C em B.O.D por até 30 dias, e observadas periodicamente, a cada 12 horas, para visualização de colônias de morfologias distintas em relação a: i) aspecto de borda; ii) cor; iii) opacidade; iv) refringência; v) elevação; e vi) aspecto de crescimento. As colônias de morfologias distintas foram inoculadas tanto em placas de meio Ágar Nutriente quanto em placas de meio MP1 Ágar. As colônias crescidas em Ágar Nutriente foram armazenadas em Caldo Nutriente a -80°C, enquanto as colônias crescidas em MP1 Ágar foram armazenadas em meio MP1 a -80°C. Todos os meios utilizados para criopreservação foram suplementados com 30% de glicerol (v/v).

Na segunda metodologia de prospecção (Figura 4b), parte do sobrenadante da suspensão salina de solo de cada amostra foi utilizada para

inocular erlenmeyers contendo MP1 líquido na proporção de 10% v/v. As repetições de MP1 líquido inoculadas foram incubadas em agitador a 28°C, sob agitação de 180 rpm, pelo período de 7 dias. Posteriormente, 1ml da solução homogeneizada de cada repetição foi utilizado para uma diluição seriada em salina (0,85%). As diluições 10^{-1} até 10^{-5} foram semeadas tanto em placas contendo Ágar Nutriente quanto em placas com meio MP1 Ágar. As placas foram incubadas a 28°C em B.O.D por até 30 dias, sendo observadas periodicamente a cada 12 horas para isolamento de colônias de morfologias distintas. As colônias de morfologias distintas crescidas em Ágar Nutriente foram isoladas em Ágar Nutriente, e posteriormente armazenadas em Caldo Nutriente a -80°C. Enquanto as colônias crescidas em MP1 Ágar foram isoladas em MP1 Ágar, e posteriormente armazenadas em meio MP1 a -80°C.

Na terceira metodologia de prospecção (Figura 4c), a suspensão inicial de solo, de seis amostras de solo, foi enriquecida com 1g de PEAD em pó (34-50 μ m). A suspensão resultante foi incubada em agitador sob temperatura oscilando entre 28°C e 35°C, com agitação de 180 rpm, pelo período de 30 dias. Após esse período, 1 ml da suspensão homogeneizada de cada repetição foi utilizado para uma diluição seriada em salina (0,85%). As diluições de 10^{-1} até 10^{-5} foram semeadas tanto em placas de meio Ágar Nutriente quanto em placas de meio MP1 Ágar, sendo observadas periodicamente a cada 12 horas para isolamento de colônias de morfologias distintas em Ágar Nutriente. As colônias de morfologias distintas advindas de plaqueamento inicial em Ágar Nutriente foram armazenadas em meio Caldo Nutriente a -80°C. Enquanto colônias de morfologias distintas advindas de plaqueamento inicial em MP1 Ágar foram armazenadas em MP1 a -80°C

Figura 4 – Representação esquemática das diferentes metodologias de prospecção empregadas no estudo.



Fonte: O próprio autor. – Polietileno de alta densidade (PEAD), ágar nutriente (NA), MP1 (MP), caldo nutriente (CN).

4.1.2.3 Formação de halo em metodologia de poços de difusão

Foram selecionados 20 *pools* bacterianos, provenientes das bioprospecções realizadas a partir das amostras de solo coletadas, para testes de formação de halos em poços de difusão. Os critérios para a seleção dos *pools* foram: i) capacidade de formação de muco de aspecto iridescente; ii) capacidade de promover erosão do ágar. Os *pools* selecionados foram inoculados em poços confeccionados nos diferentes meios de cultivo, que continham, ou não, PEAD como única fonte de carbono. As culturas foram incubadas a 28 °C por até 40 dias. As culturas foram avaliadas a cada 5 dias para verificar a formação de halos claros ao redor dos poços, um indicativo de possível degradação de PEAD. O *pool* de fenótipo positivo para a formação de halos claros em diferentes meios teve seus integrantes isolados. Esses isolados foram testados isoladamente quanto ao mesmo fenótipo.

4.1.2.4 Seleção e caracterização inicial de isolados

Os isolados resultantes da metodologia anterior foram corados pela coloração de Gram. Após isso foram sucessivamente semeados em MP2 Agarose, e incubados a 28°C pelo período de 7 dias. Os isolados resultantes desse processo foram inoculados em meio “*Columbia CNA Agar*” (CNA), MacConkey e Meio Zero Agarose, sendo incubados a 28°C pelos períodos de 24 horas, 24 horas, e 7 dias, respectivamente. Após esses períodos, as placas foram avaliadas quanto a: i) crescimento; ii) cor das colônias; e iii) cor do meio.

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 *PLEUROTUS OSTREATUS*

5.1.1 Formulação dos Meios com Diferentes Fontes de Carbono

A formulação de meios de cultivo contendo diferentes fontes de carbono, bem como combinações dessas fontes, resultou na formulação de 11 meios de cultivo, cujas composições estão descritas na Tabela 2.

Diversos estudos voltados à prospecção de bactérias com potencial de degradar PEAD utilizam formulações próprias, ou semelhantes às de outros estudos, para a realização de diferentes testes, tais como triagem inicial (Gupta *et al.*, 2023; Patil *et al.*, 2024), cultivo de enriquecimento (Martinez-Delgado *et al.*, 2024), ou testes voltados a fornecer dados para a verificação da capacidade de degradação de diferentes cepas (Martinez-Delgado *et al.*, 2024; Mok *et al.*, 2019; Gupta *et al.*, 2023). A composição desses meios comumente conta com uma união de sais, que são responsáveis por suprir as necessidades microbianas básicas no que diz respeito a síntese de proteínas, formação de ATP e fornecimento de cofatores (Huang *et al.*, 2022a; Madigan *et al.*, 2016). Neste estudo, os meios mínimos suplementados com PEAD, também foram acrescidos de óleo mineral ou Tween80®.

Tabela 2 – Composição das diferentes formulações de meios utilizados nos experimentos.

Coluna1	Meio Zero (M0)	MP1	MP2	Meio Óleo	Meio PEADf + Tw + Óleo	Meio PEADf + Tw	Meio PEADf + Óleo	Meio PEADm + Tw	Meio PEADm + Óleo
$(\text{NH}_4)_2 \text{SO}_4$	1g	1g	2g	1g	1g	1g	1g	1g	1g
$\text{K}_2 \text{HPO}_4$	1g	1g	1,8g	1g	1g	1g	1g	1g	1g
$\text{KH}_2 \text{PO}_4$	-	-	1,2g	-	-	-	-	-	-
$\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2 \text{O}$	0,2g	0,2g	0,5g	0,2g	0,2g	0,2g	0,2g	0,2g	0,2g
KCl	0,15g	0,15g	-	0,15g	0,15g	0,15g	0,15g	0,15g	0,15g
$\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2 \text{O}$		0,1g	0,1g	0,1g	0,1g	0,1g	0,1g	0,1g	0,1g
$\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2 \text{O}$	0,0010692g	0,0010692g	0,005g	0,0010692g	0,0010692g	0,0010692g	0,0010692g	0,0010692g	0,0010692g
$\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2 \text{O}$	0,001g	0,001g	0,001g	0,001g	0,001g	0,001g	0,001g	0,001g	0,001g
$\text{MnSO}_4 \cdot \text{H}_2 \text{O}$	0,0011193g	0,0011193g	0,001g	0,0011193g	0,0011193g	0,0011193g	0,0011193g	0,0011193g	0,0011193g
$\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2 \text{O}$	-	-	0,0007g	-	-	-	-	-	-
$\text{CoSO}_4 \cdot 5\text{H}_2 \text{O}$	-	-	0,00035g	-	-	-	-	-	-
$\text{NiSO}_4 \cdot 7\text{H}_2 \text{O}$	-	-	0,00035g	-	-	-	-	-	-
$\text{Na}_2 \text{MoO}_4 \cdot 2\text{H}_2 \text{O}$	-	-	0,00007g	-	-	-	-	-	-
PEAD ($\leq 250\mu\text{m}$)	-	-	-	-	-	-	-	1g	1g
PEAD (34-50 μm)	-	1g	1g	-	1g	1g	1g	-	-
Óleo Mineral	-	-	-	1ml	1ml	-	1ml	-	1ml
Tween80	-	-	-	-	1ml	1ml	-	1ml	-
$\text{H}_2 \text{O}$	1000ml	1000ml	1000ml	1000ml	1000ml	1000ml	1000ml	1000ml	1000ml

Fonte: O próprio autor. – “PEADf” para PEAD (34-50 μm), “PEADm” para PEAD ($\leq 250\mu\text{m}$). “Tw” para Tween80.

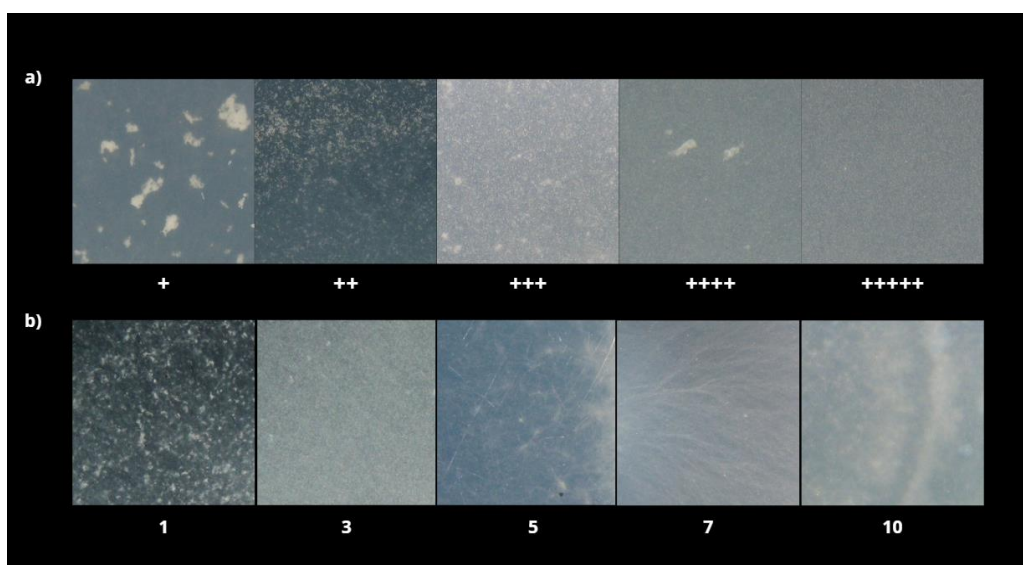
O óleo mineral é usualmente empregado com o objetivo de melhorar as interações do PE com a superfície bacteriana, aumentando a colonização da superfície do PE, formação de biofilme, e degradação (Tribedi *et al.*, 2013). Mas também pode servir como fonte de carbono análoga a diversos tipos de PE, devido à composição semelhante de suas cadeias de *n*-alcanos (Montazer *et al.*, 2020). No que tange ao uso do óleo mineral em técnicas de bioprospecção de isolados com potencial de degradar PEAD, tais propriedades apresentam utilidade limitada. Isso porque o óleo mineral, ao auxiliar na degradação de PE, poderia, em teoria, poderia proporcionar uma seleção mais ágil de isolados com potencial de degradação de PEAD, visto que acelera a biodegradação de PE em diversos cenários (Gilan *et al.*, 2004; Sarker *et al.*, 2020). Contudo, o óleo mineral também pode ser utilizado como fonte de carbono, o que reduziria o caráter seletivo do meio. Da mesma forma, não foram encontrados estudos anteriores que utilizassem óleo na formulação de meios solidificados contendo PEAD, ou qualquer forma de PE.

Outro aditivo, o Tween80, também é biodegradável (Gofstein *et al.*, 2020). Mas, diferentemente do óleo mineral, sua composição não possui semelhanças relevantes com as cadeias do PEAD. O Tween é adicionado aos meios mínimos, costumeiramente, com o intuito de melhorar a colonização, bem como a aderência de microrganismos ao LDPE (DSouza *et al.*, 2021). Contudo, poucos estudos compararam os reais efeitos da adição de Tween na biodegradação de polietileno, comparando eficiência de biodegradação do LDPE na presença e na ausência de Tween80 (Belabbas *et al.*, 2025; DSouza *et al.*, 2021; Sarker *et al.*, 2020; Tribedi *et al.*, 2013). Também não foram encontrados estudos que realizassem tal comparação com PEAD. Dos estudos com LDPE, parte conclui que a adição de Tween80 é deletéria à degradação, diminuindo seu rendimento e a adesão bacteriana ao LDPE (Sarker *et al.*, 2020; Tribedi *et al.*, 2013), mas não citam a concentração usada do surfactante. Por outro lado, outro estudo, usando Tween80 na concentração de 1%, conclui que o efeito do surfactante sobre o rendimento da biodegradação de LDPE é insignificante (DSouza *et al.*, 2021). Enquanto Belabbas *et al.* (2025), usando 0,5%, conclui que a adição do surfactante potencializou a biodegradação de LDPE. Em síntese, não foram encontrados na literatura testes de biodegradação de PEAD usando Tween80 na mesma formulação.

5.1.2 Avaliação do Crescimento de *P. ostreatus* em Meios com Diferentes Fontes de Carbono

As formulações nas quais o fungo *P. ostreatus* foi inoculado apresentaram diferentes aspectos em relação aos parâmetros avaliados. Na Tabela 3 encontram-se compilados os resultados dessas avaliações. A escala de diferentes níveis de homogeneidade das partículas de PEAD nos meios solidificados testados, bem como a escala de diferentes níveis de densidade de micélio se encontram na Figura 5.

Figura 5 – Representação ilustrativa da escala de homogeneidade de partículas de PEAD em meio solidificado medida em cruzes (a), e da escala de densidade micelial com níveis de 1 a 10 (b).



Fonte: O próprio autor.

Tabela 3 – Avaliação do crescimento de *P. ostreatus* em meios com diferentes fontes de carbono

Meio de Cultivo			Fontes de Carbono	Homogeneidade do PEAD em Meio	Halo de Zona Clara	Densidade do Micélio	Dias para atingir a borda das placas
Meio Óleo			Óleo Mineral 0,1% v/v	NA	Ausente	10	7
Meio	PEADf	+	PEADf 0,1% m/v Tween80 0,1% v/v	+++++	Ausente	6	9
Meio	PEADf	+	PEADf 0,1% m/v Tween80 0,1% v/v Óleo Mineral 0,1% v/v	++++	Ausente	5	9
Meio PEADf + Óleo			PEADf 0,1% m/v Óleo Mineral 0,1% v/v	+++	Ausente	10	8
Meio	PEADm	+	PEADm 0,1% m/v Tween80 0,1% v/v	++	Ausente	1	9
Meio PEADm + Óleo			PEADm 0,1% m/v Óleo Mineral 0,1% v/v	+	Ausente	9	9
Meio Zero Ágar			NA	NA	Ausente	5	9
Meio Zero Agarose			NA	NA	Ausente	6	10
MP1 Ágar			PEADf 0,1% m/v	+++++	Ausente	4	9
MP1 Agarose			PEADf 0,1% m/v	+++++	Ausente	2	>15

Fonte: O próprio autor. – “PEADf” para PEAD (34-50µm), “PEADm” para PEAD (≤250µm). “NA” para situações nas quais a avaliação não se aplica.

O tempo que o fungo *Pleorotus ostreatus* leva para colonizar diferentes substratos serve como indicativo da biodisponibilidade das fontes de carbono presentes no meio. Fontes de carbono metabolicamente mais acessíveis promovem crescimento mais rápido de hifas de *P. ostreatus* (Othman *et al.*, 2019). Enquanto fontes de carbono mais recalcitrantes, que exigem maior aporte enzimático do fungo sobre o substrato, promovem crescimento mais lento, bem como colonização desigual do meio (Mastro *et al.*, 2023; Melanouri *et al.*, 2021). No presente experimento, o tempo, em dias, que o fungo levou para que suas hifas atingissem as bordas da placa, serviu como referência para comparação entre as diferentes cinéticas de colonização do fungo nos diferentes meios. Tal critério é comumente utilizado em outras metodologias que avaliaram cinética de crescimento do fungo *P. ostreatus*, como o estudo de Abdalla *et al.* (2025).

Em relação à densidade micelial do fungo, atualmente entende-se que sinais como: hifas mais finas, menor número de ramificações e menor densidade micelial, estão intimamente relacionados ao uso de fontes de carbono mais recalcitrantes pelo fungo (Hòa *et al.*, 2015; Maseko *et al.*, 2024). Enquanto fontes de carbono mais acessíveis provocam maior densidade micelial, maior número de ramificações, e hifas mais calibrosas (Hòa *et al.*, 2015; Maseko *et al.*, 2024).

Por outro lado, substratos que usam misturas de fontes de carbono mais e menos acessíveis, ao fungo *P. ostreatus*, contam com padrões de crescimento desiguais em relação a densidade micelial, com maior crescimento em regiões com mais fácil assimilação de carbono. Como demonstrado no estudo de Melanouri *et al.* (2021), utilizando uma mistura de palha, farelo e grãos.

