

# ANÁLISE DO POTENCIAL DE FUNGOS ISOLADOS EM DIFERENTES ÁREAS DO DF, PARA USO NA BIORREMEDIAÇÃO DE GLIFOSATO E 2,4-D

Professor orientador: Claudio Henrique Cerri E Silva

Alunas: Anita Farago Acosta Cruz e Ana Carolina de Aragão Souza

PROGRAMA DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA PIC/CEUB

**RELATÓRIOS DE PESQUISA**  
VOLUME 10 Nº 1- JAN/DEZ  
**2024**



**CENTRO UNIVERSITÁRIO DE BRASÍLIA - CEUB  
PROGRAMA DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA**

**ANITA FARAGO ACOSTA CRUZ  
ANA CAROLINA DE ARAGÃO SOUZA**

**ANÁLISE DO POTENCIAL DE FUNGOS ISOLADOS EM DIFERENTES ÁREAS  
DO DF, PARA USO NA BIORREMEDIAÇÃO DE GLIFOSATO E 2,4-D**

Relatório final de pesquisa de Iniciação Científica apresentado à Assessoria de Pesquisa e Extensão.

Orientação: Claudio Henrique Cerri E Silva

**BRASÍLIA  
2025**

## **AGRADECIMENTOS**

Agradecemos imensamente pelo nosso orientador, Claudio Cerri, que nos deu suporte durante toda a pesquisa. Também agradecemos ao professor Fabrício Escarlante, por todas as considerações e idas ao campo para coletar nossas amostras.

Por fim, à equipe do Labocien que ajudou a viabilizar este projeto e tornar a rotina de laboratório mais feliz, especialmente Lula e Nati.

## RESUMO

Agrotóxicos são produtos químicos amplamente empregados na agricultura moderna que, ao longo dos anos, revelaram consequências severas decorrentes de seu uso inadequado, incluindo impactos negativos à saúde humana e animal, além da bioacumulação no meio ambiente. Um dos principais problemas relacionados a essa contaminação é que esses defensivos não se decompõem com facilidade, permanecendo ativos por longos períodos. Nesse contexto, a biorremediação desponta como uma alternativa viável para a degradação de xenobióticos, destacando-se o uso de microrganismos, como bactérias e fungos, capazes de degradar compostos tóxicos. No presente estudo, foram coletadas amostras de duas regiões distintas do Distrito Federal para o isolamento de fungos e avaliação de seu potencial biorremediador: uma área próxima a uma caverna e uma área urbana nas proximidades do Parque Olhos d'Água, unidade de conservação ambiental. Ao todo, foram isoladas dezoito morfologias fúngicas, sendo cinco provenientes do Parque e treze da região próxima à caverna. As morfologias foram inoculadas em meio CZAPEK modificado, com o objetivo de avaliar sua tolerância à presença do herbicida. Após a seleção dos melhores resultados no screening preliminar, foram realizados ensaios enzimáticos para investigar a capacidade de degradação dos herbicidas, buscando identificar fungos com maior potencial biorremediador. A maioria dos fungos apresentou crescimento inibido pela presença de glifosato já na concentração inicial de 1%. Os isolados resistentes foram avaliados em concentrações de 3% e 5% de 2,4-D, observando-se inibição total em 5%, restando apenas quatro isolados nessa etapa. As reações enzimáticas envolvendo amilase e celulase apresentaram resultados nulos, enquanto a dosagem protéica foi baixa, indicando limitações no potencial degradador nas condições testadas. Estes resultados não anulam os fungos como potencial biorremediadores.

**Palavras-chave:** fungos; agrotóxico; biorremediação; glifosato; 2,4-D.

## SUMÁRIO

<b>1 Introdução</b>	<b>7</b>
<b>2 Fundamentação teórica</b>	<b>9</b>
2.1 Herbicidas e seus impactos.	9
2.2 Bioacumulação, hidrografia e cavernas.	11
2.3 Biorremediação e potencial fúngico	13
<b>3 Método</b>	<b>16</b>
3.1 Delimitação da pesquisa	16
3.2. Coleta das amostras	16
3.3 Processamento das amostras	17
3.4 Isolamento	17
3.5 Manutenção das culturas	17
3.6 Screening preliminar	18
3.7 Ensaio enzimático	18
3.8 Extração enzimática	18
3.9 Análise da atividade enzimática	19
3.10 Determinação de proteínas	19
<b>4 Resultados e discussão</b>	<b>20</b>
4.1 Amostragem da pesquisa	20
4.2 Isolados	21
4.3 Screening preliminar	24
4.4 Análise da Atividade Enzimática	26
<b>5 Considerações finais</b>	<b>29</b>
<b>REFERÊNCIAS</b>	<b>30</b>

## 1 Introdução

### 1.1 Contextualização da pesquisa

Agrotóxicos são produtos químicos amplamente utilizados na agricultura atual como prevenção de pragas agrícolas que, com o passar dos anos, revelaram seu potencial contaminação do meio. O início do seu uso ocorreu durante o período da Primeira Guerra Mundial, com uma mudança de mercado da indústria química de armamento para aplicação de seus venenos na agricultura (Lutzenberger, 2001). Desde então, o mercado dos agrotóxicos cresceu e as pesquisas desenvolvidas proporcionaram maior especialização do produto para aplicação na lavoura. O agrotóxico deixou de ser apenas uma solução de direcionamento da indústria química do pós-guerra, se tornando um produto de uso comum na agricultura. No Brasil, seu uso é superior a 300 mil toneladas por ano (Spadotto; Gomes, 2021), e, atualmente, 555 agrotóxicos são liberados para uso em território nacional, número menor que de 2022, quando era permitido uso de 652 produtos (Salati, 2024).

O uso destes produtos está vinculado à ideia de eficiência econômica, protegendo a plantação de ataques de pragas e contornando o solo empobrecido. Porém, são registrados diversos impactos socioambientais, desde dermatites a riscos de desenvolvimento de cânceres, como linfomas (Instituto Nacional de Câncer, 2022), além de indícios de relações com Parkinson e Alzheimer. Diversos estudos apontam o efeito em populações vulneráveis, tendo em vista o aparecimento de contaminações entre trabalhadores em populações rurais (Bortolotto *et al.*, 2020), um dos exemplos sendo o artigo de Magalhães e Caldas (2019) em que constam mais de 200 trabalhadores intoxicados no Distrito Federal entre 2009 e 2013. Essa disparidade cunha o termo de injustiça socioambiental (Veiga, 2007).

Não é apenas a saúde humana que é afetada pelos compostos químicos. Existem inúmeros registros de seu impacto ambiental, como contaminação aérea (Friedrich *et al.*, 2018), de rios, lagos e lençóis freáticos (Oliveira *et al.*, 2022) e, em consequência, do solo e dos organismos ao redor. Um dos processos mais importantes para isso é a lixiviação, quando a água penetra o solo e leva os componentes dele consigo. A destinação desta água inclui os elementos do solo lixiviado, como o agrotóxico. O problema central da contaminação ambiental por agrotóxico é que este produto não se decompõe facilmente no ambiente e causa um processo de

bioacumulação em organismos que, por ventura, entrem em contato com ele (Veiga *et al.*, 2004).

A utilização do processo de biorremediação vem como uma alternativa para atenuar os impactos ambientais causados por vários poluentes depositados por ação antrópica. Em 1988 cientistas começam a usar de organismos, como fungos, algas e plantas para auxiliar em algum grau na degradação dos compostos tóxicos depositados no ambiente, sendo, portanto, capazes de suportar o contato com esses compostos (Belo *et al.*, 2011; Tortora; Funke; Case, 2017). Bactérias são capazes de decompor substâncias inertes, como as que podem provocar algum tipo de bioacumulação, além de poderem consumir compostos orgânicos e inorgânicos em sua alimentação (Francisco; Queiroz, 2018). Não só são capazes de recuperar a área previamente afetada, ou aliviar o impacto causado, como tem a possibilidade de restringirem ou interromperem a cadeia de contaminação, permitindo uma resolução com perspectiva de saúde ambiental.

## 1.2 Objetivos.

### 1.2.1 Objetivo geral

Avaliar a tolerância e o padrão enzimático de fungos coletados de diferentes regiões do Distrito Federal, quando expostos a presença dos herbicidas glifosato e 2,4-D.

### 1.2.2 Objetivos específicos

Isolar fungos presentes em solos de diferentes regiões do DF.

Avaliar a tolerância dos fungos ao glifosato e 2,4-D, escolhendo aqueles com maior capacidade de crescimento para análise do potencial enzimático na hidrólise de componentes de células vegetais, como celulose e amido.

Realizar ensaios quanto ao potencial enzimático dos fungos que apresentarem tolerância aos herbicidas glifosato e 2,4-D.

## 2 Fundamentação teórica

### 2.1 Herbicidas e seus impactos.

Há várias formas de classificação de agrotóxicos, mas a classificação mais comum é a de que organismo eles controlam. Entre eles encontramos fungicidas, inseticidas e herbicidas, entre outros. Os herbicidas são voltados para controle de organismos da flora. Podem ser divididos entre graminicidas e latifolicidas, sejam exclusivos ou não, e de espectro amplo. Também podem ser separados quanto ao caráter iônico. O glifosato se enquadra na categoria de espectro amplo, tendo como alvo tanto monocotiledôneas quanto dicotiledôneas. Ambos os agrotóxicos abordados no presente experimento são ácidos, ou seja, liberando íons de hidrogênio no meio (Carvalho, 2013).

Também podem ser classificados entre seletivos e não-seletivos. Os não-seletivos podem causar danos à cultura da lavoura, enquanto os seletivos não. Neste caso, o 2,4-D é considerado não-seletivo (Carvalho, 2013). O glifosato foi classificado como não-seletivo em comunicação da Divisão de Toxicologia Humana e Saúde Ambiental no Estado de São Paulo. O glifosato e o ácido 2,4-diclorofenoxiacético, também chamado de aminol, são comumente utilizados em conjunto, usualmente em culturas de soja ou milho geneticamente modificados. Glifosato costuma ser usado em culturas como algodão, banana, cacau, arroz, cana-de-açúcar, maçã, uva, trigo e fumo (ADAPAR, 2024a). Já o 2,4-D é utilizado em culturas de café, aveia, trigo, cana-de-açúcar, centeio e arroz. Ambos são recomendados para uso em pastagem (ADAPAR, 2024b)

Existem tipos de interação entre xenobióticos e o ambiente após o processo de aplicação no campo, através de pulverização. Uma porcentagem do que foi aplicado no solo pode ser transportada, transformada ou retida no meio. A molécula continua ativa no transporte, o que significa que atuará com outras moléculas além das presentes na plantação. A transformação se dá quando as reações químicas com o meio provocam sua degradação, o que significa que seu efeito começa a ser reduzido. Por fim, quando é adsorvido no solo, absorvido por plantas ou outros organismos, o xenobiótico está passando pelo processo de retenção (Correia, 2021). O escoamento é o processo de carreamento lateral do herbicida no solo, já a lixiviação é o processo de carreamento

vertical do herbicida no solo. Ambos são os responsáveis pela contaminação de áreas pelos xenobióticos. Fatores como quantidade e volume de chuvas, capacidade de retenção do herbicida no solo e sua composição química influenciam diretamente nestes processos (Carvalho, 2013).

O uso de pesticidas acaba sendo incentivado quando as áreas de vegetação diversa são derrubadas para formação de monocultura, que naturalmente é mais suscetível às pragas agrícolas. A preocupação com seu uso de xenobióticos se dá pelos riscos à saúde e ao meio ambiente. Os resíduos de ambos os mencionados para o estudo podem ser encontrados no ar, água, cultivos e tecidos animais que entram em contato com este xenobiótico, além do glifosato ser considerado como provável cancerígeno, enquanto o 2,4-D é um possível cancerígeno (CETESB, 2018; CETESB, 2020; Disner *et al.*, 2020). O Brasil é um grande produtor agrícola, o que aumenta a preocupação dos efeitos negativos dos xenobióticos. O agrotóxico à base de glifosato é o mais utilizado no mundo, incluindo no Brasil. Dados do Instituto Brasileiro de Meio Ambiente e dos Recursos Naturais Renováveis (IBAMA) mostram que entre os componentes ativos dos agrotóxicos mais comercializados no Brasil e Distrito Federal são, respectivamente, o Glifosato e o 2,4-D (Moraes; Rossi, 2010; IBAMA, 2022). Embora sejam amplamente utilizados, estes compostos podem se tornar poluentes, trazendo danos não só para a saúde humana como impactos ambientais, como a contaminação do solo e recursos hídricos (Mello *et al.*, 2019).