No que diz respeito ao uso de diferentes formas de PE como fonte de carbono por *P. ostreatus*, observa-se que quando o plástico é a única fonte de carbono, *P. ostreatus* tende a reduzir a exploração e concentrar o crescimento onde consegue aderir e oxidar melhor a superfície, resultando em um padrão mais localizado (Gómez-Méndez *et al.*, 2018). Isso porque, como o PE se apresenta como uma fonte de carbono recalcitrante, e pouco energética, o micélio possui recursos limitados para manter um crescimento exploratório amplo. Tendendo a investir em biofilme denso e produção local de lacase/lignina peroxidase/manganês peroxidase sobre a área aderida (da Luz *et al.*, 2014). Contudo, isso parece não ocorrer caso o fungo não tenha acesso, anteriormente, a outra fonte de carbono mais acessível. Isso porque, sem que o fungo possua

reservas energéticas suficientes para sustentar um pesado metabolismo enzimático do PE, usufruir do PE como fonte de carbono e energia se torna improvável (Gómez-Méndez *et al.*, 2018).

Sabendo disso, os resultados que apontam para uma maior densidade micelial do fungo no meio “PEADf + Tween” em relação ao meio “MP1 Ágar”, conduzem a três interpretações, em relação à presença do Tween: i) o composto facilita o uso do PEAD pelo fungo ao agir como surfactante, mediando a hidrofobicidade do PEAD com a hidrofiliabilidade das hifas fúngicas; ii) o composto atua como fonte inicial de carbono mais acessível; iii) o composto atua como única fonte de carbono, quando presente junto de PEAD.

Caso o Tween80 estivesse agindo como única fonte de carbono do fungo no meio de cultura, uma formulação que contivesse o PEAD em condições em um formato menos acessível teria resultados muito semelhantes às repetições nas quais o PEAD está mais acessível. No entanto, ao testar a formulação “PEADm + Tween”, que fazia uso de PEAD com maior gramatura e maior hidrofobicidade, foi observada a menor densidade micelial dentre as diferentes formulações testadas. O que sugere que o Tween 80 proporcionou melhor uso do PEAD pelo fungo, por sua ação surfactante, ou por sua ação como fonte de carbono inicial mais acessível.

Em relação à homogeneidade das partículas de PEAD no meio solidificado, a presença do Tween 80, em todas as formulações, foi acompanhada de maior homogeneidade de PEAD, em relação às formulações sem Tween 80. Resultados compatíveis com Yen *et al.*, 2021, que utilizou Tween 80 para aumentar a distribuição de nanopartículas hidrofóbicas em um meio solidificado.

No que tange à adição de óleo mineral nas formulações, observa-se que em todas as formulações em que foi adicionado, houve um pior rendimento em relação à homogeneidade das partículas de PEAD em meio solidificado. Resultados compatíveis com os obtidos por Li *et al.* (2023), onde a adição do óleo mineral, em meios aquosos, resulta na formação de gotículas de óleo carregando partículas aderidas a si. Comportamento semelhante ao observado no uso das formulações contendo PEAD e óleo mineral, sendo obtidas concentrações de PEAD esparsas, aleatoriamente distribuídas, tanto no meio solidificado antes e após sua solidificação.

Sobre os resultados que comparam o crescimento fúngico nos meios “Óleo”, “PEADf + Óleo”, “PEADm + Óleo” e “MP1 Ágar”. Observa-se um crescimento mais acelerado e com maior densidade nos meios que contém PEAD e óleo mineral, em comparação com aquele que contém somente PEAD. Esses resultados sugerem que a presença do óleo mineral nas formulações permite melhor crescimento fúngico pelos mesmos mecanismos sugeridos na presença de Tween.

Caso o óleo mineral atuasse apenas como única fonte de carbono, seria esperado um perfil mais homogêneo de crescimento em todas as formulações com concentrações similares desse aditivo. Por outro lado, o meio contendo apenas PEAD (isento de óleo) deveria apresentar reduções drásticas na velocidade e densidade de crescimento. No entanto, as variações observadas nessas características entre as diferentes formulações suplementadas com óleo mineral, sugerem que nas formulações suplementadas e com PEAD presente, o óleo mineral não seria a única fonte de carbono utilizada.

Caso o óleo mineral fosse utilizado pelo fungo como a principal, mas não única, fonte de carbono, e tornasse o PEAD mais acessível, enquanto o PEAD tornasse menos favorável o uso do óleo mineral, os resultados mostrariam o seguinte padrão: i) quando o óleo mineral fosse a única fonte de carbono presente o desenvolvimento do fungo teria os parâmetros “velocidade e densidade” mais elevados; ii) quando o óleo mineral fosse presente junto de uma fonte mais acessível de PEAD (PEADf), os mesmos parâmetros seriam maiores em relação a uma formulação na qual o óleo é acrescido a uma formulação com PEAD menos acessível (PEADm); iii) quando o PEAD fosse a única fonte de carbono disponível na formulação os parâmetros observados seriam os menores, dentre aqueles obtidos em outras formulações. Padrão compatível com os resultados apresentados nos experimentos.

Os resultados descritos também são compatíveis com a literatura. Wang *et al.* (2025) descrevem como, mesmo em condições nas quais microrganismos se encontram na presença de fontes mais acessíveis de carbono, o PEAD pode reduzir a assimilação dessas fontes de carbono ao adsorvê-las em sua superfície, principalmente quando se tratam de poluentes hidrofóbicos. Enquanto a revisão de Montazer *et al.* (2020) mostra que múltiplas fontes de carbono proporcionadas a microrganismos degradadores de formas de

PE reduzem a otimização da utilização de uma única fonte de carbono.

A comparação dos resultados de velocidade e densidade de crescimento mais expressivos em “MP1 Ágar” do que em “Meio Zero Ágar”, sugerem que, mesmo sem nenhum aditivo (como Tween80 ou óleo mineral), houve uso do PEAD como fonte de carbono por *P. ostreatus* na formulação contendo Ágar e PEAD. Esses resultados, contudo, não podem ser comparados diretamente com a literatura, visto que *P. ostreatus* usualmente não é cultivado com PEAD como única fonte de carbono, e sim adicionado a outros substratos (Castillo-Toro *et al.*, 2021; Moreno-Bayona *et al.*, 2019).

Em outro aspecto, o padrão observado, no qual obteve-se maior densidade micelial, e velocidade de crescimento, em formulações contendo ágar em comparação com àquelas que continham agarose como gelificante, apresentam respaldo na literatura. Wang *et al.* (2016) e Eun Ju Yun *et al.* (2017) descrevem como as agaropectinas e cadeias menos regulares do ágar oferecem mais pontos de ataque para essas enzimas do que a agarose altamente regular, facilitando a liberação de açúcares assimiláveis, que poderiam suprir um melhor desempenho de crescimento de fungos filamentosos marinhos. Contudo, ágar microbiológico também conta com sais minerais, sulfatos, proteínas e outros componentes da alga vermelha, (Lahaye *et al.*, 1991), compostos que talvez pudessem estar sendo utilizados como fonte nutricional.

Os resultados que mostram densidade micelial obtida com a formulação “Meio PEADf + Tween+ Óleo” menor do que as obtidas nas formulações “Meio Óleo”, “Meio PEADf + Óleo” e “Meio PEADf + Tween”, sugerem que a presença de três, ou mais, fontes de carbono distintas podem ter reduzido a utilização de qualquer uma delas pelo fungo, semelhante aos padrões descritos por Montazer *et al.* (2020). Apontando para a possibilidade de que, em um meio onde haja fontes de carbono recalcitrantes, mesmo que sejam adicionadas fontes mais acessíveis e energeticamente vantajosas, as recalcitrantes continuam sendo utilizadas por *P. ostreatus*.

A homogeneidade de partículas de PEAD obtida em “Meio PEADf + Tween+ Óleo” foi maior do que a obtida em “Meio PEADf + Óleo”, mas menor do que a obtida em “Meio PEADf + Tween”. O que sugere que, nessas condições, houve a soma de diferentes potenciais de homogeneização das partículas de PEAD no meio, advindas de Tween80 e óleo mineral, resultando em uma

homogeneidade alta, mas tendendo a desempenhos intermediários de dispersão homogênea de PEAD.

Outro padrão observado diz respeito à tendência observada de maior dispersão, e homogeneidade de partículas de PEAD, nos meios solidificados contendo PEAD com diâmetro médio de partículas de 34-50 μ m em relação às formulações contendo PEAD com diâmetro médio de partículas maior ou igual a 250 μ m. Isso provavelmente foi observado devido a dois fatores: i) presença de aditivos comerciais no PEAD ($\leq 250\mu$ m); ii) maior gramatura de partículas do PEAD ($\leq 250\mu$ m). A hidrofobicidade elevada, em diversos tipos de materiais, já leva a flotação e à aglomeração em interfaces aquosas, dificultando dispersão homogênea em hidrogéis ou matrizes aquosas solidificadas (Huang *et al.*, 2023). Porém esse fenômeno pode ter sido ainda potencializado no PEAD ($\leq 250\mu$ m) devido aos possíveis aditivos de sua composição. Aditivos comumente adicionados ao PEAD, como lubrificantes, ceras, parafinas, óleos minerais, estearamidas, ácidos graxos de cadeia longa, aumentam o caráter oleofílico e reduzem molhabilidade, favorecendo aglomeração em água (Yang *et al.*, 2022), e possivelmente em meios aquosos solidificados. Além da alta gramatura das partículas de PEAD ($\leq 250\mu$ m), que condiz com achados na literatura que apontam uma tendência natural de partículas hidrofóbicas maiores, com menor área superficial relativa, de terem baixo desempenho em dispersão em meios aquosos, em relação a partículas menores, e com maior área superficial relativa (Luckham *et al.*, 1999).

A respeito da ausência de halos claros no crescimento de *P. ostreatus*, sobre todas as formulações, podemos inferir que, em relação ao “Meio Óleo”, a falta de homogeneidade do óleo mineral pelo meio, pode ter prejudicado a formação de halos de degradação.

A metodologia de detecção de halo claro ao redor de colônias, ou poços, para a triagem de fungos filamentosos e bactérias positivos para a degradação de polímeros recalcitrantes é amplamente utilizada (Kim *et al.*, 2022; Lee *et al.*, 2021; Tareen *et al.*, 2021), inclusive para PEBD (Sathiyabama *et al.*, 2024; Tareen *et al.*, 2021). Contudo, não foram encontrados estudos que reportem a capacidade de fungos filamentosos provocarem halos claros em placas com óleo mineral, ou PEAD como fontes únicas, ou complementares, de carbono. Os resultados do presente estudo apontam para a possibilidade de que: uma

triagem rápida para fungos filamentosos da espécie *P. ostreatus* degradadores de PEAD, não é possível com o uso de nenhuma das formulações descritas sob as condições testadas.

A combinação de alguns resultados propiciou que o meio “MP1 Ágar” fosse selecionado para ser utilizado no desenvolvimento das técnicas de bioprospecção de solo para isolamento de bactérias com potencial de degradar PEAD. Tais resultados incluem homogeneidade do PEAD no meio, densidade do micélio após o crescimento fúngico, dias necessários o crescimento fúngico atingir a borda das placas. Além disso, a acessibilidade comercial do ágar em relação a agarose (Zhang *et al.*, 2021c), além de dados da literatura reportando que bactérias isoladas de solo dificilmente degradam ágar (Sakai *et al.*, 2014), tornando o PEAD muito próximo de ser a única fonte de carbono presente no meio, também foram parâmetros para essa escolha.

5.2 PROSPECÇÃO DE BACTÉRIAS COM POTENCIAL DE DEGRADAR PEAD

5.2.1 Amostragem de Solos Ricos em Resíduos Plásticos

As amostras de solo foram coletadas em duas sedes de uma mesma cooperativa de reciclagem. Na primeira sede (Figuras 6a e 6c), localizadas em coordenadas próximas a “-23.2944272, -51.1491003” e “23.3151189, -51.2145586”. As amostras foram coletadas em regiões onde depósitos plásticos permaneceram em contato direto com o solo por mais de oito meses, segundo relato de trabalhadores locais. Enquanto na segunda sede (Figuras 6b e 6d), localizada em coordenadas próximas a “-23.2943508, -51.1490852”, os resíduos plásticos permaneceram em contato com o solo até o momento da coleta.

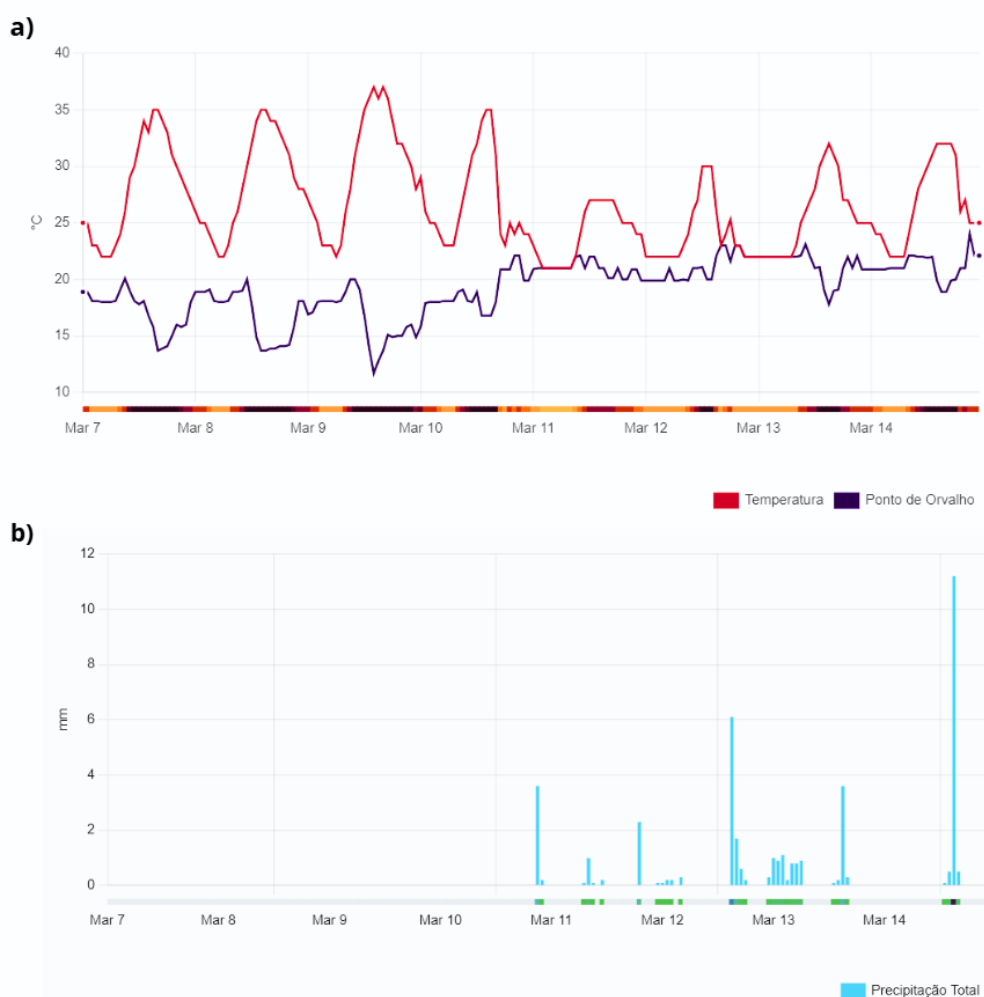
Figura 6 – Imagens de satélite das áreas das cooperativas de reciclagem contendo os pontos de coleta de 1 a 5 (a), e os pontos de 6 a 10 (b). E imagens em solo das cooperativas 1 (c) e 2 (d).



Fonte: Google Earth (a, b) e o próprio autor (c, d).

As condições meteorológicas dos setes dias anteriores à coleta das amostras, bem como no período da coleta, se encontram na Figura 7. As coordenadas exatas de cada ponto de coleta, bem como descrições a respeito do aspecto do solo amostrado, sombreamento, umidade, e composição dos resíduos depositados nos solos dos pontos amostrados estão disponíveis no material suplementar.

Figura 7 – Gráficos representativos das condições de temperatura (a) e precipitação (b) no período da coleta e dos 7 dias anteriores.



Fonte: Meteostat, com modificações.

Segundo a literatura, as condições de temperatura no período que antecedeu a amostragem de solo, bem como umidade relevante, podem promover alta biodiversidade bacteriana, principalmente associada a microrganismos mesófilos (Zhou *et al.*, 2017). Enquanto a profundidade de 10 cm, porções onde comumente se encontram fontes de carbono orgânico mais recalcitrantes, e forte limitação de carbono, conduziria a seleção de microrganismos capazes de usar recursos escassos e/ou complexos (Naylor *et al.*, 2022). Por fim, o solo ser enriquecido com partículas plásticas, como foi observado durante a coleta, e ter contato prolongado com esses resíduos plásticos, segundo a literatura, propiciaria o isolamento de bactérias oligotróficas e poucas copiotróficas (Chen

et al., 2021). Além disso, propiciaria o isolamento de bactérias com capacidades de: i) aderir a superfícies inertes; ii) consumir aditivos dos plásticos; iii) tolerar compostos tóxicos; iv) formar biofilmes (Bandopadhyay *et al.*, 2020; Beriot *et al.*, 2023; Hassan *et al.*, 2019; Pinto *et al.*, 2019; Qi *et al.*, 2022; Sierra *et al.*, 2025; Sooriyakumar *et al.*, 2022).

5.2.2 Prospecção de *Pools* Bacterianos de Amostras de Solos Ricos em Resíduos Plásticos

Os três métodos de prospecção deram origem a números diferentes de colônias de morfologias distintas prospectadas, como pode ser observado na tabela 4.

Tabela 4 – Relação do número de colônias com morfologias distintas obtidas em cada metodologia de prospecção testada e suas variantes.

Modalidade de Prospecção	1º Meio de Cultivo	2º Meio de Cultivo	Nº de Colônias com Morfologia Distintas
1º	MP1 Ágar	AN	143
	MP1 Ágar	MP1 Ágar	147
2º	AN	AN	143
	MP1 Ágar	AN	137
3º	AN	AN	306
	MP1 Ágar	AN	148

Fonte: O próprio autor. – “AN” para “Ágar Nutriente”.

Mesmo que a terceira modalidade de prospecção contasse apenas com 6 amostras, das originais 10, ainda assim acabou por apresentar, no cultivo duplo com AN, um maior número de morfotipos prospectados em relação a todas as outras repetições, e modalidades. Obtendo número de colônias de morfologias distintas prospectadas cerca de 2,07 vezes maior do que sua variante com cultivo duplo em MP1 Ágar. Esse resultado sugere que, ao utilizar-se de suspensões de solo mais concentradas, faz-se o uso de uma carga microbiana expressivamente maior, principalmente em comparação com métodos nos quais faz-se uso de técnicas como enriquecimento de diluição de solo, ou plaqueamento de diluição

de solo sem cultivo prévio. O que condiz com a literatura da bioprospecção de solo (Lindahl *et al.*, 1995; Yan *et al.*, 2015).

Ainda assim, a terceira metodologia, mesmo com uma possível carga microbiana elevada, ao ter sua diluição e plaqueamento em MP1 Ágar, ao final é obtido um número de morfotipos muito próximo àqueles obtidos nas outras duas modalidades de prospecção. Junto a esse resultado, observa-se um padrão no qual todas as variantes das diferentes modalidades que contaram com, ao menos, um plaqueamento de colônias em MP1 Ágar, obtiveram ao final do estudo números próximos de colônias de morfologias distintas prospectadas.

Não foram encontrados estudo sobre bioprospecção utilizando PEAD como única fonte de carbono em meios solidificados. Contudo um estudo com consórcios obtidos de aterros, e enriquecidos com LDPE como fonte de carbono, mostraram diversidade e riqueza microbiana menores que o solo original, com enriquecimento de poucos táxons (Zhang *et al.*, 2025). Outro estudo, que utilizou consórcios enriquecidos com LDPE, a partir de solo também contaminado com plástico, resultou em comunidades dominadas por poucos gêneros. Em conjunto, esses resultados indicam o papel seletivo de um cultivo prolongado com uma variante de PE como única fonte de carbono, resultando em baixa diversidade microbiana em relação ao solo de origem (Ma *et al.*, 2023). Contudo, o presente estudo não realizou análises de biodiversidade.

Os resultados obtidos após as passagens “MP1 Ágar / AN” tanto da primeira quanto da segunda prospecção, foram numericamente próximos, com diferença numérica de 4,2%. Esse resultado sugere que, nas condições avaliadas, o enriquecimento prévio em MP1 líquido por 7 dias, presente na segunda prospecção, não aumentou ou diminuiu substancialmente a recuperação de morfotipos em comparação ao plaqueamento direto em MP1 Ágar. Segundo a literatura, a passagem de comunidades bacterianas por meios líquidos, com fontes de carbono únicas, produz consórcios menos diversos, dominados por poucos táxons especializados (Araújo *et al.*, 2020; Wu *et al.*, 2020). Enquanto meios solidificados com fontes de carbono únicas permitem isolamento de mais morfotipos, comumente não tão bem adaptados ao substrato alvo, porque diferenças de acesso a nutrientes e oxigênio levam a heterogeneidade de condições de seleção dentro do mesmo meio (Bastiaens *et al.*, 2000; Bonnet *et al.*, 2019).

Em síntese, mesmo que sejam raras as bactérias prospectadas de solo que degradam ágar, esse e outros agentes gelificantes podem ser usados como fonte alternativa de carbono e energia por vários microrganismos. A soma desses fatores sugeriria uma possível diferença entre as condições de seletividade do meio líquido e solidificado à base de MP1. No entanto, não é possível concluir, apenas com esses dados, o grau de seletividade imposto pelo enriquecimento, uma vez que não foram avaliados parâmetros independentes de diversidade ou composição taxonômica.

Também são necessários mais estudos para que se possa afirmar que a visível redução do número de morfotipos prospectados, após passagem dos diferentes inóculos por meio MP1 Ágar ou líquido, se deu a uma seletividade dos meios MP1 a potenciais degradadoras de PEAD, especificamente. Isso porque o presente estudo não conta com testes próprios de biodegradação de PEAD para as bactérias resultantes de sua prospecção. Mas também porque a sobrevivência de bactérias após passagem em meios mínimos líquidos ou solidificados contendo “PEAD como único carbono adicionado à formulação do meio” não é determinante para a sobrevivência apenas de degradadoras de PEAD.

A literatura sustenta que muitas bactérias se encontram em grandes limitações de carbono, mesmo em ambientes ricos, devido à formação de densos biofilmes que limitam o acesso a oxigênio, e nutrientes, às bactérias que se encontram mais distantes da superfície desse biofilme. Assim, essas são capazes de modular seu metabolismo, suprimindo suas exigências nutricionais, mantendo sua viabilidade por mais de 30 dias em meio mínimo sem carbono externo detectável, utilizando de reservas internas (Bergkessel *et al.*, 2021). Além do possível uso de material orgânico proveniente de bactérias lisadas (Bergkessel *et al.*, 2021). E do fato de que, a formação de biofilme, fenômeno observado em algumas repetições, favorece retenção e reciclagem de exsudatos e células mortas, prolongando a sobrevivência de não degradadoras de PEAD em meios com escassez de carbono (Flemming *et al.*, 2016).

Contudo, o uso de meios solidificados com polímeros hidrofóbicos, incluindo PEBD como única fonte de carbono, é utilizada como técnica de seleção e triagem de potenciais bactérias degradadoras desses mesmos polímeros (Gupta *et al.*, 2023; Patil *et al.*, 2024). Enquanto o enriquecimento de comunidades bacterianas com meios líquidos com PEAD como fonte de carbono única, é

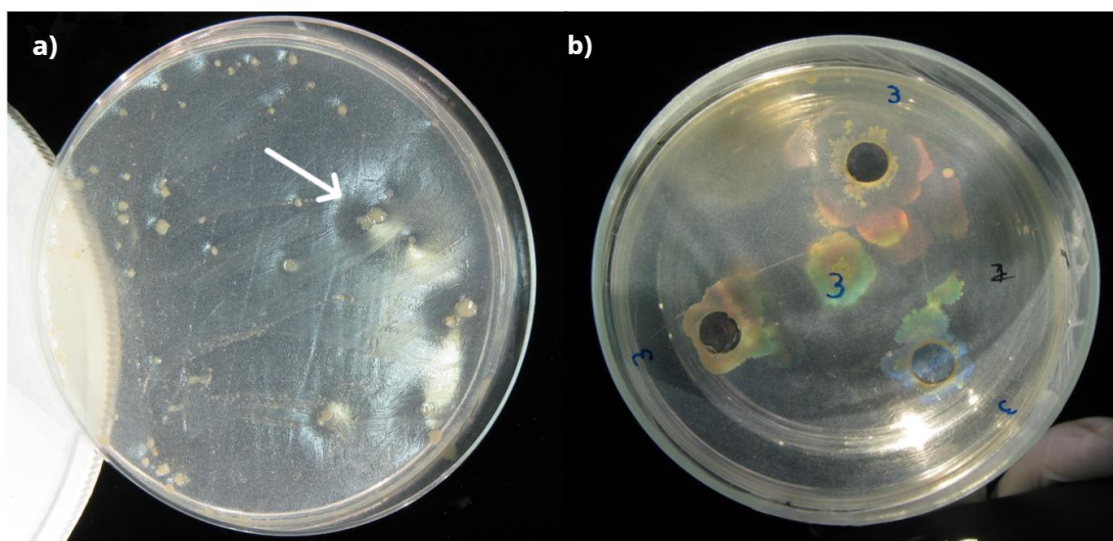
utilizado em prospecções que atingem o isolamento de cepas com potencial de biodegradar PEAD (Martinez-Delgado *et al.*, 2024). Além disso, comunidades de sedimento cultivadas com filmes de PE como única fonte de carbono, mostram aderência estável ao filme de PE, perda de massa do filme, e alteração de grupos funcionais na superfície do PE, indicativos de degradação (Chen *et al.*, 2024; Ma *et al.*, 2023). Enquanto comunidades bacterianas marinhas, sob condições semelhantes de cultivo, foram registradas colonizando PEAD e PEBD, além de terem selecionadas um conjunto mais restrito de táxons, frequentemente associados a degradação de hidrocarbonetos e *n*-alcanos (Pinto *et al.*, 2019).

Assim, a soma dos resultados indica que houve queda de morfotipos prospectados quando esses eram passados por MP1, em formato solidificado ou líquido. Contudo, não se fazem presentes no estudo dados suficientes que permitam inferir que tal redução do número de morfotipos se dá por uma seletividade do meio, nem que essa seletividade seja positiva para bactérias com potencial de degradar PEAD. No entanto, os padrões encontrados na literatura não permitem também descartar tais possibilidades. Dessa forma, se fazem necessários mais estudos, nos quais as bactérias selecionadas pela passagem em MP1 Ágar sejam propriamente testadas para a biodegradação de PEAD.

5.2.3 Formação de Halo em Metodologia de Poços de Difusão

Dos 20 *pools*, selecionados para serem utilizados como inóculos em testes de poço-difusão, apenas um apresentava capacidade de promover erosão do Ágar abaixo de suas colônias. Esse *pool* foi intitulado 101GR (Figura 8a), enquanto os outros 19 *pools*, selecionados por apresentar produção de muco iridescente (Figura 8b), não foram nomeados.

Figura 8 – Imagem do *pool* 101GR cultivado em AN (a) onde é possível irregularidade da superfície do ágar (seta). Imagem dos poços em MP1 Ágar inoculados com representante da amostra de solo 7, mostrando a iridescência do material ao redor dos poços (b).



Fonte: O próprio autor.

Os resultados dos testes de poços de difusão utilizando do *pool* 101GR completo, e seus isolados, como inóculo em diferentes condições se encontram na tabela 5.

Tabela 5 – Análise de formação de halo com *pool* 101GR e seus isolados em diferentes condições de cultivo.

Meio de Cultura	Inóculo	Meio de Cultivo do Inóculo	Condições de Cultivo do inóculo	Tempo de Cultivo do Inóculo	Concentração do Inóculo	Formação de Halo
MP2 - Agarose	101GR	MP2 - Líquido	<i>Shaker</i> 180rpm 28°C	48 horas	2 McFarland	Positivo em Colônias Isoladas
MP2 Agarose	- 101GR	MP2 - Líquido	<i>Shaker</i> 180rpm 28°C	48 horas	≥ 5 McFarland	Positivo
MP1 - Ágar	101GR	AN	Estufa 28°C	24 horas	≥ 5 McFarland	Positivo
MP1 Agarose	- 101GR	TSA	Estufa 28°C	24 horas	2 McFarland	Positivo
MP1 Agarose	- 101GR	MP1 - Ágar	Estufa 28°C	7 dias	2 McFarland	Positivo
Meio Zero Agarose	- 101GR	MP1 - Ágar	Estufa 28°C	7 dias	2 McFarland	Negativo
Meio Zero- Ágar	101GR	MP1 - Ágar	Estufa 28°C	7 dias	2 McFarland	Positivo
MP2 Agarose	- 101GR1	TSA	Estufa 28°C	24 horas	2 McFarland	Negativo
MP2 Agarose	- 101GR2	TSA	Estufa 28°C	24 horas	2 McFarland	Negativo
MP2 Agarose	- 101GR3	TSA	Estufa 28°C	24 horas	2 McFarland	Negativo
MP2 Agarose	- 101GR4	TSA	Estufa 28°C	24 horas	2 McFarland	Negativo
MP2 Agarose	- 101GR5	TSA	Estufa 28°C	24 horas	2 McFarland	Negativo
MP2 Agarose	- 101GR6	TSA	Estufa 28°C	24 horas	2 McFarland	Negativo
MP2	- 101GR7	TSA	Estufa 28°C	24 horas	2 McFarland	Negativo

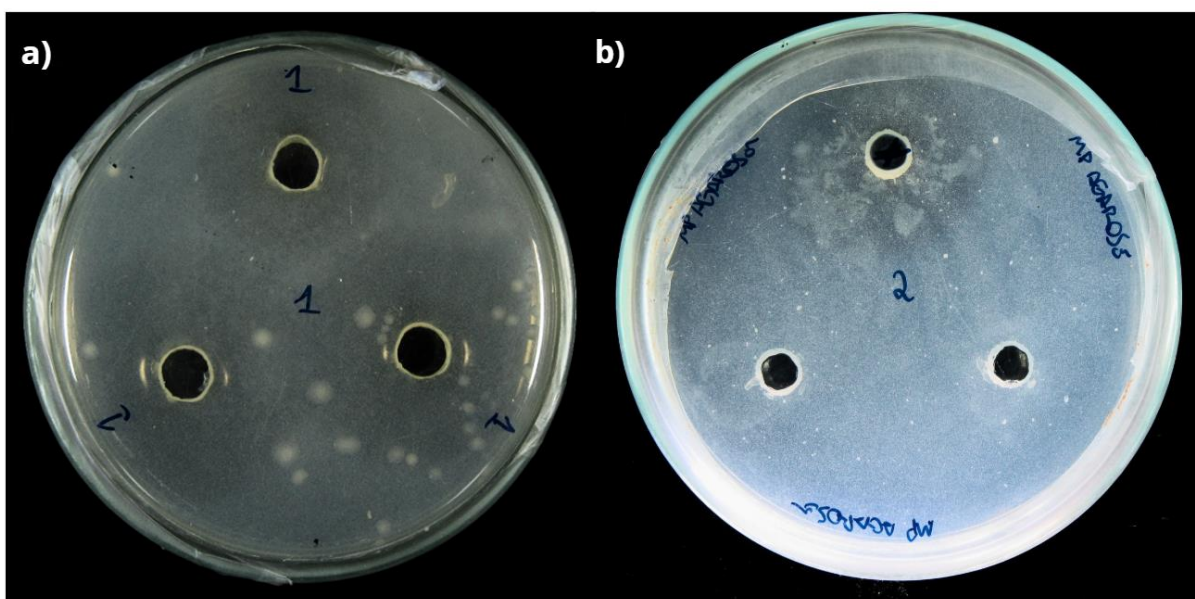
Agarose

Fonte: O próprio autor. – “AN” para “Ágar Nutriente”, “TSA” para “*Tryptic Soy Agar*”.

A seleção de 19 *pools* com base na sua propriedade de apresentar produção de muco iridescente, se deu com base em estudos anteriores, nos quais descreve-se que “ramnolipídeos” podem gerar aspecto iridescente, metálico ou “de mancha de óleo” em placas de ágar (Benie *et al.*, 2024). Os ramnolipídeos, assim como outros surfactantes, são frequentemente associados a melhores rendimentos de biodegradação de diversos polímeros hidrofóbicos como fenantreno (PHA), PET e PS (Gercke *et al.*, 2021; Lavanya, 2024; Ma *et al.*, 2018).

Inicialmente todos os *pools* foram testados em MP1 Ágar, e apenas o *pool* 101GR apresentou halo claro ao redor dos poços inoculados (Figura 9a). Contudo, a possível capacidade de degradação de ágar que 101GR apresentava, fez com que outros testes fossem conduzidos utilizando poços em meio MP1 Agarose. Novamente, apenas o *pool* 101GR apresentou halo claro ao redor de um de seus poços (Figura 9b).

Figura 9 – Imagem dos halos claros formados ao redor de poços inoculados com o *pool* completo 101GR em MP1 Ágar (a) e MP1 Agarose (b), após 8 dias de incubação.



Fonte: O próprio autor.

Contudo, apenas um poço, dos seis inoculados com o *pool* 101GR, apresentou halo claro em MP1 Agarose. Comparando os testes realizados com a 101GR em MP1 Ágar e em MP1 Agarose, observa-se que para cada teste foram utilizados diferentes meios para cultivo dos inóculos (TSA e MP1 Agarose), diferentes densidades de inóculo (2McFarland e ≥ 5 McFarland), e diferentes gelificantes.

A literatura sugere que agarases, como α -agarases, β -agarases, β -porfiranases, levam à perda localizada da matriz de ágar, o que, em meio solidificado, se manifestaria como zonas de liquefação, como as que foram observadas sob as colônias do *pool* 101GR, ou clareamento no entorno da colônia, como foi observado nos testes de poço com o *pool* 101GR em MP1 Ágar (Chi *et al.*, 2012). Enquanto isso, a substituição de ágar por agarose, tende a reduzir a suscetibilidade do gel à hidrólise enzimática (Chi *et al.*, 2012). Isto sugere que, o menor número de halos formados ao redor dos poços de 101GR, se deve, entre outros pontos, à maior resistência da agarose à degradação.