No momento da pulverização parte do herbicida pode ser perdido pela volatilização onde as moléculas passam à forma gasosa, sem perder sua toxicidade, como um vapor que pode contaminar outras culturas de plantas ou então retorna como chuva ao solo (Correia, 2021). Além disso, foram encontrados registros mundiais que águas superficiais e subterrâneas contaminadas por agrotóxicos utilizados na agricultura (Moraes; Rossi, 2010). O glifosato e o aminol são altamente solúveis em água, tendo sido encontrado em águas superficiais, ambientes aquáticos e lençóis freáticos. Existem evidências de que o 2,4-D tem capacidade de contaminar outras áreas com a ação das chuvas sobre o solo onde foi depositado, já que se adere com facilidade à água (Berman *et al.*, 2018; Islam *et al.*, 2018; Rendón-von Osten; Dzul-Caamal, 2017). Um estudo desenvolvido na sub-bacia hidrográfica do rio Samambaia (DF) e leste do Goiás coletou amostras de água de chuva, do percurso de

rios, cisternas, córregos, lagoas e nascentes, durante períodos da estação chuvosa e seca, a fim de detectar e quantificar a presença de agrotóxicos. Nos períodos de chuva, 99% das amostras continham alguma quantidade de agrotóxico e, no período de seca, 100% delas apresentaram xenobiótico (Correia; Carbonari; Velini, 2020)

Uma vez que o solo e a água se encontram contaminados, os efeitos na fauna e na saúde humana são diversos. Os efeitos da intoxicação de glifosato e 2,4-D em humanos costumam ser irritação de vias respiratórias, olhos, dores de cabeça, irritação cutânea e sintomas gastrointestinais (National Pesticide Information Center, 2010; National Pesticide Information Center, 2008). Porém, são observados efeitos diversos na fauna além destes, envolvendo mudanças de comportamento, como letargia ou agressividade, problemas reprodutivos, problemas de desenvolvimento, interferência no sistema imune e alterações nas células sanguíneas. Infelizmente, muitas pesquisas parecem falhar em reportar ou analisar as mudanças bioquímicas provocadas pelos xenobióticos no metabolismo animal e vegetal, o que dificulta um entendimento amplo de como estes produtos podem afetar a saúde (Disner *et al.*, 2020).

## 2.2 Bioacumulação, hidrografia e cavernas.

As consequências do uso de xenobióticos são variadas, afetando a integridade dos organismos que entram em contato com ele. Um dos elementos mais preocupantes no uso de agrotóxicos é a bioacumulação. A doutora Sheila Cardoso, ecóloga, definiu bioacumulação como a concentração de substâncias tóxicas no organismo de apenas um nível trófico (Ueno, 2023). O vento, a água e até contato e manipulação por outros seres podem causar a passagem dos xenobióticos para o meio. Como agrotóxicos são de difícil degradação, a possibilidade de contaminação é alta e os organismos presentes na área irão interagir diretamente com o químico, e podem contribuir para a contaminação de outros locais ou organismos.

Um estudo feito por Papini e Andréa (2004) comprovou a bioacumulação dos herbicidas simazina e paraquat em minhocas da espécie *Eisenia foetida*, identificando os compostos em seus tecidos. O estudo observou que a bioacumulação persistia após 90 dias, e acontecia mesmo ao aplicar as concentrações recomendadas dos xenobióticos. Sendo um estudo experimental, apenas analisava a ação e interação destes organismos com os xenobióticos em ambiente controlado. Já no ambiente

natural, foi verificado que o herbicida atrazina é de difícil degradação, podendo persistir no solo por até 22 anos. O estudo menciona a capacidade de contaminação de lençóis freáticos do herbicida, que foi banido em 1991 da Alemanha, mas, quase dez anos mais tarde, ainda era encontrado nos lençóis freáticos (Jablonowski *et al.*, 20010).

Um caso documentado em Avaré, São Paulo, mostrou a intoxicação de gado por um herbicida à base de arsênico orgânico após a ingestão de pasto pulverizado. Mais da metade dos animais veio a óbito (Dantas *et al.*, 2012). Foi observado num estudo experimental que mesmo que não morressem por intoxicação em determinadas doses de 2,4-D, as fêmeas de ácaros expostos apresentaram menor longevidade que as fêmeas do grupo controle, não exposto a nenhum xenobiótico (Silva *et al.*, 2018). O ácido 2,4-diclorofenoxiacético é definido como um xenobiótico que se degrada rapidamente no ar, mas que demora cerca de quatro a sete dias no solo e possui alta mobilidade, obtendo facilidade de atingir águas superficiais e subterrâneas. Nelas, ele possui meia vida longa, sendo categorizado como de difícil degradação. Já o glifosato, ou ácido aminometilfosfônico, possui baixa mobilidade no solo, e não pode ser absorvido por plantas. Pode demorar até meses para atingir sua meia vida quando contamina água (CETESB, 2018; 2020).

Cavernas são bastante conhecidas por fornecerem dados hidrogeológicos, seja do período atual, seja de períodos históricos, sendo importantes para estudos do passado como do presente. Podem fornecer um preservado de sedimento e são ambientes favoráveis para análise das condições do meio, sendo, portanto, marcadores ambientais. Os sedimentos cavernícolas, podem ser classificados de várias formas, uma delas sendo de origem antropogênica, e são comumente carregados pela água por diversos processos, como através de canais ou de lixiviação, e passando por diferentes partes do solo até chegar no local de depósito (Caldeira *et al.*, 2020; Rosário, 2021).

O material depositado que vem da superfície em torno da caverna se chama alóctone. É levado pela água para o local de depósito, e contém características muito importantes quanto a sua origem, podendo carregar substâncias não degradadas pelo meio (Rosário, 2021). Isso torna as cavernas áreas propícias para detecção de compostos que possam estar no ambiente, assim como as águas superficiais. Os microrganismos presentes neste ambiente podem entrar em contato com variados

tipos de substâncias que sejam encontradas nos arredores, inclusive agrotóxicos levados por água até o sedimento cavernícola.

### 2.3 Biorremediação e potencial fúngico

O primeiro registro de biodegradação de agrotóxicos por microrganismos foi de uma espécie de bactéria que teve sucesso na quebra do 2,4-D em outros componentes (Moreira; Siqueira, 2006). A biorremediação é um processo em que organismos, normalmente plantas, microrganismos, fungos e bactérias, ou suas enzimas, são utilizados para remover ou reduzir poluentes do ambiente. A biorremediação pode envolver a capacidade de degradação do objeto de estudo, e pode ser realizada tanto com compostos orgânicos como inorgânicos (Pereira; Freitas, 2012 *apud* Francisco; Queiroz, 2018; Moreira; Siqueira, 2006; Coutinho *et al.*, 2016). Seu uso demanda eficiência na degradação de compostos tóxicos, e é necessário que seja realizado em condições ambientais e seguras ao ecossistema (Mallmann *et al.*, 2019).

As técnicas de biorremediação podem ser usadas em vários casos, como detoxificação de poços subterrâneos, quebra de resíduos de polímeros xenobióticos, gestão de resíduos tóxicos e a degradação de herbicidas (Coutinho *et al.*, 2016). Seus métodos são classificados como: *in situ* e *ex situ*. Enquanto no *in situ* ocorre a transformação ou remoção dos poluentes no próprio ambiente, no método *ex situ* o material contaminado é removido do local para tratamento externo. As técnicas mais conhecidas para *ex situ* são: biorreatores, *landfarming* e compostagem. Já para *in situ* existe o bioestímulo e bioaumento (Francisco; Queiroz, 2018).

Biorreatores são sistemas fechados onde tem monitoramento e controle dos reatores, neste processo o material contaminado é adicionado a um recipiente contendo o reator e outros materiais para a degradação da substância. Na compostagem o material é retirado do local e colocado em pilhas onde os organismos selecionados ou já presentes metabolizam os poluentes (Ferreira, 2020). O bioaumento consiste na adição de microrganismos com alto potencial de degradação dos contaminantes, como fungos e bactérias em solos contaminados. Já o bioestímulo consiste na adição de nutrientes no solo visando o estímulo da atividade dos microorganismo degradadores da microbiota nativa do solo (Jacques *et al.*, 2007).

Fungos e bactérias apresentaram eficiência na recuperação de áreas adulteradas por substâncias tóxicas, tendo potencial para uso na degradação de xenobióticos (Francisco; Queiroz, 2018). Diversos trabalhos foram realizados com intuito de testar a capacidade de fungos, e microrganismos isolados de amostras de solo contaminado por herbicidas demonstraram potencial como agentes biorremediadores através da avaliação de seu crescimento em meios de cultura líquido BDA inoculados com glifosato e atrazina. Os resultados provaram a capacidade de desenvolvimento e crescimento na presença de glifosato e atrazina em 3 isolados fúngicos (Machado *et al.*, 2020). Um estudo conduzido no Instituto Nacional de Pesquisas Amazônicas (INPA) também trouxe resultados pertinentes à biorremediação do solo com fungos. Amostras de solo contaminadas por glifosato na floresta amazônica foram coletadas e transferidas para o meio de cultura, isolando os fungos resistentes ao glifosato. Os que apresentaram resultado positivo são pertencentes ao filo *Ascomycota* dos gêneros *Penicillium*, *Aspergillus* e *Trichoderma*. Para avaliar o potencial de uso do glifosato como fonte de nutriente os pesquisadores colocaram os isolados em 3 meios de cultura média, Czapek médio normal, Czapek sem  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  e Czapek sem  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  com concentrações de glifosato adicionadas. Todos os isolados apresentaram capacidade de usar o glifosato como fonte de fósforo e entre eles 8 produziram mais biomassa com as concentrações de glifosato do que no meio de Czapek tradicional (Correa *et al.*, 2023).

Uma pesquisa realizada pela Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária, EMBRAPA, analisou 12 fungos, com e sem capacidade de degradar compostos organoclorados, quanto à sua tolerância ao herbicida 2,4-D. Testes em triplicata foram conduzidos em meio de cultura sólida e com a adição de 100  $\mu\text{l}$  do herbicida. A resistência fúngica foi analisada a partir do crescimento do micélio e da oxidação do substrato. Espécimes como *Pleurotus pulmonarius*, *Pleurotus djamor* e *Agaricus sp.* apresentaram resistência e crescimento no substrato. Porém, o resultado mais promissor de potencial à biorremediação em aplicações práticas foi do *L. crinitus*, que, além seu crescimento demasiado na presença de 2,4-D, não apresentou alterações morfológicas significativas em comparação ao meio de controle, sugerindo que não teve efeito deletério do 2,4-D na ultraestrutura deste fungo (Serbent *et al.*, 2020).



### 3 Método

#### 3.1 Delimitação da pesquisa

Neste trabalho foi feita uma pesquisa experimental em busca de entender a tolerância de fungos coletados do solo no Distrito Federal (DF) a dois dos herbicidas mais vendidos no Brasil (IBAMA, 2022), além de analisar o potencial enzimático das culturas com esse tratamento, para que sejam obtidos dados sobre o potencial uso desses microrganismos na biorremediação.

Para a área de coleta do solo, foram escolhidas duas áreas diferentes do DF. A primeira foi às margens de um corpo d'água às margens de caverna, localizada em Planaltina, próxima a áreas rurais com plantios agrícolas e presença de corpos d'água, enquanto a segunda foi feita em uma área mais urbana, mas aos arredores do Parque Olhos d'água, parque público e ecológico.

A definição de solo utilizada nesta pesquisa foi a partir do que seria categorizado como o limite superior da superfície terrestre, a região em contato com a atmosfera. Removeu-se a camada serrapilheira que poderia estar presente no local, e levou-se em conta que o limite superior é parte do horizonte superficial. O horizonte superficial é uma camada que é feita pela acumulação de material depositado de matéria orgânica, minerais e água. Ele também é a seção mais alterada pelas ações antrópicas (Borges, 2021; Santos *et al.*, 1983).

#### 3.2. Coleta das amostras

Foram coletadas quatro amostras de solo em cada área, na profundidade de 10 a 25 centímetros, com o auxílio de um sonda de amostragem. Levou-se em conta que a presença de actinobactérias, muitas vezes responsáveis pela decomposição de matéria orgânica, estão situadas numa faixa de de 20 a 25 centímetros, além de prévia localização de fungos nesta mesma faixa de profundidade, tendo também o papel da decomposição de matéria orgânica (Rocha *et al.*, 2022; Silva, 2006). As amostras foram armazenadas em saco plástico e levadas até o laboratório para processamento.

### 3.3 Processamento das amostras

Após peneirar o solo, ele foi diluído e suspenso em solução salina preparada a uma proporção de 0,85%. A solução foi adicionada a frascos cônicos, e depois autoclavada a 120 °C por 20 minutos. Nesses frascos cônicos foram adicionados 10 gramas de solo para 90 mL de solução. Os frascos foram submetidos a agitação por 10 minutos e posteriormente o conteúdo suspenso foi diluído em  $10^{-2}$  e  $10^{-3}$  na solução salina (Araújo; Lemos, 2022).