No que diz respeito ao cultivo do inóculo utilizado nos testes, o estudo de Cunliffe *et al.*, (2006) observou que o pré-crescimento em meio Luria-Bertani, em comparação com meio mínimo, promoveu grandes diferenças na expressão de genes catabólicos, e na degradação de hidrocarbonetos pela bactéria *Sphingobium yanoikuyae*. Observou-se ainda nesse estudo que o inóculo pré-cultivado em meio complexo apresentou maior expressão de genes associados à degradação, resultando também em maior utilização dos contaminantes ofertados (Cunliffe *et al.*, 2006). Resultados similares foram observados em outros estudos (Gómez-Villegas *et al.*, 2021; Wu *et al.*, 2023).

Outros estudos relacionam o volume do aporte enzimático bacteriano com o diâmetro dos halos observados em testes de degradação de diferentes substratos. Dingle *et al.*, (1953), constataram que para amilase, poligalacturonase, celulase, protease e pectinesterase, o diâmetro da zona de degradação no ágar foi linearmente relacionado com o log da quantidade de enzima aplicada, em diferentes concentrações. Resultados similares foram observados em estudos semelhantes mais recentes (Junior *et al.*, 2020).

Outros estudos relacionam também a densidade do inóculo inicial em testes de biodegradação, com o volume final de substrato biodegradado. Li *et al.* (2018) mostraram que o aumento do inóculo de 1% até $\geq 5\%$ (v/v), de um em consórcio halotolerante, aumentou significativamente a degradação de um plastificante de PVC. Enquanto para diesel, o aumento da densidade do inóculo de 2 a 10% (v/v) aumentou linearmente a eficiência de degradação (até quase 95%), mostrando relação entre a taxa de biodegradação e a densidade inicial de células (Otiniano *et al.*, 2022). Padrão esse reforçado, há tempos, por outros estudos e revisões (Thouand *et al.*, 1995; Thouand *et al.*, 2011).

Em conjunto, os resultados sugerem que a diferença no número de halos, formados entre os testes realizados com o *pool* completo 101GR em MP1 Agarose e MP1 Ágar, pode ter sido produto da soma de fatores: i) diferença na densidade celular do inóculo utilizado; ii) alterações nas condições de cultivo do inóculo; iii) maior resistência da agarose à degradação bacteriana, em comparação com o ágar.

Tais resultados e discussões também servem como base para a análise de outros resultados do presente estudo. Principalmente àqueles que mostraram halos claros sendo formados ao redor dos poços, em “Meio Zero Ágar”, mas não em “Meio Zero Agarose”, quando inoculados com o *pool* 101GR. Esses resultados reforçam as interpretações de que, possivelmente, o *pool* 101GR possuiria capacidade de degradação de compostos do ágar, e da agarose, e que seus halos apresentados em MP1 seriam, ao menos em parte, pela degradação dos agentes gelificantes.

No entanto, a técnica de formação de halos claros em meios suplementados com polímeros hidrofóbicos recalcitrantes é amplamente utilizada para a seleção de potenciais degradadores desses polímeros. Tendo sido utilizada para seleção de possíveis degradadores de policaprolactona (Urbeliené *et al.*, 2025), de PET (Torena *et al.*, 2021), de bis(2-hidroxietil) tereftalato (derivado do PET) (Yi *et al.*, 2025), e para seleção de possíveis degradadores de PEBD (Alami *et al.*, 2025; Di Napoli *et al.*, 2023; Gupta *et al.*, 2016), e até de PEAD (Aatikah Tareen *et al.*, 2021). Contudo, o nível de eficiência de seletividade de meios semelhantes, para diferenciar degradadores de PEAD, permanece incerta. Apenas um estudo relata a eficiência de triagem de degradadoras de 33,3% (Aatikah Tareen *et al.*, 2021).

Assim, os resultados obtidos com o *pool* 101GR, nas condições deste estudo, precisam ser melhor investigados para confirmar se os halos seriam decorrentes da biodegradação de PEAD, ou resultantes apenas da degradação dos agentes gelificantes.

Os halos formados poderiam advir também, segundo a literatura, de fenômenos alheios à degradação de PEAD ou dos gelificantes. No experimento de Burd *et al.* (1996), foi observado que a adição de biossurfactantes em placas de PHA permitiram a visualização de halos claros idênticos aos observados quando as placas eram inoculadas com a cepa *Pseudomonas marginalis* PD-14B, degradadora de PHA (Burd *et al.*, 1996). Resultado obtido, segundo o estudo, devido à capacidade de surfactantes alterarem a distribuição das partículas hidrofóbicas, bem como seu ângulo de contato com a água, o que geraria uma menor opacidade em regiões onde

o biossurfactante age sobre o PHA. Isto sugere que, a reorganização das partículas de PEAD, pela interação desse com biossurfactantes produzidos pelo *pool* 101GR, seria uma das explicações possíveis, ou complementares, para a visualização de halos, em parte dos meios testados.

Segundo a literatura, a interação das partículas de PEAD com biossurfactantes, poderia levar a um aumento da área de contato PEAD/água, e PEAD/bactérias, auxiliando na colonização microbiana, e em última instancia a biodegradação do PEAD (Ai *et al.*, 2024; Chauhan *et al.*, 2025).

Em testes posteriores, os integrantes do *pool* 101GR foram isolados, originando 7 linhagens nomeadas de “101GR1” a “101GR7”, ou “G1” a “G7”. Todos os isolados foram testados por uma metodologia semelhante à utilizada para os testes de poço-difusão com o *pool* 101GR completo. Os resultados, para todos os isolados, foram novamente negativos (Tabela 5). Isto é, não foram observados halos claros em nenhuma das repetições. Foram realizados novamente experimentos com o *pool* completo, reativando-o a partir de seu estoque em -80°C, e após ajustes nas condições de reativação e concentração do inóculo, resultados positivos novamente foram constatados. Tal observação sugere que, para que haja a formação de halos claros, deve haver um efeito sinérgico entre os componentes do *pool* 101GR.

Isso é compatível com achados na literatura, nos quais consórcios bacterianos frequentemente apresentam maiores valores de degradação ou solubilização de polímeros hidrofóbicos, e de degradação de diversos outros substratos. Em 2023, Dar *et al.* demonstraram que um consórcio bacteriano degradou completamente o pesticida Malation em solo em 15 dias, enquanto as mesmas, quando isoladas, degradaram de 50 a 68% do poluente.

Recentemente, a literatura que aborda a biodegradação de derivados de petróleo tem obtido resultados que convergem para o entendimento de que, consórcios degradam esses poluentes de maneira mais eficiente do que linhagens isoladas, e que isso deve-se, provavelmente, a um sinergismo, que envolve múltiplas vias enzimáticas e co-metabolização dos derivados de petróleo (Darma *et al.*, 2020; Festa *et al.*, 2016; Książek-Trela *et al.*, 2025; Ozyurek, 2023).

Estudos comparando diretamente a eficiência de degradação de PEAD por consórcios bacterianos, com a eficiência de degradação de isolados bacterianos, não foram encontrados. Contudo, já foi demonstrado sinergia enzimática entre bactérias do gênero *Bacillus*, na degradação de PEAD (Zhang *et al.*, 2023). Para a

biodegradação de PE a literatura é menos limitada. Han *et al.* (2020) demonstraram que, um consórcio de bactérias do gênero *Arthrobacter* e *Streptomyces* degradou filmes de PE com: i) maior formação de biofilme; ii) maiores alterações químicas do PE; iii) maior liberação de CO₂; iv) maiores alterações superficiais, do que os mesmos parâmetros obtidos com cada isolado sozinho. Resultado condizente com outros estudos similares com PE (Li *et al.*, 2025; Putcha *et al.*, 2024; Zhang *et al.*, 2023) e PEBD (Khampratueng *et al.*, 2025; Skariyachan *et al.*, 2016).

Em relação à eficiência de produção de biossurfactantes, que poderiam produzir halos claros nos meios testados, a literatura mostra tendência semelhante, a favor dos consórcios. Alves *et al.* (2019) apresentaram que co-culturas de bactérias dos gêneros *Bacillus*, *Pseudomonas* ou *Listeria* aumentaram a produção de biossurfactantes no meio solidificado testado. Nesse meio a atividade de biossurfactantes era evidenciada pela formação de halos claros, e os resultados do estudo mostraram que os consórcios apresentavam halos maiores, em comparação com aqueles produzidos pelas bactérias isoladas do consórcio. Resultados compatíveis com os obtidos por outros estudos (Cerqueira *et al.*, 2011; Jing *et al.*, 2007; Mukred *et al.*, 2008).

Segundo alguns estudos, a maior produção de biossurfactantes por consórcios bacterianos, em relação aos isolados, está relacionada a diferenças de nutrição bacteriana, competição por nutrientes e sinalização química. Em um estudo de Kang *et al.* (2024) com um consórcio de *Bacillus* e *Pseudomonas*, a bactéria do gênero *Bacillus* apresentou metabolismo mais eficiente para a degradação da fonte de carbono apresentada, aumentando a liberação de açúcares no meio quando comparada à cultura pura de *Pseudomonas* spp. Enquanto isso, no mesmo estudo, a bactéria do gênero *Pseudomonas* apresentou maior capacidade de produção de biossurfactantes, mas necessitando de açúcares dispersos no meio para sua produção.

Revisões da literatura sobre co-culturas descrevem que a capacidade das comunidades bacterianas de assumir funções complementares entre microrganismos reduz o “peso” metabólico em cada cepa, e potencializa o fluxo de carbono para produção de metabólitos secundários, incluindo surfactantes (Jones *et al.*, 2018; Diender *et al.*, 2021). Outro estudo, de Hamza *et al.* (2018), mostra como a competitividade por recursos, entre *Staphylococcus lentus* e *Vibrio harveyi*, provocou produção 2,3 vezes maior de biossurfactantes. Enquanto Alves *et al.* (2019) descreve

como a produção de biossurfactantes por *Pseudomonas* é afetada por redes de *quorum sensing*, com a presença de outras espécies, em um co-cultivo, podendo modificar a sinalização local, levando à indução de genes associados à produção desses metabólitos secundários.

A soma dessas informações sugere que, a densidade celular bacteriana e a presença de vários morfotipos, nos testes com o *pool* 101GR completo, poderiam explicar a diferença entre os resultados obtidos com o *pool* completo, e aqueles obtidos testando apenas seus isolados. Isso, caso o mecanismo utilizado pelo *pool* 101GR para a formação de halos, nos meios contendo ou não PEAD, fosse por meio da: i) produção de biossurfactantes; ii) degradação do ágar.

Um desafio encontrado em nossa metodologia foi que um grande número das repetições testadas apresentava halos de difícil visualização, fazendo com que possíveis resultados positivos possam ter sido registrados como negativo. Em PEAD, a degradação ocorre de forma lenta e predominantemente superficial, com formação gradual de grupos oxidativos e rugosidade, fenômenos que geram pequenos efeitos em relação a alterações ópticas, principalmente em curtos períodos de atividade microbiana sobre o PEAD (Hooda *et al.*, 2023; Vesely *et al.*, 2016). Assim, estudos como o de Skariyachan *et al.* (2018), mostram o uso de “azul brilhante de coomasie” para a coloração das placas e melhor visualização de halos claros, o que resultou no isolamento da cepa CGK112, degradadora de PEAD. O “azul brilhante de coomasie” é um corante eficiente para vários plásticos, incluindo PEAD, melhorando a visualização de suas partículas (Li *et al.*, 2024). Tal cenário sugere que, fazer uso deste corante, pelo presente estudo, poderia ter aumentado as chances de visualização mais frequente de halos, se estes fossem presentes, bem como tornado tais halos mais específicos quanto a presença ou ausência de partículas de PEAD.

5.2.4 Seleção e Caracterização Inicial de Isolados

Os isolados bacterianos obtidos, integrantes do *pool* 101GR, foram corados pela coloração de Gram. Nessa coloração todos foram classificados como Gram negativos. Após isso, 101GR1 a 101GR7 foram cultivados sucessivamente em MP2 Agarose, contudo apenas para 101GR4 e 101GR6 foi observado crescimento em todas as etapas. Esses dois isolados foram inoculados em meio “*Columbia CNA Agar*”, MacConkey e Meio Zero. Os resultados em relação a crescimento, cor das colônias e

cor do meio, encontram-se compilados na tabela 6.

Tabela 6 – Crescimentos de 101GR4 e 101GR6 em meios CNA, MacConkey e Meio Zero.

Microrganismos Inoculados	Meio de Cultivo	Crescimento	Cor das Colônias	Cor do Meio	Tempo de Incubação do Meio
101GR4	CNA	Negativo	-	NA	24 horas
101GR6	CNA	Positivo	Creme	NA	24 horas
101GR4	MacConkey	Positivo	Rosa e Creme	Amarelo	24 horas
101GR6	MacConkey	Positivo	Creme	Amarelo	24 horas
101GR4	Meio Zero	Positivo	Translúcida	NA	7 dias
101GR6	Meio Zero	Positivo	Translúcida	NA	7 dias

Fonte: O próprio autor. – “NA” para situações nas quais a avaliação não se aplica.

O crescimento positivo da 101GR6, tanto em CNA quanto em MacConkey, levantou questionamentos sobre a pureza de sua cultura, ou perfil de resistências. Isso porque, o meio CNA, ou “Columbia CNA Agar” contém duas substâncias seletivas principais, colistina e ácido nalidíxico. Ambos são antibióticos que inibem o crescimento de parte das bactérias Gram-negativas (Ahmed et al., 2020; Kalinen et al., 2025). A colistina liga-se fortemente ao LPS da membrana externa de Gram-negativas, desorganiza suas bicamadas lipídicas, aumentando a permeabilidade e levando a vazamento de conteúdo celular e morte (Alfei et al., 2020). A parede celular da maioria das bactérias gram positivas impede que o mesmo aconteça com seus representantes. Enquanto o ácido nalidíxico age inibindo a DNA girase (topoisomerase II), bloqueando a replicação do DNA (Fukuda et al., 2026). Nas gram-positivas o efeito é semelhante, mas dependente de doses maiores às encontradas no CNA. Contudo, a presença de bactérias gram-negativas apresentando resistência, tanto a ácido nalidíxico quanto à colistina, é frequentemente documentada na literatura (Abavisani et al., 2023; Ahmed et al., 2020; Dunne, 1999; Gray et al., 1979), mostrando que a seletividade à gram-negativos, pelo CNA, não é absoluta.

A interpretação de que a 101GR6 poderia consistir, na realidade, de duas linhagens co-cultivadas, sendo um gram-positivo e outro gram-negativo, é pouco fundamentada na literatura. Isso porque, a existência de bactérias gram-positivas que

aparentam ser bastonetes gram-negativas na coloração de gram, como *Lactobacillus iners*, *Thermanaeromonas toyohensis*, *Thermacetogenium phaeum*, *Thermosediminibacter oceani*, etc (Choi *et al.*, 2024; Kim *et al.*, 2020), frequentemente estão associados a ambientes como, interior vaginal, fontes termais, e condições de seleção de termófilos. Todos, cenários incompatíveis com aqueles nos quais ocorreu a coleta das amostras.

Portanto, os resultados do presente estudo, somados aos apresentados na literatura, sugerem que 101GR6 se trata de um bastonete gram negativo, que apresenta resistência a ambos os antibióticos.

O meio MacConkey contém sais biliares e corante violeta cristal, que danificam a parede celular e membrana de muitas, mas não todas, bactérias Gram-positivas, impedindo seu crescimento (Nikaido, 1996). Ao mesmo tempo, MacConkey é um meio seletivo para bactérias Gram-negativas entéricas, como Enterobacteriaceae. Isso devido ao fato dessas serem naturalmente mais resistentes a corantes e sais biliares (Nikaido, 1996). Além disso, o meio MacConkey é diferencial para a fermentação de lactose, por resposta a variações de pH. Assim, produzindo, tom amarelado no meio (e possivelmente em colônias) para casos de não fermentação, e tom rosado no meio (e possivelmente colônias) em caso de fermentação (Flournoy, 1990). Assim, os resultados obtidos sobre o crescimento da 101GR6 em MacConkey. Suas colônias cremes, e o meio amarelado, sugerem que se trata de um microrganismo não fermentador de lactose.

No que tange aos resultados obtidos sobre o crescimento da 101GR4 em MacConkey, seu crescimento positivo sugere que inclua um microrganismo gram negativo. O que é reforçado pelo seu crescimento negativo em CNA. Contudo, as cores que 101GR4 apresentou no crescimento em MacConkey apontam tanto para a fermentação, quanto para a não fermentação de lactose. Na literatura, tal observação é frequentemente associada a um co-cultivo de bactérias fermentadoras, e não fermentadoras de lactose, em um mesmo meio MacConkey (Alaltoganee *et al.*, 2025). O que sugere que 101GR4 seja composta por mais de uma linhagem bacteriana. Ambas gram-negativas.

A respeito do crescimento tanto de 101GR6 quanto de 101GR4 em “Meio Zero Agarose”. Caso 101GR4 e 101GR6 fossem capazes de crescer em meio MP1 Agarose, mas não em “Meio Zero Agarose”, poderia ser levada em consideração a possibilidade de esses grupos estarem utilizando PEAD como fonte de carbono.

Contudo, 101GR4 e 101GR6 cresceram em ambas as condições, não sofrendo alteração significativa em seu tempo de crescimento, sendo esse de 7 dias para ambas as formulações. Discussões anteriores abordaram como o *pool* 101GR poderia apresentar capacidade de degradação de gelificantes, e como resultados aquém poderiam ser observados caso os isolados do *pool* fossem cultivados separadamente. Assim, não é possível descartar a interpretação dos resultados que sugere um uso mínimo da agarose como fonte de carbono, para sustento do crescimento bacteriano de 101GR4 e 101GR6. No entanto, o ritmo de crescimento semelhante de 101GR4 e 101GR6 tanto em “Meio Zero Agarose” quanto em “MP1 Agarose”, sugerem que com a formulação “MP1 Agarose” ambos os grupos bacterianos não possuíam maior acesso a fontes de carbono que permitissem um ritmo significativamente mais acelerado de crescimento. Padrões que sugerem reduzida, ou nula, capacidade de uso do PEAD como fonte de carbono nas condições testadas.

Bactérias, por definição, são dependentes de fontes externas de carbono, sejam essas orgânicas ou inorgânicas. Portanto, 101GR4 e 101GR6 estavam captando carbono para seu crescimento. Diferentes tipos de solo possuem comunidades inteiras de bactérias mixotróficas capazes de realizar o ciclo de Calvin-Benson-Bassham, para capturar carbono da atmosfera (Wang *et al.*, 2025; Zhou *et al.*, 2025). Podendo utilizar a luz, ou H_2 , H_2S , S^0 , $S_2O_3^{2-}$, NH_4^+ , NO_2^- , Fe^{2+} , como fonte de energia (Wang *et al.*, 2022), a maioria, componentes naturais do “Meio Zero Agarose”. Fatores que não sugeririam, mas que possibilitariam que o crescimento de 101GR4 e 101GR6 fosse possível na formulação em questão, ao utilizarem de autotrofia facultativa.

Em outra proposta de interpretação para os resultados positivos de crescimento das bactérias em “Meio Zero Agarose”, vale observação a trabalhos voltados ao estudo do crescimento bacteriano em condições de depleção extrema de carbono. No estudo de Shoemaker *et al.*, (2021), 21 táxons bacterianos heterotróficos foram cultivados em sistemas fechados, sem aporte externo de carbono. Ao final do estudo, 20 dos táxons cultivados apresentavam viabilidade, após 1000 dias de cultivo. Segundo Shoemaker *et al.*, (2021), a sobrevivência de longo prazo dos táxons, foi sustentada pela reciclagem do material orgânico de células mortas, que eram degradadas e serviam como recurso energético, e fonte de carbono, para as sobreviventes, capazes de sobreviver e evoluir. O estudo ainda estimou o tempo necessário para a extinção da viabilidade celular dos táxons testados, e os resultados

apontaram para períodos 10^2 a 10^5 anos. Estratégia documentada, em cenários naturais e com depleção menor de carbono, em outros estudos envolvendo sedimentos profundos (Beidler *et al.*, 2024; Finley *et al.*, 2025). Tal propriedade, envolvendo reciclagem de material orgânico de células bacterianas mortas, sugere que, fenômenos semelhantes poderiam sustentar, sozinhos, cultivos líquidos prolongados. Isso, mesmo que não houvesse fonte de carbono, ou que as bactérias não fossem capazes de utilizar a fonte de carbono adicionada às formulações. Constatação que torna, possivelmente, não obrigatório o uso de quaisquer fontes de carbono adicionadas às diferentes formulações. E que poderiam explicar a manutenção da capacidade de crescimento da 101GR e 101GR6 em “Meio Zero Agarose”.

Tal possível “não obrigatoriedade” do uso do PEAD como fonte de carbono, pelas bactérias, nos meios solidificados formulados, unida ao fato de o presente estudo não ter lançado mão de técnicas envolvendo testes de biodegradação mais robustos que confirmassem a capacidade de biodegradação de PEAD por parte das bactérias prospectadas, compõem as principais limitações do estudo. Impedindo afirmar categoricamente que se apresente o desenvolvimento de metodologias para prospecção, seleção e triagem de bactérias efetivamente degradadoras de PEAD.

6. CONCLUSÃO

Os meios formulados permitem concluir que *Pleurotus ostreatus* não é capaz de formar halos claros, em nenhuma das formulações e condições testadas, indicando que esse critério não é aplicável como método de triagem fenotípica para o fungo sob as condições avaliadas. O óleo mineral comprometeu a homogeneização de partículas de PEAD em meio solidificado, enquanto o Tween80 melhorou a dispersão das partículas. Também foi possível inferir que o fungo filamentoso *Pleurotus ostreatus*, não só é capaz de utilizar Tween80, e óleo mineral para obtenção de carbono, como seu metabolismo possui tendência a priorizar sua degradação quando estão presentes em um mesmo substrato que partículas finas de PEAD. Observou-se ainda que a presença simultânea de múltiplas fontes de carbono (PEAD, Tween e óleo mineral) reduziu a densidade micelial e a velocidade de crescimento, apontando limitações ao uso dessas substâncias, amplamente utilizadas em estudos de biodegradação de PEAD.

Nas metodologias desenvolvidas de bioprospecção para isolamento de microrganismos com potencial de degradar PEAD, as formulações “MP1 Líquido” e “MP1 Ágar” apresentaram caráter seletivo, reduzindo o número de morfotipos cultiváveis recuperados nas metodologias que o utilizaram, em comparação com meios não seletivos. Na triagem realizada por poços, o *pool* 101GR apresentou fenótipo consistente de degradação de ágar, mas atividade limitada sobre agarose, porém esse fenótipo não foi reproduzido pelos isolados individualmente, indicando dependência de interações consorciadas para expressão do caráter observado.

Assim, este trabalho apresenta resultados que sustentam a aplicabilidade do meio formulado e do fluxo de prospecção/triagem desenvolvido como ferramentas iniciais para seleção de *pools* e isolados obtidos em condições de PEAD como principal fonte de carbono adicionada, estabelecendo um ponto de partida experimental para estudos posteriores que realizem validações analíticas e ensaios mais específicos de biodegradação.

7. MATERIAL SUPLEMENTAR

7.1 COORDENADAS E DESCRIÇÕES DOS PONTOS DE COLETA DAS AMOSTRAS DE SOLO.

As coordenadas exatas de cada ponto de coleta, descrições do aspecto do solo amostrado, sombreamento, umidade, e composição dos resíduos depositados nos solos dos pontos amostrados estão dispostos na **TABELA 7**.

Tabela 7 – Compilado de coordenadas de cada ponto de amostragem e características do solo coletado.

Ponto de Amostragem de Solo	Coordenadas	Aspecto do Solo	Umidade	Sombreamento	Contaminantes Identificados
Ponto 1	-23.2944272, -51.1491003	Argiloso	Úmido	Sombreado	Papelão, vidro, metais e plásticos
Ponto 2	-23.2943508, -51.1490852	Arenoso	Seco	Não sombreado	Vidro, metais e plásticos
Ponto 3	-23.2946618, -51.1488592	Argiloso	Úmido	Pouco sombreado	Vidro, metais e plásticos
Ponto 4	-23.2946236, -51.1487975	Argiloso	Úmido	Pouco sombreado	Vidro e plásticos
Ponto 5	-23.2945676, -51.1487392	Argiloso	Intermediário	Não sombreado	Plásticos
Ponto 6	-23.3151189, -51.2145586	Argiloso	Muito úmido	Não sombreado	Plásticos
Ponto 7	-23.3150949, -51.2147058	Argiloso	Muito úmido	Não sombreado	Papelão e plásticos
Ponto 8	-23.3152538, -51.2145418	Argiloso	Muito úmido	Não sombreado	Papelão e plásticos
Ponto 9	-23.3150078, -51.2148932	Enegrecido	Encharcado	Não sombreado	Papelão e plásticos
Ponto 10	-23.3146232, -51.2149928	Pedregoso	Úmido	Sombreado	Plásticos

Fonte: O próprio autor.

8. REFERÊNCIAS

- ABBASI, Sajjad; TURNER, Andrew. Human exposure to microplastics: a study in Iran. **Journal of Hazardous Materials**, v. 403, p. 123799, 2021.
- ABDALLA, A. I. et al. Evaluation of Low-Cost Grain-Based Media for Enhanced Mycelial Growth of Oyster Mushroom (*Pleurotus ostreatus*). **International Journal of Environment, Agriculture and Biotechnology**, v. 10, n. 4, p. 620724, 2025.
- AGUIAR, Mariana IS et al. Enhancing plastic waste recycling: Evaluating the impact of additives on the enzymatic polymer degradation. **Catalysis Today**, v. 429, p. 114492, 2024.
- AHMAD, Hibal; RODRIGUE, Denis. Crosslinked polyethylene: A review on the crosslinking techniques, manufacturing methods, applications, and recycling. **Polymer Engineering & Science**, v. 62, n. 8, p. 2376-2401, 2022.
- AHMED, M. A. E.-G. et al. Colistin and its role in the Era of antibiotic resistance: an extended review (2000–2019). **Emerging Microbes & Infections**, v. 9, n. 1, p. 868–885, 6 maio 2020.
- Al, J. et al. Effect of biosurfactants on the transport of polyethylene microplastics in saturated porous media. **Science of The Total Environment**, v. 954, p. 176636, dez. 2024.
- AJAY, S. V.; PRATHISH, K. P. Dioxins emissions from bio-medical waste incineration: A systematic review on emission factors, inventories, trends and health risk studies. **Journal of Hazardous Materials**, v. 465, p. 133384, 2024.
- ALALTOGANEE, Ehsan A.; MUHAMMED, Hayder A. Epidemiological Study of Lactose-and Non-lactose-Fermenting Gram-Negative Bacterial Isolates From Clinical Specimens in the Middle Al-Furat Region of Iraq. **Cureus**, v. 17, n. 9, 2025.
- ALAMI, Nur Hidayatul et al. Functional and genomic characterization of polyethylene degrading yeast *Meyerozyma carpophila* M6. 0.2 isolated from marine plastic debris in East Java Indonesia. **Scientific reports**, v. 15, n. 1, p. 40437, 2025.
- ALFEI, Silvana; SCHITO, Anna Maria. Positively charged polymers as promising devices against multidrug resistant gram-negative bacteria: A Review. **Polymers**, v. 12, n. 5, p. 1195, 2020.
- ALLEN, Steve et al. Atmospheric transport and deposition of microplastics in a remote mountain catchment. **Nature geoscience**, v. 12, n. 5, p. 339-344, 2019.
- AMATO-LOURENÇO, Luís Fernando et al. Microplastics in the olfactory bulb of the human brain. **JAMA network open**, v. 7, n. 9, p. e2440018, 2024.
- AMBROSINI, Roberto et al. First evidence of microplastic contamination in the supraglacial debris of an alpine glacier. **Environmental pollution**, v. 253, p. 297-

301, 2019.

AMEREH, Fatemeh et al. Placental plastics in young women from general population correlate with reduced foetal growth in IUGR pregnancies. **Environmental pollution**, v. 314, p. 120174, 2022.

AMMALA, Anne et al. An overview of degradable and biodegradable polyolefins. **Progress in polymer science**, v. 36, n. 8, p. 1015-1049, 2011.

AMOBONYE, Ayodeji et al. Plastic biodegradation: Frontline microbes and their enzymes. **Science of the Total Environment**, 2021.

ANDRADY, Anthony L. Microplastics in the marine environment. **Marine pollution bulletin**, v. 62, n. 8, p. 1596-1605, 2011.

ANDRADY, Anthony L.; NEAL, Mike A. Applications and societal benefits of plastics. **Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences**, v. 364, n. 1526, p. 1977-1984, 2009.

ANUNCIATO, Taiza Cassia et al. Análise da viabilidade energética da reciclagem química de resíduos plásticos por meio da simulação do processo de pirólise utilizando Aspen Plus®. **The Journal of Engineering and Exact Sciences**, v. 7, n. 2, p. 12578-01-19e, 2021.

ARAÚJO, Wydemberg Jose de et al. Microbial culture in minimal medium with oil favors enrichment of biosurfactant producing genes. **Frontiers in Bioengineering and Biotechnology**, v. 8, p. 962, 2020.

ARÉVALO-HERNÁNDEZ, John Jairo et al. Plastic debris in agroecosystems: Distribution and abundance patterns, and relationship with terrain characteristics in southeastern Brazil. **ACS omega**, v. 10, n. 18, p. 18457-18469, 2025.

ARIZA-TARAZONA, M. C. et al. Microplastic pollution reduction by a carbon and nitrogen-doped TiO₂: Effect of pH and temperature in the photocatalytic degradation process. **Journal of Hazardous Materials**, v. 395, p. 122632, ago. 2020.

ARKATKAR, A. et al. Growth of Pseudomonas and Bacillus biofilms on pretreated polypropylene surface. **International Biodeterioration & Biodegradation**, v. 64, n. 6, p. 530–536, set. 2010.

ASIANDU, Angga Puja; WAHYUDI, Agus; SARI, Septi Widiya. A review: plastics waste biodegradation using plastics-degrading bacteria. **Journal of Environmental Treatment Techniques**, v. 9, n. 1, p. 148-157, 2021.

AWASTHI, Shraddha et al. Biodegradation of thermally treated high-density polyethylene (HDPE) by *Klebsiella pneumoniae* CH001. **3 Biotech**, v. 7, n. 5, p. 332, 2017.

AZEEM, Imran et al. Uptake and accumulation of nano/microplastics in plants: a critical review. **Nanomaterials**, v. 11, n. 11, p. 2935, 2021.

BALALI, Hasti; MORABBI, Ali; KARIMIAN, Mohammad. Concerning influences of micro/nano plastics on female reproductive health: focusing on cellular and molecular pathways from animal models to human studies. **Reproductive Biology and Endocrinology**, v. 22, n. 1, p. 141, 2024.

BANDOPADHYAY, Sreejata et al. Soil microbial communities associated with biodegradable plastic mulch films. **Frontiers in Microbiology**, v. 11, p. 587074, 2020.

BARBOSA, Fernando et al. A critical viewpoint on current issues, limitations, and future research needs on micro-and nanoplastic studies: From the detection to the toxicological assessment. **Environmental Research**, v. 182, p. 109089, 2020.

BARONE, Giovanni Davide et al. Hints at the Applicability of Microalgae and Cyanobacteria for the Biodegradation of Plastics. **Sustainability**, v. 12, n. 24, p. 10449, 2020.

BARTH, Markus et al. Effect of hydrolysis products on the enzymatic degradation of polyethylene terephthalate nanoparticles by a polyester hydrolase from *Thermobifida fusca*. **Biochemical engineering journal**, v. 93, p. 222-228, 2015.

BASTIAENS, Leen et al. Isolation of adherent polycyclic aromatic hydrocarbon (PAH)-degrading bacteria using PAH-sorbing carriers. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 66, n. 5, p. 1834-1843, 2000.

BAXTER, Lynsey et al. Thermoplastic micro- and nanocomposites for neutron shielding. In: ABDULRAHMAN, Sajith Thottathil; THOMAS, Sabu; AHMAD, Zakiah (Ed.). **Micro and nanostructured composite materials for neutron shielding applications**. Woodhead Publishing, 2020.

BERGKESSEL, Megan; DELAVAIN, Laurent. Diversity in starvation survival strategies and outcomes among heterotrophic proteobacteria. **Microbial physiology**, v. 31, n. 2, p. 146-162, 2021.

BERGMANN, Melanie et al. White and wonderful? Microplastics prevail in snow from the Alps to the Arctic. **Science advances**, v. 5, n. 8, p. eaax1157, 2019.

BERIOT, Nicolas et al. Intensive vegetable production under plastic mulch: A field study on soil plastic and pesticide residues and their effects on the soil microbiome. **Science of the Total Environment**, v. 900, p. 165179, 2023.

BLETTLER, Martín et al. Dangerous traps: Macroplastic encounters affecting freshwater and terrestrial wildlife. **Science of the Total Environment**, v. 798, p. 149317, 2021.

BONNET, Maryline et al. Bacterial culture through selective and non-selective conditions: the evolution of culture media in clinical microbiology. **New microbes and new infections**, v. 34, p. 100622, 2020.

BOYLE, Kellie; ÖRMECI, Banu. Microplastics and nanoplastics in the freshwater and terrestrial environment: A review. **Water**, v. 12, n. 9, p. 2633, 2020.

BRAUN, Thorsten et al. Detection of microplastic in human placenta and meconium in a clinical setting. **Pharmaceutics**, v. 13, n. 7, p. 921, 2021.

BROWNE, Mark A.; GALLOWAY, Tamara; THOMPSON, Richard. Microplastic an emerging contaminant of potential concern?. **Integrated environmental assessment and Management**, v. 3, n. 4, p. 559-561, 2007.

BROWNE, Mark Anthony et al. Accumulation of microplastic on shorelines worldwide: sources and sinks. **Environmental science & technology**, v. 45, n. 21, p. 9175-9179, 2011.

BURD, Genrich; WARD, Owen P. Bacterial degradation of polycyclic aromatic hydrocarbons on Ágar plates: the role of biosurfactants. **Biotechnology Techniques**, v. 10, n. 5, p. 371-374, 1996.

CARR, Clodagh M.; CLARKE, David J.; DOBSON, Alan DW. Microbial polyethylene terephthalate hydrolases: current and future perspectives. **Frontiers in Microbiology**, v. 11, p. 571265, 2020.