Placas de Petri esterilizadas foram utilizadas para o cultivo dos microrganismos, preenchidas com 20 mL do meio de cultura Sabouraud (KASVI) e, após serem autoclavadas, permaneceram em uma câmara UV até a solidificação do meio. Sendo assim, 0,2 mL da diluição de cada amostra foi semeado em meio de cultura Sabouraud a partir da técnica de espalhamento pelo uso da alça de Drigalski esterilizada. As placas já semeadas foram armazenadas em estufa a 30 °C por dez dias para garantir um bom crescimento e diferenciação das colônias (Araújo; Lemos, 2002; Serbent *et al.*, 2020).

### 3.4 Isolamento

Após o plaqueamento das diluições feitas com o solo e o crescimento das culturas, foi feito o isolamento dos fungos. Com uma ponteira estéril foram coletados os centros de cada colônia formando um disco de micélio de 5 mm de diâmetro. Placas de Petri contendo 15 mL do meio de cultura autoclavado, permaneceram em uma câmara UV até a média solidificação do meio. Nessa etapa, foram adicionados 100 µL de glifosato e de 2,4-D ao meio de cultura, pela técnica de espalhamento. Os discos micelares coletados anteriormente foram colocados então no centro da placa com a face contendo o micélio voltada para baixo. As placas foram armazenadas à temperatura de 30 °C por 14 dias.

### 3.5 Manutenção das culturas

A manutenção das culturas foi feita por meio de repiques periódicos. Foram feitos inóculos em tubos de ensaio com meio de cultura Sabouraud solidificado de forma inclinada a partir do micélio dos fungos. Após o crescimento, os tubos foram armazenados em geladeira a 4 °C.

### 3.6 *Screening* preliminar

O *screening* preliminar tinha como objetivo avaliar a tolerância dos fungos aos herbicidas. Esse teste foi conduzido em meio de cultura CZAPEK (NaNO<sub>3</sub> 2 g, K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> 1 g, MgSO<sub>4</sub> 0,5 g, KCl 0,5 g, FeSO<sub>4</sub>(NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 0,01g, ágar 15 g para 1000 mL de água destilada), contendo concentrações crescentes dos herbicidas, iniciando com 1% e intervalo constante de 2%, até completa inibição do crescimento. O diâmetro central do disco micelial foi medido com paquímetro, diariamente, no decorrer dos 14 dias de incubação. O crescimento diário das culturas (DGRab) será calculado pela equação abaixo (Serbent *et al.*, 2020).

Equação DGRab = (Db - Da) / (tb-ta) (Fonte: Serbent *et al.*, 2020)

Em que Db é o diâmetro final calculado, Da é o diâmetro inicial do disco, medido no paquímetro, e (tb - ta) representa o intervalo de tempo de exposição. As colônias que apresentaram maior tolerância foram utilizadas nas análises experimentais posteriores.

### 3.7 Ensaio enzimático

Após a caracterização da tolerância, os fungos que apresentaram melhores resultados foram inoculados em meio de cultura CZAPEK (NaNO<sub>3</sub> 2 g, K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> 1 g, MgSO<sub>4</sub> 0,5 g, KCl 0,5 g, FeSO<sub>4</sub>(NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 0,01 g, ágar 15 g para 1000mL de água destilada) e cultivados por um período de sete dias à temperatura ambiente. No período em que foi feito, a temperatura média da semana inteira foi 20 °C. A temperatura média mínima foi de 18,65 °C, enquanto a média máxima foi de 21,25 °C. A temperatura mínima registrada no período foi de 10 °C, e a máxima de 28 °C. Os dados foram extraídos de uma estação meteorológica próxima ao laboratório, com código 83377 (INMET, 2025). As fontes de carbono fornecidas serão o glifosato e o 2,4D, em frascos Erlenmeyers de 125 mL, contendo 25 mL de meio, feito em triplicatas. A concentração dos herbicidas, neste ensaio, foi aquela de maior tolerância encontrada nos testes de *screening* preliminar.

### 3.8 Extração enzimática

Após o intervalo de tempo dado para o crescimento, foi adicionado 30 mL de tampão acetato de sódio (25 mM pH 5,0) aos Erlenmeyers que foram submetidos a agitação por duas horas em mesa oscilatória. O conteúdo dos frascos foi filtrado à vácuo com um filtro de papel Whatman número 1. O filtrado foi armazenado em frasco âmbar esterilizado e mantido sob refrigeração até a conclusão dos testes enzimáticos. Os frascos contendo o filtrado foram identificados como extratos brutos e armazenados a 4 °C (Silva *et.al.*, 1999).

### 3.9 Análise da atividade enzimática

A determinação das atividades de alfa-amilase das amostras provenientes do extrato bruto foi feita pela adição de 300 µL da amostra enzimática, à 600 µL de solução de amido, em tampão acetato de sódio 100 mM, pH 5,0, sendo a reação conduzida a 50 °C, durante 30 minutos (Silva *et al.*, 1999). A reação foi interrompida pela adição de 900 µL de ácido dinitrosalicílico (DNS) e imersão dos tubos de ensaio em banho de água fervente por 10 minutos, seguido da adição de 1800 µL de água destilada. A quantidade de açúcar redutor liberada foi medida espectrofotometricamente a 540 nm utilizando-se glicose como padrão (Miller, 1969). A atividade enzimática foi expressa em µmol de açúcar redutor formado por minuto e por mL de solução enzimática (U/mL) nas condições descritas anteriormente. Para o ensaio com papel de filtro (Mandels, 1976), amostras enzimáticas de 300 µL foram adicionadas a tubos de ensaio contendo uma tira de papel Whatman no 1 (1 x 6 cm). A reação foi conduzida de acordo com as condições descritas acima.

### 3.10 Determinação de proteínas

As concentrações de proteínas foram determinadas pela adição de 400 µL das amostras enzimáticas a 2,0 mL da solução A [volumes iguais dos reagentes: CTC ( $\text{Na}_2\text{CO}_3$  10%,  $\text{KNaC}_4\text{H}_4\text{O}_6$  0,2 % e  $\text{CuSO}_4$  0,1 %); NaOH (0,8 N); SDS 10 % e  $\text{H}_2\text{O}$ ], seguido de 10 minutos de incubação a temperatura ambiente. Foram adicionados 1,0 mL da solução B, sendo 1 volume do reagente de Folin (2N) em 5 volumes de  $\text{H}_2\text{O}$ , seguida de incubação por 30 minutos a temperatura ambiente. A quantidade de proteína foi