CASTILLO-TORO, Alejandra et al. Evaluation of two microcosm systems for co-treatment of LDPEoxo and lignocellulosic biomass for biochar production. **Biomaterials Research**, v. 25, n. 1, p. 21, 2021.

CERQUEIRA, Vanessa S. et al. Biodegradation potential of oily sludge by pure and mixed bacterial cultures. **Bioresource technology**, v. 102, n. 23, p. 11003-11010, 2011.

CETIN, Meltem et al. Higher number of microplastics in tumoral colon tissues from patients with colorectal adenocarcinoma. **Environmental Chemistry Letters**, v. 21, n. 2, p. 639-646, 2023.

CHANDA, Manas. Chemical aspects of polymer recycling. **Advanced Industrial and Engineering Polymer Research**, v. 4, n. 3, p. 133-150, 2021.

CHANDRA, Prem et al. Microplastic degradation by bacteria in aquatic ecosystem. **Microorganisms for sustainable environment and health**, Elsevier, p. 431-467, 2020.

CHAUHAN, H.; AMBECHADA, J. K. Biodegradation of Plastics: The role of biosurfactant-producing bacteria in environmental remediation. **Journal of Advances in Microbiology Research**, v. 6, n. 1, p. 120–127, 1 jan. 2025.

CHEN, Qiang et al. Effects of exposure to waterborne polystyrene microspheres on lipid metabolism in the hepatopancreas of juvenile redclaw crayfish, *Cherax quadricarinatus*. **Aquatic toxicology**, v. 224, p. 105497, 2020a.

CHEN, Shaoqin; HU, Yun Hang. Advancements and future directions in waste plastics recycling: From mechanical methods to innovative chemical processes. **Chemical Engineering Journal**, v. 493, p. 152727, 2024.

CHEN, Yiyang et al. Identification and quantification of microplastics using Fourier-transform infrared spectroscopy: Current status and future prospects. **Current Opinion in Environmental Science & Health**, v. 18, p. 14-19, 2020b.

CHEN, Yongjian et al. Life-history strategies of soil microbial communities in an arid ecosystem. **The ISME Journal**, v. 15, n. 3, p. 649-657, 2021.

CHIELLINI, E.; CORTI, A.; SWIFT, G. Biodegradation of thermally-oxidized, fragmented low-density polyethylenes. **Polymer Degradation and Stability**, v. 81, n. 2, p. 341–351, jan. 2003.

CHOI, Jessica K. et al. Deeply branching *Bacillota* species exhibit atypical Gram-negative staining. **Microbiology spectrum**, v. 12, n. 10, p. e00732-24, 2024.

CLERE, Isabella K. et al. Quantification and characterization of microplastics in commercial fish from southern New Zealand. **Marine pollution bulletin**, v. 184, p. 114121, 2022.

COLE, Matthew et al. The impact of polystyrene microplastics on feeding, function and fecundity in the marine copepod *Calanus helgolandicus*. **Environmental science & technology**, v. 49, n. 2, p. 1130-1137, 2015.

COPPOCK, Rachel L. et al. Microplastics alter feeding selectivity and faecal density in the copepod, *Calanus helgolandicus*. **Science of the Total Environment**, v. 687, p. 780-789, 2019.

CORNELL, John H.; KAPLAN, Arthur M.; ROGERS, Morris R. Biodegradability of photooxidized polyalkylenes. **Journal of Applied Polymer Science**, v. 29, n. 8, p. 2581-2597, 1984.

COX, Kieran D. et al. Human consumption of microplastics. **Environmental science & technology**, v. 53, n. 12, p. 7068-7074, 2019.

CUI, Naqi et al. Effects of microplastics on potato verticillium wilt and microbial community of rhizosphere soil. **Applied Soil Ecology**, v. 203, p. 105651, 2024.

CUNLIFFE, Michael et al. Effect of inoculum pretreatment on survival, activity and catabolic gene expression of *Sphingobium yanoikuyae* B1 in an aged polycyclic aromatic hydrocarbon-contaminated soil. **FEMS microbiology ecology**, v. 58, n. 3, p. 364-372, 2006.

DA LUZ, José Maria Rodrigues et al. Abiotic and biotic degradation of oxo-biodegradable plastic bags by *Pleurotus ostreatus*. **Plos one**, v. 9, n. 11, p. e107438, 2014.

DE MASTRO, Francesco et al. Influence of growing substrate preparation on the

biological efficiency of *Pleurotus ostreatus*. **Horticulturae**, v. 9, n. 4, p. 439, 2023.

DE SOUZA MACHADO, Anderson Abel et al. Microplastics can change soil properties and affect plant performance. **Environmental science & technology**, v. 53, n. 10, p. 6044-6052, 2019.

DI NAPOLI, Michela et al. High density polyethylene (HDPE) biodegradation by the fungus *Cladosporium halotolerans*. **FEMS Microbiology Ecology**, v. 99, n. 2, p. fiac148, 2023.

DIENDER, Martijn; OLM, Ivette Parera; SOUSA, Diana Z. Synthetic co-cultures: novel avenues for bio-based processes. **Current Opinion in Biotechnology**, v. 67, p. 72-79, 2021.

DING, Weili et al. Effect thresholds for the earthworm *Eisenia fetida*: Toxicity comparison between conventional and biodegradable microplastics. **Science of the Total Environment**, v. 781, p. 146884, 2021.

DOMENECH, Josefa et al. Insights into the potential carcinogenicity of micro-and nano-plastics. **Mutation Research-Reviews in Mutation Research**, v. 791, p. 108453, 2023.

DORAN, Michael; CHOI, Phillip. Molecular dynamics studies of the effects of branching characteristics on the crystalline structure of polyethylene. **The Journal of Chemical Physics**, v. 115, n. 6, p. 2827-2830, 2001.

DSOUZA, Glen Cletus et al. Fungal biodegradation of low-density polyethylene using consortium of *Aspergillus* species under controlled conditions. **Heliyon**, v. 7, n. 5, 2021.

DUAN, Jiajun et al. Weathering of microplastics and interaction with other coexisting constituents in terrestrial and aquatic environments. **Water Research**, v. 196, p. 117011, 2021.

FABIENNE PONCIN-EPAILLARD et al. Surface Treatment of Polymeric Materials Controlling the Adhesion of Biomolecules. **Journal of Functional Biomaterials**, v. 3, n. 3, p. 528–543, 7 ago. 2012.

FEI, Yufan et al. Response of soil enzyme activities and bacterial communities to the accumulation of microplastics in an acid cropped soil. **Science of the Total Environment**, v. 707, p. 135634, 2020.

FLEMMING, Hans-Curt et al. Biofilms: an emergent form of bacterial life. **Nature Reviews Microbiology**, v. 14, n. 9, p. 563-575, 2016.

FLOURNOY, D. J. Facilitating identification of lactose-fermenting *enterobacteriaceae* on macconkey agar. **Proceedings of the Oklahoma Academy of Science**, p. 5-8, 1990.

FRIAS, João PGL; NASH, Roisin. Microplastics: Finding a consensus on the

definition. **Marine pollution bulletin**, v. 138, p. 145-147, 2019.

FU, Jiajia et al. Effect of surfactants on enzymatic hydrolysis of PET. **Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects**, v. 702, p. 134945, 2024.

FUKUDA, D. et al. Bacterial DNA topoisomerase IV and DNA gyrase inhibitors: history of the quinolones, their clinical usage and potential alternatives for the future. **Journal of Antimicrobial Chemotherapy**, v. 81, n. 3, 2 fev. 2026.

GARCÍA-DEPRAECT, O. et al. Biodegradation of bioplastics under aerobic and anaerobic aqueous conditions: Kinetics, carbon fate and particle size effect. **Bioresource Technology**, v. 344, p. 126265, jan. 2022.

GARCIA, Marcus A. et al. Quantitation and identification of microplastics accumulation in human placental specimens using pyrolysis gas chromatography mass spectrometry. **Toxicological Sciences**, v. 199, n. 1, p. 81-88, 2024.

GASPAR, Lauren et al. Acute exposure to microplastics induced changes in behavior and inflammation in young and old mice. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 24, n. 15, p. 12308, 2023.

GEYER, Roland; JAMBECK, Jenna R.; LAW, Kara Lavender. Production, use, and fate of all plastics ever made. **Science advances**, v. 3, n. 7, p. e1700782, 2017.

GHATGE, Sunil et al. Biodegradation of polyethylene: a brief review. **Applied Biological Chemistry**, v. 63, n. 1, p. 27, 2020.

GOFSTEIN, Taylor R. et al. The interactive effects of crude oil and Corexit 9500 on their biodegradation in Arctic seawater. **Applied and environmental microbiology**, v. 86, n. 21, p. e01194-20, 2020.

GOGRY, Firdoos Ahmad et al. Current update on intrinsic and acquired colistin resistance mechanisms in bacteria. **Frontiers in medicine**, v. 8, p. 677720, 2021.

GÓMEZ-MÉNDEZ, Luis D. et al. Biodeterioration of plasma pretreated LDPE sheets by *Pleurotus ostreatus*. **PloS one**, v. 13, n. 9, p. e0203786, 2018.

GÓMEZ-VILLEGAS, Patricia et al. Biochemical characterization of the amylase activity from the new *Haloarchaeal* strain *Haloarcula* sp. Hs isolated in the Odiel Marshlands. **Biology**, v. 10, n. 4, p. 337, 2021.

GUO, Xiaoli et al. Discovery and analysis of microplastics in human bone marrow. **Journal of Hazardous Materials**, v. 477, p. 135266, 2024.

GUPTA, Kartikey Kumar; DEVI, Deepa; RANA, Deepanshu. Isolation and screening of low density polyethylene (LDPE) degrading bacterial strains from waste disposal sites. **World Journal of Pharmaceutical Research**, v. 5, n. 11, p. 1633-1643, 2016.

GUPTA, Kartikey Kumar; SHARMA, Kamal Kant; CHANDRA, Harish. Utilization of *Bacillus cereus* strain CGK5 associated with cow feces in the degradation of

commercially available high-density polyethylene (HDPE). **Archives of Microbiology**, v. 205, n. 3, p. 101, 2023.

HADIYANTO, Hadiyanto et al. Biodegradation of oxidized high-density polyethylene and oxo-degradable plastic using microalgae *Dunaliella salina*. **Environmental Pollutants and Bioavailability**, v. 34, n. 1, p. 469-481, 2022.

HA, DTT et al. Isolation of an agricultural soil agarolytic *flavobacterium* sp. at2 and its agarase characterization. **Applied Ecology & Environmental Research**, v. 21, n. 5, 2023.

HAHLADAKIS, John N. et al. An overview of chemical additives present in plastics: Migration, release, fate and environmental impact during their use, disposal and recycling. **Journal of hazardous materials**, v. 344, p. 179-199, 2018.

HAIDER, Tobias et al. Controlling the crystal structure of precisely spaced polyethylene-like polyphosphoesters. **Polymer Chemistry**, v. 11, n. 20, p. 3404-3415, 2020.

HALFAR, Jan et al. Microplastics and additives in patients with preterm birth: The first evidence of their presence in both human amniotic fluid and placenta. **Chemosphere**, v. 343, p. 140301, 2023.

HARTMANN, Gustavo Führ et al. Phytotoxic effects of plastic pollution in crops: what is the size of the problem?. **Environmental Pollution**, v. 292, p. 118420, 2022.

HE, Beibei et al. Abundance, distribution patterns, and identification of microplastics in Brisbane River sediments, Australia. **Science of the total environment**, v. 700, p. 134467, 2020.

HIDALGO-RUZ, Valeria et al. Microplastics in the marine environment: a review of the methods used for identification and quantification. **Environmental science & technology**, v. 46, n. 6, p. 3060-3075, 2012.

HOA, Ha Thi; WANG, Chun-Li. The effects of temperature and nutritional conditions on mycelium growth of two oyster mushrooms (*Pleurotus ostreatus* and *Pleurotus cystidiosus*). **Mycobiology**, v. 43, n. 1, p. 14-23, 2015.

HOCKING, Martin B. Reusable and disposable cups: An energy-based evaluation. **Environmental Management**, v. 18, n. 6, p. 889-899, 1994.

HOODA, Sanjeevani et al. Insights into the degradation of high-density polyethylene microplastics using microbial strains: effect of process parameters, degradation kinetics and modeling. **Waste Management**, v. 164, p. 143-153, 2023.

HORVATITS, Thomas et al. Microplastics detected in cirrhotic liver tissue. **EBioMedicine**, v. 82, 2022.

HOSLER, Dorothy; BURKETT, Sandra L.; TARKANIAN, Michael J. Prehistoric polymers: rubber processing in ancient Mesoamerica. **Science**, v. 284, n. 5422, p.

1988-1991, 1999.

HOUSSINI, Khaoula; LI, Jinhui; TAN, Quanyin. Complexities of the global plastics supply chain revealed in a trade-linked material flow analysis. **Communications Earth & Environment**, v. 6, n. 1, p. 257, 2025.

HUANG, Jan-Chan; SHETTY, Aditya S.; WANG, Ming-Song. Biodegradable plastics: a review. **Advances in polymer technology**, v. 10, n. 1, p. 23-30, 1990.

HUANG, Jun et al. Kneading-dough-inspired quickly dispersing of hydrophobic particles into aqueous solutions for designing functional hydrogels. **Gels**, v. 9, n. 3, p. 242, 2023.

HUANG, Ling et al. Establishment of a salt-induced bioremediation platform from marine *Vibrio natriegens*. **Communications Biology**, v. 5, n. 1, p. 1352, 2022a.

HUANG, Shumin et al. Detection and analysis of microplastics in human sputum. **Environmental science & technology**, v. 56, n. 4, p. 2476-2486, 2022b.

HUANG, Yi et al. Agricultural plastic mulching as a source of microplastics in the terrestrial environment. **Environmental Pollution**, v. 260, p. 114096, 2020.

HUANG, Yi et al. LDPE microplastic films alter microbial community composition and enzymatic activities in soil. **Environmental Pollution**, v. 254, p. 112983, 2019.

HUERTA LWANGA, Esperanza et al. Microplastics in the terrestrial ecosystem: implications for *Lumbricus terrestris* (*Oligochaeta*, *Lumbricidae*). **Environmental science & technology**, v. 50, n. 5, p. 2685-2691, 2016.

HUI, Jin et al. Effects of microplastics pollution on plankton: A review. **Ying Yong Sheng tai xue bao= The Journal of Applied Ecology**, v. 32, n. 7, p. 2633-2643, 2021.

HUSSAIN, Mohammed Althaf et al. Coarse-grained simulations on polyethylene crystal network formation and microstructure analysis. **Polymers**, v. 16, n. 7, p. 1007, 2024.

HUSSAIN, Mohammed Althaf et al. Lamellar Orientation Analysis and Mechanical Properties of Polyethylene in Stretch-Induced Crystallization. **Polymers**, v. 17, n. 11, p. 1450, 2025.

IVANOV, Ivan G.; HARTMANN, Dieter. Two green bottles, standing on a wall: an environmental assessment of two bottle types. **South African Journal of Industrial Engineering**, v. 27, n. 3, p. 303-314, 2016.

JAAFARZADEH, Neamatollah; TALEPOUR, Nastaran. Microplastics as carriers of antibiotic resistance genes and pathogens in municipal solid waste (MSW) landfill leachate and soil: a review. **Journal of Environmental Health Science and Engineering**, v. 22, n. 1, p. 1-12, 2024.

JAHNKE, Annika et al. Reducing uncertainty and confronting ignorance about the possible impacts of weathering plastic in the marine environment. **Environmental Science & Technology Letters**, v. 4, n. 3, p. 85-90, 2017.

JENNER, Lauren C. et al. Detection of microplastics in human lung tissue using μ FTIR spectroscopy. **Science of the Total Environment**, v. 831, p. 154907, 2022.

JEON, H. J.; KIM, M. N. Functional analysis of alkane hydroxylase system derived from *Pseudomonas aeruginosa* E7 for low molecular weight polyethylene biodegradation. **International Biodeterioration & Biodegradation**, v. 103, p. 141–146, set. 2015.

JEON, J.-M. et al. Biodegradation of polyethylene and polypropylene by *Lysinibacillus* species JJY0216 isolated from soil grove. **Polymer Degradation and Stability**, v. 191, p. 109662, set. 2021.

JIAN, Jiao; XIANGBIN, Zeng; XIANBO, Huang. An overview on synthesis, properties and applications of poly (butylene-adipate-co-terephthalate)–PBAT. **Advanced Industrial and Engineering Polymer Research**, v. 3, n. 1, p. 19-26, 2020.

JIANG, Xiaoli; BATEER, Buhe. A systematic review of plastic recycling: technology, environmental impact and economic evaluation. **Waste Management & Research**, p. 0734242X241310658, 2025.

JOHANSEN, Mathew P. et al. Biofilm-enhanced adsorption of strong and weak cations onto different microplastic sample types: Use of spectroscopy, microscopy and radiotracer methods. **Water research**, v. 158, p. 392-400, 2019.

JONES, J. Andrew; WANG, Xin. Use of bacterial co-cultures for the efficient production of chemicals. **Current opinion in biotechnology**, v. 53, p. 33-38, 2018.

KABIR, M. S. et al. Microplastics in landfill leachate: Sources, detection, occurrence, and removal. **Environmental Science and Ecotechnology**, v. 16, p. 100256, fev. 2023.

KALINEN, S. et al. Nalidixic acid—a good marker of fluoroquinolone resistance mechanisms in *Escherichia coli*. **Microbiology Spectrum**, v. 13, n. 7, jul. 2025.

KANG, Bo Ram et al. Accelerating the biodegradation of high-density polyethylene (HDPE) using *Bjerkandera adusta* TBB-03 and lignocellulose substrates. **Microorganisms**, v. 7, n. 9, p. 304, 2019.

KATSUMI, Naoya et al. Accumulation of microcapsules derived from coated fertilizer in paddy fields. **Chemosphere**, v. 267, p. 129185, 2021.

KAWAI, F. et al. Comparative study on biodegradability of polyethylene wax by bacteria and fungi. **Polymer Degradation and Stability**, v. 86, n. 1, p. 105–114, out. 2004.

KAMAL, M. R.; HUANG, B. Natural and artificial weathering of polymers. In: HAMID, S. H.; AMI, M. B.; MAADHAN, A. G. (Eds.). **Handbook of Polymer Degradation**. New York: Marcel Dekker, 1992. p. 127–168.

KHAMPRATUENG, Pornya; ANAL, Anil Kumar. Enhancing the biodegradation of low-density polyethylene (LDPE) using novel bacterial consortia: *Bacillus* sp. AS3 and *Sphingobacterium* sp. AS8. **Journal of Environmental Sciences**, 2025.

KIJO-KLECZKOWSKA, Agnieszka; GNATOWSKI, Adam. Recycling of plastic waste, with particular emphasis on thermal methods. **Energies**, v. 15, n. 6, p. 2114, 2022.

KIM, Sung Hyun et al. Plastic-inhabiting fungi in marine environments and PCL degradation activity. **Antonie Van Leeuwenhoek**, v. 115, n. 12, p. 1379-1392, 2022.

KOLESOV, Igor et al. Changes of crystal structure and morphology during two-way shape-memory cycles in cross-linked linear and short-chain branched polyethylenes. **Macromolecules**, v. 48, n. 13, p. 4438-4450, 2015.

KOUTNY, Marek et al. Acquired biodegradability of polyethylenes containing pro-oxidant additives. **Polymer degradation and stability**, v. 91, n. 7, p. 1495-1503, 2006.

KRUPP, Larry R.; JEWELL, William J. Biodegradability of modified plastic films in controlled biological environments. **Environmental science & technology**, v. 26, n. 1, p. 193-198, 1992.

KUMAGAI, Shogo et al. Latest trends and challenges in feedstock recycling of polyolefinic plastics. **Journal of the Japan Petroleum Institute**, v. 63, n. 6, p. 345-364, 2020.

KUMAR, Raghawendra et al. Landfill microbiome harbour plastic degrading genes: A metagenomic study of solid waste dumping site of Gujarat, India. **Science of The Total Environment**, v. 779, p. 146184, 2021.

LAHIVE, Elma et al. Microplastic particles reduce reproduction in the terrestrial worm *Enchytraeus crypticus* in a soil exposure. **Environmental Pollution**, v. 255, p. 113174, 2019.

LAVANYA, Mulky. Rhamnolipids: an insight to the overall characteristics of these extraordinary biomolecules. **Green Chemistry Letters and Reviews**, v. 17, n. 1, p. 2371012, 2024.

LEE, Ga Hyun et al. Biotechnological plastic degradation and valorization using systems metabolic engineering. **International journal of molecular sciences**, v. 24, n. 20, p. 15181, 2023.

LEE, Seung-Yeol et al. Biodegradative activities of fungal strains isolated from terrestrial environments in Korea. **Mycobiology**, v. 49, n. 3, p. 285-293, 2021.

LESLIE, Heather A. et al. Discovery and quantification of plastic particle pollution in

human blood. **Environment international**, v. 163, p. 107199, 2022.

LIANG, Yu-Feng et al. Carbon–carbon bond cleavage for late-stage functionalization. **Chemical Reviews**, v. 123, n. 22, p. 12313-12370, 2023.

LI, Fangfang et al. Biodegradation of di-(2-ethylhexyl) phthalate by a halotolerant consortium LF. **PLoS One**, v. 13, n. 10, p. e0204324, 2018.

LI, Houqian et al. Expanding plastics recycling technologies: chemical aspects, technology status and challenges. **Green Chemistry**, v. 24, n. 23, p. 8899-9002, 2022.

LI, Shan et al. Synergistic biodegradation of polyethylene by experimentally evolved bacterial biofilms. **The ISME Journal**, v. 19, n. 1, p. wraf223, 2025.

LI, Shuangxi et al. Influence of polystyrene microplastics on the growth, photosynthetic efficiency and aggregation of freshwater microalgae *Chlamydomonas reinhardtii*. **Science of the Total Environment**, v. 714, p. 136767, 2020.

LI, Yang et al. Interactions between nano/micro plastics and suspended sediment in water: Implications on aggregation and settling. **Water research**, v. 161, p. 486-495, 2019.

LI, Yue et al. Potential health impact of microplastics: a review of environmental distribution, human exposure, and toxic effects. **Environment & Health**, v. 1, n. 4, p. 249-257, 2023.

LIN, Dunmei et al. Microplastics negatively affect soil fauna but stimulate microbial activity: insights from a field-based microplastic addition experiment. **Proceedings of the Royal Society B**, v. 287, n. 1934, p. 20201268, 2020.

LINDAHL, Viggo; BAKKEN, Lars R. Evaluation of methods for extraction of bacteria from soil. **FEMS Microbiology Ecology**, v. 16, n. 2, p. 135-142, 1995.

LITHNER, Delilah; LARSSON, Åke; DAVE, Göran. Environmental and health hazard ranking and assessment of plastic polymers based on chemical composition. **Science of the total environment**, v. 409, n. 18, p. 3309-3324, 2011.

LIU, Peng et al. Effect of weathering on environmental behavior of microplastics: Properties, sorption and potential risks. **Chemosphere**, v. 242, p. 125193, 2020.

LIU, Qingrun et al. Microplastics and nanoplastics: emerging contaminants in food. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 69, n. 36, p. 10450-10468, 2021.

LIU, Si et al. Microplastics as a vehicle of heavy metals in aquatic environments: A review of adsorption factors, mechanisms, and biological effects. **Journal of Environmental Management**, v. 302, p. 113995, 2022a.

LIU, Y. et al. Insights into polyolefin oligomer stress regulation of microbial communities and degradation mechanisms of polyethylene. **Journal of**

Environmental Management, v. 395, p. 127969, dez. 2025.

LIU, Zhiqiang et al. Polystyrene microplastics induced female reproductive toxicity in mice. **Journal of hazardous materials**, v. 424, p. 127629, 2022b.

LOMWONGSOPON, Passanun; VARRONE, Cristiano. Critical review on the progress of plastic bioupcycling technology as a potential solution for sustainable plastic waste management. **Polymers**, v. 14, n. 22, p. 4996, 2022.

LUCAS, N. et al. Polymer biodegradation: Mechanisms and estimation techniques – A review. **Chemosphere**, v. 73, n. 4, p. 429–442, set. 2008.

LUCKHAM, Paul F.; UKEJE, Michael A. Effect of particle size distribution on the rheology of dispersed systems. **Journal of colloid and interface science**, v. 220, n. 2, p. 347-356, 1999.

LUO, Hongwei et al. Environmental behaviors of microplastics in aquatic systems: A systematic review on degradation, adsorption, toxicity and biofilm under aging conditions. **Journal of Hazardous Materials**, v. 423, p. 126915, 2022.

LUO, Hongwei et al. Weathering alters surface characteristic of TiO₂-pigmented microplastics and particle size distribution of TiO₂ released into water. **Science of The Total Environment**, v. 729, p. 139083, 2020.

MA, Zhao et al. Rhamnolipid influences biosorption and biodegradation of phenanthrene by phenanthrene-degrading strain *Pseudomonas* sp. Ph6. **Environmental Pollution**, v. 240, p. 359-367, 2018.

MADIGAN, M. T. et al. **Microbiologia de Brock - 14ª Edição**. [s.l.] Artmed Editora, 2016.

MARTÍNEZ, Karla I. et al. Evaluation by IR spectroscopy of the degradation of different types of commercial polyethylene exposed to UV radiation and domestic compost in ambient conditions. **Journal of Applied Polymer Science**, v. 138, n. 14, p. 50158, 2021.

MARTINEZ-DELGADO, Juliana; BENÍTEZ-CAMPO, Neyla. High density polyethylene microplastics biodegradation by bacteria isolated from a landfill in Cali, Colombia. **Revista internacional de contaminación ambiental**, v. 40, 2024.

MASEKO, Kayise Hypercia et al. Effect of Culture Media on the Yield and Protein Content of *Pleurotus ostreatus* (Jacq.) Kumm Mycelia. **International Journal of Food Science**, v. 2024, n. 1, p. 5562732, 2024.

MATERIĆ, Dušan; HOLZINGER, Rupert; NIEMANN, Helge. Nanoplastics and ultrafine microplastic in the Dutch Wadden Sea–The hidden plastics debris?. **Science of the Total Environment**, v. 846, p. 157371, 2022.

MCDONOUGH, Kathleen et al. Multi-laboratory evaluation of the reproducibility of polymer biodegradation assessments applying standardized and modified

respirometry methods. **Science of the Total Environment**, v. 901, p. 166339, 2023.

MEGILL, Cara et al. Plastic additives in the ocean: Use of a comprehensive dataset for meta-analysis and method development. **Chemosphere**, v. 358, p. 142172, 2024.

MELANOURI, Eirini-Maria; DEDOUSI, Marianna; DIAMANTOPOULOU, Panagiota. Cultivating *Pleurotus ostreatus* and *Pleurotus eryngii* mushroom strains on agro-industrial residues in solid-state fermentation. Part I: Screening for growth, endoglucanase, laccase and biomass production in the colonization phase. **Carbon Resources Conversion**, v. 5, n. 1, p. 61-70, 2022.

MENG, Fanran; BRANDÃO, Miguel; CULLEN, Jonathan M. Replacing plastics with alternatives is worse for greenhouse gas emissions in most cases. **Environmental Science & Technology**, v. 58, n. 6, p. 2716-2727, 2024.

MENG, Xuemei et al. Effects of nano-and microplastics on kidney: Physicochemical properties, bioaccumulation, oxidative stress and immunoreaction. **Chemosphere**, v. 288, p. 132631, 2022.

MENZIES, Jennifer et al. Water soluble polymer biodegradation evaluation using standard and experimental methods. **Science of the Total Environment**, v. 858, p. 160006, 2023.

MIAO, Lingzhan et al. Distinct community structure and microbial functions of biofilms colonizing microplastics. **Science of the Total Environment**, v. 650, p. 2395-2402, 2019.

MIRANDA, Evaristo de. Potência agrícola e ambiental: áreas cultivadas no Brasil e no mundo. **Agroanalysis**, p. 26-27, 2018.

MIRANDA-URBINA, Diego; THIEL, Martin; LUNA-JORQUERA, Guillermo. Litter and seabirds found across a longitudinal gradient in the South Pacific Ocean. **Marine Pollution Bulletin**, v. 96, n. 1-2, p. 235-244, 2015.

MITRANO, Denise M.; WICK, Peter; NOWACK, Bernd. Placing nanoplastics in the context of global plastic pollution. **Nature Nanotechnology**, v. 16, n. 5, p. 491-500, 2021.

MOCHIZUKI, Masatsugu et al. Studies on biodegradable poly (hexano-6-lactone) fibers. Part 2: Environmental degradation. **Pure and Applied Chemistry**, v. 71, n. 11, p. 2177-2188, 1999.

MOHAJAN, Haradhan Kumar. Plastic Pollution: A Potential Threat on Health and Environment. **Studies in Social Science & Humanities**, v. 4, n. 2, p. 25-30, 2025.

MOHARIR, Rucha V.; KUMAR, Sunil. Challenges associated with plastic waste disposal and allied microbial routes for its effective degradation: A comprehensive review. **Journal of Cleaner Production**, v. 208, p. 65-76, 2019.

MOK, Zi Xin. **Evaluation of High-Density Polyethylene and Low-Density**

Polyethylene (Plastic) Degradation by Isolated Bacteria. 2019. Tese (Doutorado), Tunku Abdul Rahman University College, 2019.

MONTANO, Luigi et al. Raman Microspectroscopy evidence of microplastics in human semen. **Science of the Total Environment**, v. 901, p. 165922, 2023.

MONTAZER, Zahra; HABIBI NAJAFI, Mohammad B.; LEVIN, David B. Challenges with verifying microbial degradation of polyethylene. **Polymers**, v. 12, n. 1, p. 123, 2020.

MORENO-BAYONA, Diana A. et al. Simultaneous bioconversion of lignocellulosic residues and oxodegradable polyethylene by *Pleurotus ostreatus* for biochar production, enriched with phosphate solubilizing bacteria for agricultural use. **PLoS One**, v. 14, n. 5, p. e0217100, 2019.

MUKRED, Abdualdaim Mohammed et al. Development of three bacteria consortium for the bioremediation of crude petroleum-oil in contaminated water. **Online J. Biol. Sci**, v. 8, n. 4, p. 73-79, 2008.

NA NAN, Sakdinon; LUCKANAGUL, Jittima Amie; PANAPISAL, Vipaporn Rakkanka. The Impact of Surfactant Structures and High-Speed Mixing Dynamics in Achieving Nano-Sized Emulsions with Simple High-Speed Homogenization. **Nanotechnology, Science and Applications**, p. 273-288, 2024.

NAYLOR, Dan et al. Interactive effects of depth and differential irrigation on soil microbiome composition and functioning. **Frontiers in Microbiomes**, v. 2, p. 1078024, 2023.

NAYLOR, Dan; MCCLURE, Ryan; JANSSON, Janet. Trends in microbial community composition and function by soil depth. **Microorganisms**, v. 10, n. 3, p. 540, 2022.

NEWRICK, Bess A. et al. Enhanced biodegradation of high-density polyethylene microplastics: Study of bacterial efficiency and process parameters. **Journal of Hazardous Materials**, v. 485, p. 136822, 2025.

NIKAIDO, Hiroshi. Multidrug efflux pumps of gram-negative bacteria. **Journal of bacteriology**, v. 178, n. 20, p. 5853-5859, 1996.

NIZZETTO, Luca; FUTTER, Martyn; LANGAAS, Sindre. Are agricultural soils dumps for microplastics of urban origin?. **Environmental Science and Technology**, v. 50, p. 10777–10779, 2016.

OLIVEIRA, Camila Wanderley L. et al. First evidence of microplastic accumulation in placentas and umbilical cords from pregnancies in Brazil. **Anais da Academia Brasileira de Ciências**, v. 97, n. Supl 3, p. e20241298, 2025.

OTHMAN, Nor Zalina et al. Effects of carbon source and additives on biomass, exopolysaccharide production and morphology of *Pleurotus ostreatus* in submerged cultivation. **Malaysian Journal for Microbiology**, v. 15, n. 5, p. 358-365, 2019.

OTINIANO, Nélida Milly et al. Effect of inoculum concentration on the degradation of diesel 2 by a microbial consortium. **Sustainability**, v. 14, n. 24, p. 16750, 2022.

PARASHAR, Shomini; KUMAR, Narendra. Studies on agarolytic bacterial isolates from agricultural and industrial soil. **Iranian Journal of Microbiology**, v. 10, n. 5, p. 324, 2018.

PATIL, Sonika Sandip; PATIL, Monika Sandip; PATHADE, G. R. Isolation of High Density Polyethelene Degradating Bacteria from Soil. **Eco. Env. & Cons.**, v. 30, n. February Suppl. Issue, p. S369-S372, 2024.

PATTI, Toby B. et al. Spatial distribution of microplastics around an inhabited coral island in the Maldives, Indian Ocean. **Science of the Total Environment**, v. 748, p. 141263, 2020.

PAXTON, Naomi C. et al. Biomedical applications of polyethylene. **European Polymer Journal**, v. 118, p. 412-428, 2019.

PHAM, Thuy-Hanh et al. Global challenges in microplastics: from fundamental understanding to advanced degradations toward sustainable strategies. **Chemosphere**, v. 267, p. 129275, 2021.

PIRES, C. S. et al. Microplastics Biodegradation by Estuarine and Landfill Microbiomes. **Microbial Ecology**, v. 87, n. 1, 28 jun. 2024.

PINTO, Maria et al. The composition of bacterial communities associated with plastic biofilms differs between different polymers and stages of biofilm succession. **PloS one**, v. 14, n. 6, p. e0217165, 2019.

PLASTICS THE FAST FACTS 2025 - **Plastics Europe**. Disponível em: <<https://plasticseurope.org/knowledge-hub/plastics-the-fast-facts-2025/>>.

QI, Yueling et al. Effects of plastic mulch film residues on wheat rhizosphere and soil properties. **Journal of Hazardous Materials**, v. 387, p. 121711, 2020.

RAGAERT, Kim; DELVA, Laurens; VAN GEEM, Kevin. Mechanical and chemical recycling of solid plastic waste. **Waste management**, v. 69, p. 24-58, 2017.