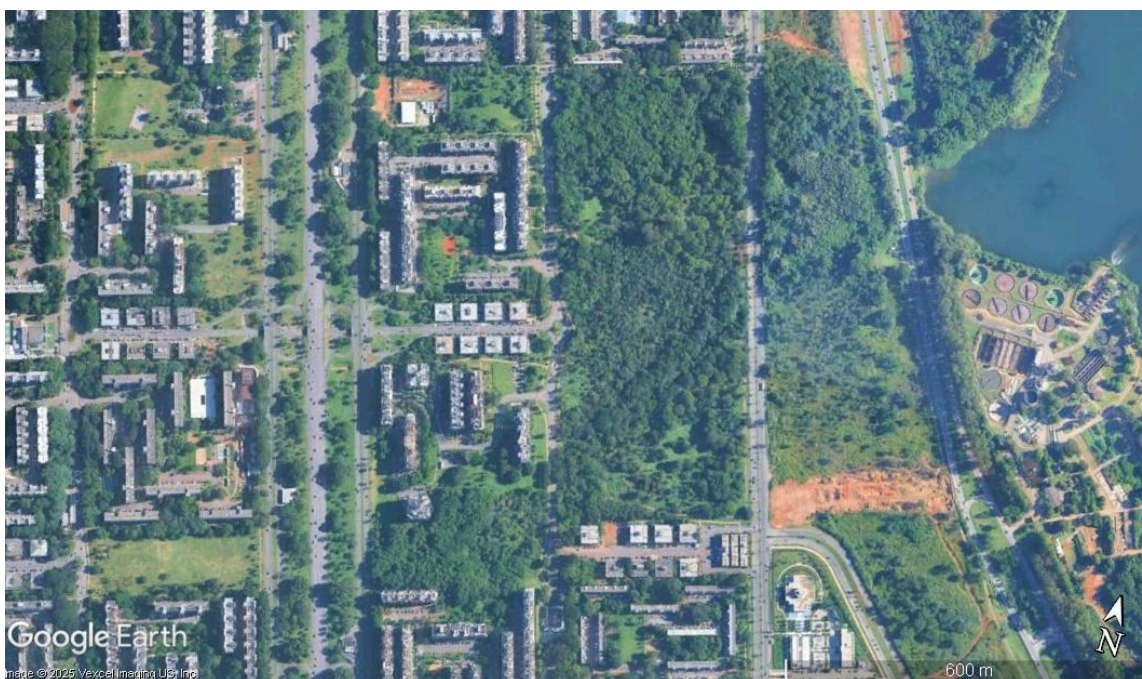
medida espectrofotometricamente a 750 nm, utilizando-se albumina bovina sérica como padrão (Pettersson, 1977).

## 4 Resultados e discussão

### 4.1 Amostragem da pesquisa

A amostragem foi definida em duas regiões distintas, a primeira, foi ao redor do Parque Olhos d'Água, área de conservação ambiental dentro da região administrativa Asa Norte. O código das amostras foi determinado como POA. A área de coleta escolhida foi uma região sombreada próxima ao Parque, que tinha uma grande quantidade de serrapilheira, com presença de algumas árvores e pouca vegetação rasteira. A terra possuía tonalidade alaranjada. Foram identificados alguns resíduos jogados pelo local, como tampinha de garrafa plástica.

Figura 1 – Visão de satélite da área em torno do Parque Olhos d'água.

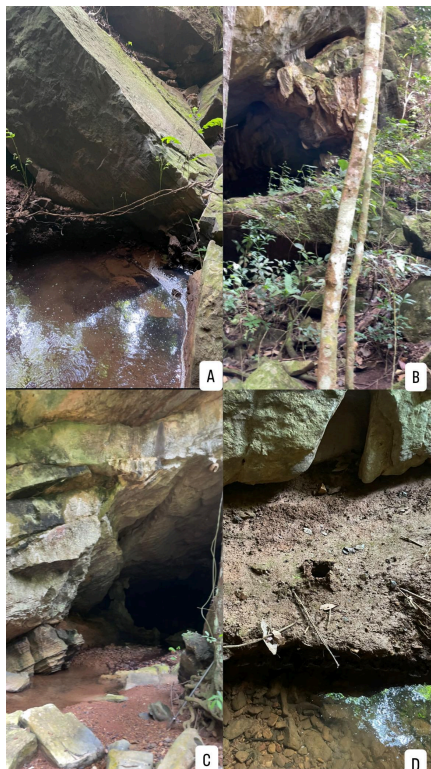


Fonte: Google Earth Pro®.

Já a segunda região foi próxima a áreas agrícolas de Planaltina, em um ambiente cavernícola, às margens de um corpo d'água, como podemos ver na Figura 2, uma região de sumidouro. As regiões de sumidouro, são caracterizadas por processos hidrológicos complexos e uma dinâmica particular de deposição de sedimentos. Esses sistemas apresentam um acúmulo de resíduos variados proveniente do percurso de corpos d'água. Frequentemente os sedimentos acumulados contém uma diversidade de substâncias orgânicas e inorgânicas, resultantes da erosão do solo, da

decomposição da vegetação circundante e de outras fontes externas (Caldeira *et al.*, 2020). As amostras coletadas neste ambiente receberam o código CAV.

Figura 2 – Imagens retiradas do local de coleta das amostras CAV.



Fonte: dos autores.

A área era bastante úmida, com muitos indícios de matéria orgânica dos sedimentos, e presença de organismos como líquens. O local era sombreado, com terra escura. Foram realizadas coletas de dois pontos em cada região, totalizando os grupos de amostras CAV1, CAV2, POA1 e POA2.

#### 4.2 Isolados

No total, foram identificados 18 isolados com morfologias distintas, sendo 5 da categoria POA e 13 dentro da categoria CAV, conforme pode ser observado na Tabela 1.