RAGUSA, Antonio et al. Raman microspectroscopy detection and characterisation of microplastics in human breastmilk. **Polymers**, v. 14, n. 13, p. 2700, 2022.

RAHMAN, Luna et al. Microplastics and nanoplastics science: collecting and characterizing airborne microplastics in fine particulate matter. **Nanotoxicology**, v. 15, n. 9, p. 1253-1278, 2021.

RAMAREMISA, Gibbon; NDLOVU, Michelle; SAAD, Dalia. Comparative assessment of microplastics in surface waters and sediments of the Vaal River, South Africa: abundance, composition, and sources. **Environmental Toxicology and Chemistry**, v. 41, n. 12, p. 3029-3040, 2022.

RATUCHNE, Aline et al. *Pleurotus ostreatus* and a novel fungal composite: Development and bioremediation of plastic wastes. **Resources, Conservation & Recycling Advances**, v. 19, p. 200167, 2023.

REN, Xinwei et al. Effects of microplastics on greenhouse gas emissions and the microbial community in fertilized soil. **Environmental Pollution**, v. 256, p. 113347, 2020.

RONG, Zhen et al. Degradation of low-density polyethylene by the bacterium *Rhodococcus* sp. C-2 isolated from seawater. **Science of The Total Environment**, v. 907, p. 167993, 2024.

R WINSTON REVIE; HERBERT HENRY UHLIG. **Uhlig's corrosion handbook**. Hoboken, N.J.: Wiley, 2011.

SAAD, Dalia et al. Microplastic abundance and sources in surface water samples of the Vaal River, South Africa. **Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology**, v. 112, n. 1, p. 23, 2024.

SANGALE, M. K. A Review on Biodegradation of Polythene: The Microbial Approach. **Journal of Bioremediation and Biodegradation**, v. 03, n. 10, 2012.

SAKAI, Masao et al. The growth of *Steroidobacter agariperforans* sp. nov., a novel agar-degrading bacterium isolated from soil, is enhanced by the diffusible metabolites produced by bacteria belonging to *Rhizobiales*. **Microbes and environments**, v. 29, n. 1, p. 89-95, 2014.

SARKER, Ranojit Kumar et al. Degradation of low-density polyethylene (LDPE) by *Enterobacter cloacae* AKS7: a potential step towards sustainable environmental remediation. **Archives of Microbiology**, v. 202, n. 8, p. 2117-2125, 2020.

SATHIYABAMA, M. et al. Mycodegradation of low-density polyethylene by *Cladosporium sphaerospermum*, isolated from platisphere. **Scientific Reports**, v. 14, n. 1, p. 8351, 2024.

SCHYNS, Zoé OG; SHAVER, Michael P. Mechanical recycling of packaging plastics: a review. **Macromolecular rapid communications**, v. 42, n. 3, p. 2000415, 2021.

SEEWOO, Bhedita J. et al. How do plastics, including microplastics and plastic-associated chemicals, affect human health?. **Nature Medicine**, v. 30, n. 11, p. 3036-3037, 2024.

SHOEMAKER, William R. et al. Microbial population dynamics and evolutionary outcomes under extreme energy limitation. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 118, n. 33, p. e2101691118, 2021.

SINISTERRA-SIERRA, María Camila et al. Microbial diversity and enzymatic potential for plastic degradation in contaminated dumpsites in Mazamitla, Jalisco. **Environmental Research**, p. 122170, 2025.

SKARIYACHAN, Sinosh et al. Enhanced polymer degradation of polyethylene and polypropylene by novel thermophilic consortia of *Brevibacillus* sps. and *Aneurinibacillus* sp. screened from waste management landfills and sewage treatment plants. **Polymer Degradation and Stability**, v. 149, p. 52-68, 2018.

SKARIYACHAN, Sinosh et al. Novel bacterial consortia isolated from plastic garbage processing areas demonstrated enhanced degradation for low density polyethylene. **Environmental Science and Pollution Research**, v. 23, n. 18, p. 18307-18319, 2016.

SOORIYAKUMAR, Prasanthi et al. Biofilm formation and its implications on the properties and fate of microplastics in aquatic environments: a review. **Journal of Hazardous Materials Advances**, v. 6, p. 100077, 2022.

SRIDHARAN, Srinidhi et al. Microplastics as an emerging source of particulate air pollution: A critical review. **Journal of Hazardous Materials**, v. 418, p. 126245, 2021.

SUN, Hanxiang et al. Microplastics in maternal blood, fetal appendages, and umbilical vein blood. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 287, p. 117300, 2024a.

SUN, Jiao et al. Metagenomic analysis reveals gene taxonomic and functional diversity response to microplastics and cadmium in an agricultural soil. **Environmental Research**, v. 251, p. 118673, 2024.

SUN, Yue et al. Effect of microplastics on greenhouse gas and ammonia emissions during aerobic composting. **Science of the Total Environment**, v. 737, p. 139856, 2020.

TAO, Xuanyu et al. Polyethylene degradation by a *Rhodococcus* strain isolated from naturally weathered plastic waste enrichment. **Environmental Science & Technology**, v. 57, n. 37, p. 13901-13911, 2023.

TAREEN, Aatikah et al. Biodeterioration of microplastics: A promising step towards plastics waste management. **Polymers**, v. 14, n. 11, p. 2275, 2022.

TER HALLE, Alexandra et al. Understanding the fragmentation pattern of marine plastic debris. **Environmental science & technology**, v. 50, n. 11, p. 5668-5675, 2016.

TEMPORITI, M. E. E. et al. Fungal Enzymes Involved in Plastics Biodegradation. **Microorganisms**, v. 10, n. 6, p. 1180, 8 jun. 2022.

THIYAGARAJAN, Shanmugam et al. Back-to-monomer recycling of polycondensation polymers: opportunities for chemicals and enzymes. **RSC advances**, v. 12, n. 2, p. 947-970, 2022.

THOUAND, Gerald et al. Bacterial inoculum density and probability of para-nitrophenol biodegradability test response. **Ecotoxicology and Environmental**

Safety, v. 30, n. 3, p. 274-282, 1995.

THOUAND, Gérald et al. New concepts in the evaluation of biodegradation/persistence of chemical substances using a microbial inoculum. **Frontiers in microbiology**, v. 2, p. 164, 2011.

TRIBEDI, Prosun; SIL, Alok K. Low-density polyethylene degradation by *Pseudomonas* sp. AKS2 biofilm. **Environmental Science and Pollution Research**, v. 20, n. 6, p. 4146-4153, 2013.

TURNER, Andrew; FILELLA, Montserrat. Hazardous metal additives in plastics and their environmental impacts. **Environment International**, v. 156, p. 106622, 2021.

URBELIENÉ, Nina et al. A screening method for polyester films-degrading microorganisms and enzymes. **Journal of Hazardous Materials**, v. 487, p. 137177, 2025.

VAN DEN BERG, Pim et al. Sewage sludge application as a vehicle for microplastics in eastern Spanish agricultural soils. **Environmental Pollution**, v. 261, p. 114198, 2020.

VERLA, Andrew Wirnkor et al. Microplastic–toxic chemical interaction: a review study on quantified levels, mechanism and implication. **SN Applied Sciences**, v. 1, n. 11, p. 1-30, 2019.

VESELY, Drahosh; CASTRO-DIAZ, Lucia. Diffusion controlled oxidative degradation of un-stabilised polyethylene. **Univers. J. Mater. Sci**, v. 4, p. 1-7, 2016.

VIANELLO, Alvise et al. Simulating human exposure to indoor airborne microplastics using a Breathing Thermal Manikin. **Scientific reports**, v. 9, n. 1, p. 8670, 2019.

VOZNIAK, Alina; BARTCZAK, Zbigniew. Plastic deformation of high density polyethylene with extended-chain crystal morphology. **Polymers**, v. 15, n. 1, p. 66, 2022.

VROOM, Renske JE et al. Aging of microplastics promotes their ingestion by marine zooplankton. **Environmental pollution**, v. 231, p. 987-996, 2017.

WADE, Miranda J. et al. Microplastic exposure is associated with epigenomic effects in the model organism *Pimephales promelas* (fathead minnow). **Journal of Heredity**, v. 116, n. 2, p. 113-125, 2025.

WANG, Chao et al. Photo-aging of polyvinyl chloride microplastic in the presence of natural organic acids. **Water Research**, v. 183, p. 116082, 2020.

WANG, Hongzhe et al. Biofilm formation promoted biodegradation of polyethylene in *Gordonia polyisoprenivorans* B251 isolated from bacterial enrichment acclimated by hexadecane for two years. **Chemosphere**, v. 344, p. 140383, 2023.

WANG, Jing; XU, Hongke; GUO, Shaohui. Isolation and characteristics of a microbial

consortium for effectively degrading phenanthrene. **Petroleum Science**, v. 4, n. 3, p. 68-75, 2007.

WANG, Liuwei et al. Modeling the conditional fragmentation-induced microplastic distribution. **Environmental Science & Technology**, v. 55, n. 9, p. 6012-6021, 2021.

WANG, Xiayu et al. Community characteristics of autotrophic CO₂-fixing bacteria in karst wetland groundwaters with different nitrogen levels. **Frontiers in Microbiology**, v. 13, p. 949208, 2022.

WANG, Y. et al. Growth of marine fungi on polymeric substrates. **BMC Biotechnology**, v. 16, n. 1, 16 jan. 2016.

WANG, Zhaoxuan et al. Unraveling synergistic cascade inhibition of methane production in anaerobic digestion system by polyethylene microplastics and domestic sewage: Physical adsorption, metabolic disruption, and microbial community decoupling. **Journal of Hazardous Materials**, p. 139865, 2025.

WATTEAU, Francoise et al. Microplastic detection in soil amended with municipal solid waste composts as revealed by transmission electronic microscopy and pyrolysis/GC/MS. **Frontiers in Sustainable Food Systems**, v. 2, p. 81, 2018.

WEI, Ren; ZIMMERMANN, Wolfgang. Microbial enzymes for the recycling of recalcitrant petroleum-based plastics: how far are we?. **Microbial biotechnology**, v. 10, n. 6, p. 1308-1322, 2017.

WEINGRILL, Rodrigo Barbano et al. Temporal trends in microplastic accumulation in placentas from pregnancies in Hawai'i. **Environment international**, v. 180, p. 108220, 2023.

WILKES, R. A.; ARISTILDE, L. Degradation and metabolism of synthetic plastics and associated products by *Pseudomonas* sp.: capabilities and challenges. **Journal of Applied Microbiology**, v. 123, n. 3, p. 582–593, 31 maio 2017.

WONG, Johnny Kee Hong et al. Microplastics in the freshwater and terrestrial environments: Prevalence, fates, impacts and sustainable solutions. **Science of the total environment**, v. 719, p. 137512, 2020.

WRIGHT, Stephanie L.; THOMPSON, Richard C.; GALLOWAY, Tamara S. The physical impacts of microplastics on marine organisms: a review. **Environmental pollution**, v. 178, p. 483-492, 2013.

WU, Chenhao et al. Enzyme expression kinetics by *Escherichia coli* during transition from rich to minimal media depends on proteome reserves. **Nature Microbiology**, v. 8, n. 2, p. 347-359, 2023.

WU, Shishan; CHEN, Zhengnian; XU, Xi. Study on structure and properties of HDPE functionalized by ultraviolet irradiation in air and O₂ atmosphere. **Materials Letters**, v. 57, n. 22-23, p. 3495-3499, 2003.

WU, Xiaoqin et al. Culturing of “unculturable” subsurface microbes: natural organic carbon source fuels the growth of diverse and distinct bacteria from groundwater. **Frontiers in microbiology**, v. 11, p. 610001, 2020.

XU, Shen et al. Microplastics in aquatic environments: occurrence, accumulation, and biological effects. **Science of the total environment**, v. 703, p. 134699, 2020.

YAN, Yan et al. Revisiting the dilution procedure used to manipulate microbial biodiversity in terrestrial systems. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 81, n. 13, p. 4246-4252, 2015.

YANG, Shulin et al. Effect of additive and coagulation bath temperature on structure and properties of HDPE membranes via thermally induced phase separation. **Journal of Materials Science**, v. 57, n. 7, p. 4834-4849, 2022.

YANG, Xian-Guang et al. Plastic biodegradation by in vitro environmental microorganisms and in vivo gut microorganisms of insects. **Frontiers in Microbiology**, v. 13, p. 1001750, 2023.

YANG, Zhan et al. Is incineration the terminator of plastics and microplastics?. **Journal of Hazardous Materials**, v. 401, p. 123429, 2021.

YAO, Xuerong et al. CRYSTAF, DSC and SAXS Study of the Co-Crystallization, Phase Separation and Lamellar Packing of the Blends with Different Polyethylenes. **Polymers**, v. 15, n. 8, p. 1940, 2023.

YEN, Chun-Wan et al. Impact of surfactant selection and incorporation on in situ nanoparticle formation from amorphous solid dispersions. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 607, p. 120980, 2021.

YI, Meiling et al. The effects of three different microplastics on enzyme activities and microbial communities in soil. **Water Environment Research**, v. 93, n. 1, p. 24-32, 2021.

YI, SangKu et al. Rapid Screening of Plastic-Degrading Enzymes Using an Optimized Cell-Free Protein Synthesis Platform. **Journal of Microbiology and Biotechnology**, v. 35, p. e2503044, 2025.

YUN, E. J.; YU, S.; KIM, K. H. Current knowledge on agarolytic enzymes and the industrial potential of agar-derived sugars. **Applied Microbiology and Biotechnology**, v. 101, n. 14, p. 5581–5589, 27 jun. 2017.

ZADJELOVIC, V. et al. A mechanistic understanding of polyethylene biodegradation by the marine bacterium *Alcanivorax*. **Journal of Hazardous Materials**, v. 436, p. 129278, ago. 2022.

ZANG, Huadong et al. Microplastics in the agroecosystem: are they an emerging threat to the plant-soil system?. **Soil Biology and Biochemistry**, v. 148, p. 107926,

2020.

ZHAN, Mingye et al. Spatio-temporal distribution of soil microbial communities and nutrient availability around a municipal solid waste landfill. **Frontiers in Microbiology**, v. 16, p. 1583149, 2025.

ZHANG, Chengli et al. Sorption of organochlorine pesticides on polyethylene microplastics in soil suspension. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 223, p. 112591, 2021b.

ZHANG, Cong et al. Convenient agarose preparation with hydrogen peroxide and desulfation process analysis. **Marine drugs**, v. 19, n. 6, p. 297, 2021c.

ZHANG, Dong; ZHU, Lizhong. Effects of Tween 80 on the removal, sorption and biodegradation of pyrene by *Klebsiella oxytoca* PYR-1. **Environmental Pollution**, v. 164, p. 169-174, 2012.

ZHANG, Hong et al. Degradation of High-Density Polyethylene (HDPE) Film by Bacterial Consortium. **JOM**, v. 75, n. 12, p. 5350-5360, 2023.

ZHANG, Kai et al. Understanding plastic degradation and microplastic formation in the environment: A review. **Environmental Pollution**, v. 274, p. 116554, 2021a.

ZHANG, Meng et al. Impact mechanisms of various surfactants on the biodegradation of phenanthrene in soil: Bioavailability and microbial community responses. **Science of The Total Environment**, v. 950, p. 175225, 2024.

ZHANG, Peng et al. Aged microplastics change the toxicological mechanism of roxithromycin on *Carassius auratus*: size-dependent interaction and potential long-term effects. **Environment International**, v. 169, p. 107540, 2022a.

ZHANG, Qun et al. A review of microplastics in table salt, drinking water, and air: direct human exposure. **Environmental science & technology**, v. 54, n. 7, p. 3740-3751, 2020.

ZHANG, Yan et al. Biodegradation of polyethylene and polystyrene: From microbial deterioration to enzyme discovery. **Biotechnology Advances**, v. 60, p. 107991, 2022b.

ZHAO, Qiancheng et al. Detection and characterization of microplastics in the human testis and semen. **Science of The Total Environment**, v. 877, p. 162713, 2023b.

ZHAO, Yanhui et al. Size-dependent promotion of micro (nano) plastics on the horizontal gene transfer of antibiotic resistance genes in constructed wetlands. **Water Research**, v. 244, p. 120520, 2023a.

ZHONG, Xiuhua et al. Polyethylene plastic production process. **Materials Science: Materials Review**, v. 1, n. 1, 2017.

ZHOU, Lianyu et al. Differential diversity and structure of autotrophs in agricultural

soils of Qinghai Province. **Microbiology Spectrum**, v. 13, n. 2, p. e02693-24, 2025.

ZHOU, W. P. et al. Interactive effects of temperature and moisture on composition of the soil microbial community. **European Journal of Soil Science**, v. 68, n. 6, p. 909-918, 2017.

ZUMSTEIN, Michael Thomas et al. Biodegradation of synthetic polymers in soils: Tracking carbon into CO₂ and microbial biomass. **Science advances**, v. 4, n. 7, p. eaas9024, 2018.

ZURI, Giuseppina; KARANASIOU, Angeliki; LACORTE, Sílvia. Microplastics: Human exposure assessment through air, water, and food. **Environment international**, v. 179, p. 108150, 2023.

ZURUB, Rewa E. et al. Particulate contamination of human placenta: Plastic and non-plastic. **Environmental Advances**, v. 17, p. 100555, 2024.