Tabela 1 – Número de isolados por área de coleta em meio Sabouraud

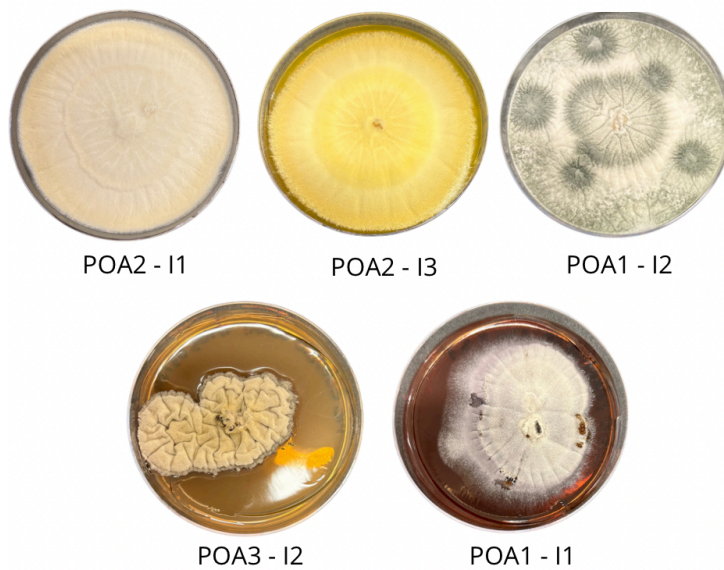
Amostra	Número de isolados
---------	--------------------

CAV1	10
CAV2	3
POA1	2
POA2	3

Fonte: Elaborado pelos autores (2025)

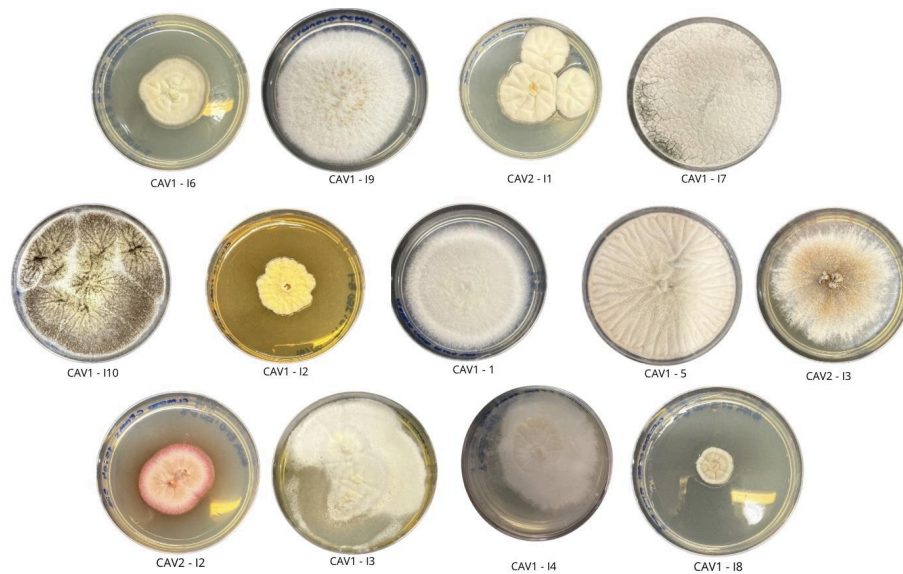
Na Figura 3 constam as morfologias provenientes das amostras POA1 e POA2. Na Figura 4 podemos ver as morfologias provenientes das amostras CAV1 e CAV2. Todas as morfologias foram obtidas a partir do crescimento dos fungos em placas de Petri a 30 C em meio Sabouraud.

Figura 3 – Isolados amostras POA1 e POA2.



Fonte: elaborado pelos autores (2025)

Figura 4- Isolados amostra CAV1 e CAV2.



Fonte: Autores.

Ambientes cavernícolas são considerados extremos e seletivos por conta das alterações de pH, presença de luz, oxigênio e nutrientes. Com a falta de luz, há falta de produção de matéria orgânica primária e a necessidade de buscar métodos alternativos para adquirir nutrientes, como carbono (Simon, 2019; Furey; Racey, 2016; Nitzu *et al.*, 2018). Isso causa o desenvolvimento de organismos específicos, que não seriam encontrados com tanta frequência fora do ambiente, por conta da especialização necessária para interagir no meio (Schabereiter-Gurtner *et al.*, 2004). Uma exposição a esse tipo de ambiente pode justificar encontrar mais isolados que resistiram ao estressor provocado pelo xenobiótico.

Após o processo de isolamento, foi feito um teste preliminar com adição de 100  $\mu$ l de glifosato e 2,4-D em meio com 15ml de Sabouraud. Como demonstra a Tabela 2, 14 isolados cresceram na presença do defensivo 2,4-D e 11 na presença de glifosato. Somente 2 isolados não conseguiram crescer. A relação dos isolados que cresceram na presença de agrotóxico não consta.

Tabela 2 – Isolados que cresceram com 100  $\mu$ l agrotóxico

---

**Aminol**

---

---

<b>Amostra</b>	<b>Número de isolados</b>
CAV1	7
CAV2	3
POA1	2
POA2	3

---

**Glifosato**

---

<b>Amostra</b>	<b>Número de isolados</b>
CAV1	6
CAV2	2
POA1	2
POA2	2

---

Fonte: elaborado pelos autores (2025)

### 4.3 Screening preliminar

Os isolados que atingiram o crescimento em meio Sabouraud na presença do defensivo seguiram para *screening* preliminar. Ele é feito com o meio CZAPEK modificado, com a substituição da sacarose pelos defensivos, Glifosato ou 2,4-D, assim ele não apresenta nenhuma outra fonte de carbono. Uma vez adicionado o defensivo, os fungos vão usar ele como fonte, a fim de obter a tolerância de crescimento dos fungos, conforme o aumento da quantidade de defensivos. O crescimento dos fungos foi medido com um paquímetro durante 14 dias. Com a demonstração de crescimento em até 5 dias, aumentava-se a concentração de agrotóxico na amostra, ou seja, os fungos que não apresentaram crescimento ou que estagnaram em menos de 5 dias não foram testados em concentrações maiores. O objetivo era avaliar a tolerância aos defensivos dos fungos encontrados e selecionar os que seriam usados para a análise enzimática. Os fungos que não apresentaram nenhum tipo de tolerância não foram incluídos na Tabela 3.

**Tabela 3 – Média de tolerância aos herbicidas. A não tolerância foi apresentada como “-”**

<b>Amostra</b>	<b>1%</b>	<b>3%</b>	<b>5%</b>
<b>Aminol</b>			
POA2 - I3	0,17	0,2	-
POA2 - I2	1,68	0,07	0,05
POA1 - I2	0,39	0,19	0,1
POA1 - I1	0,24	0,11	0,09
POA2 - I1	0,16	0,26	0,16
CAV1 - I3	0,28	0,21	-
CAV1 - I5	0,32	0,18	-
CAV2 - I3	0,14	0,08	-
CAV1 - I1	0,24	0,14	-
CAV1 - I9	0,12	0,12	-

CAV1 - I10	0,12	0,05
CAV1 - I7	0,1	-
CAV1 - I2	0,39	-
CAV2 - I2	0,19	-
<b>Glifosato</b>		
POA2 - I1	0,03	0,02

Fonte: elaborado pelos autores (2025)

Foi possível avaliar que a maioria dos isolados teve crescimento inibido ou até falta de crescimento na presença de glifosato 1%, conseqüentemente somente uma amostra chegou a crescer em 3%. Glifosato é um defensivo não-seletivo que provoca deficiência na síntese de proteínas ao afetar enzimas que são necessárias para a produção de aminoácidos aromáticos (National Pesticide Information Center, 2010).

O aminol teve melhor desenvolvimento chegando em até 5%, embora os que apresentaram tolerância obtiveram estagnação no crescimento em menos de 5 dias. O aminol é conhecido por afetar muitos organismos vegetais. Ele tem o mecanismo de aumentar a divisão celular, causando uma síntese de proteínas desenfreada, descontrole na produção de etileno, hormônio vegetal, além de danificar a estrutura da parede celular (Disner *et al.*, 2020; National Pesticide Information Center, 2008). Foi decidido avaliar que os isolados que apresentaram uma tolerância maior, a maiores concentrações de defensivos, tanto para aminol quanto para glifosato foram provenientes das amostras POA1 e POA2.

Dentre os fungos que apresentaram maior tolerância na pesquisa, foi identificado o *Aspergillus*. Os fungos do gênero *Aspergillus* apresentam grande potencial para a biorremediação de glifosato devido à sua capacidade de utilizar esse herbicida como fonte de nutrientes como fósforo, carbono e nitrogênio em meio CZAPEK (Carranza, 2017). Outros gêneros também demonstraram capacidade de metabolizar o glifosato, como *Penicillium* e *Trichoderma* em condições de desempenho similares revelaram a presença de metabólitos secundários, indicadores de metabolismo (Correa *et al.*, 2023).

A capacidade de tolerância de microrganismos à exposição do xenobiótico é uma característica necessária para a aplicação na biorremediação, portanto, sua avaliação é um importante indicativo do seu potencial (Meharg, 2001). A restrição de fontes de nutrientes no meio de cultura inoculado com agrotóxico visava testar essa alternativa biotecnológica, considerando o método de bioaumento, que leva em conta a capacidade metabólica do organismo ou enzima realizarem a degradação do meio (Jacques *et al.*, 2007).

#### 4.4 Análise da Atividade Enzimática

No processo de análise enzimática, buscou-se testar a dosagem protéica, medida em  $\mu\text{g}/\mu\text{l}$ , a concentração de amilase e a concentração de celulase. Escolheu-se as amostras que demonstraram sinais de maior tolerância à presença dos defensivos na etapa do *screening* preliminar, os isolados que apresentaram tolerância a porcentagens maiores de agrotóxico, como apresentado na Tabela 4. Os resultados negativos e nulos foram equiparados com o valor 0 para facilitar a interpretação da tabela.

**Tabela 4 – Resultados dos ensaios enzimáticos de amilase e celulase e dosagem de proteínas**

Isolado	Dosagem proteína		
	Amilase(U)	Celulase (U)	( $\mu\text{g}/\mu\text{L}$ )
POA1- I1	0	0	24,6
POA 1- I2	0	0	11,39
POA2 - I1	0	0	9,26
POA2 - I2	0	0	120,16

Fonte: elaborado pelos autores (2025)

Dos isolados para extração cultivados em erlenmeyers, não obtivemos crescimento aparente. Tanto o ensaio de amilase quanto o ensaio da celulase obtiveram resultados nulos, e não foi possível detectar atividade enzimática. Esse resultado pode ter sido influenciado por vários fatores como temperatura e pH.

A remoção da exposição da amostra a uma temperatura constante de 30 °C para a temperatura tenha influenciado esta modificação no crescimento aparente. Temperatura e pH podem ter sido determinantes nesta etapa, e sua influência pode ter provocado uma baixa dosagem enzimática. O pH influencia diretamente na qualidade de crescimento do fungo no meio (Teixeira, 2023).

É possível que a amilase não tenha encontrado a faixa de pH adequada para desenvolvimento, afetando o metabolismo do fungo durante a sua fase de crescimento, considerando que sua produção enzimática pode ser ideal entre pH 4,5 e 6, e isso afeta o começo de sua liberação enzimática para o lado externo da célula, além da temperatura ideal ter sido avaliada em torno de 60 °C (Lopes *et al.*, 2024). Já a celulase costuma apresentar uma temperatura ótima para atividade na faixa de 50 °C a 55 °C, e pH com maior atividade entre pH 4,2 e 5,8 (Pardo; Forchiassin, 1999).

A amilase é uma enzima responsável pela conversão do amido em glicose, amplamente utilizada na indústria alimentícia e de produtos de limpeza. Além disso, analisando seu potencial para biotecnologia (Guimarães *et al.*, 2006). A celulase, por sua vez, desperta interesse por sua atividade de quebra da celulose e liberação de glicose que pode auxiliar na produção de biocombustíveis (Castro; Pereira Júnior, 2010). Além disso, já foi avaliada a presença de sua atividade enzimática em resíduos metabólitos de fungos filamentosos encontrados em solo cavernoso (Paula *et al.*, 2019).

Um trabalho anterior obteve resultados similares, encontrando tolerância dos isolados e avaliando positivamente atividade enzimática na presença de 2,4-D, ainda que poucas amostras tivessem atingido resultados que indiquem alguma atividade enzimática (Oliveira; Silva, 2022). É necessário reavaliar as variáveis antes de excluir a hipótese de potencial biorremediador considerando como elas podem afetar o crescimento e desenvolvimento de fungos.

## 5 Considerações finais

Os fungos isolados da pesquisa apresentaram tolerância na presença de defensivos, indicando a possibilidade de uso na biorremediação. Porém, seria necessário conduzir mais testes tanto para entender a relação do metabolismo fúngico acerca do agrotóxico e sua capacidade de consumo do mesmo, quanto para avaliar outras atividades enzimáticas dos fungos em diferentes substratos e com diferentes nutrientes. Uma possibilidade é o uso de placas com diferentes concentrações de nutrientes para avaliar o comportamento do microrganismo, ou uma simulação de como seria o substrato natural, no qual o fungo iria crescer no meio externo. Também pode ser interessante para uma análise analisar o consumo de fósforo, nitrogênio e xylana.

O número alto de morfologias próximo da região cavernícola nos apresenta uma alta variedade de fungos no ambiente cavernícola. Isso pode se dar pela região no entorno da área de coleta ser mais distante de centro urbano, mesmo que não seja uma área de conservação. É possível que os organismos da caverna, pela pressão seletiva do ambiente, tenham conseguido se sobressair com mais facilidade.

## REFERÊNCIAS

- ADAPAR. Bula do Glifosato Nortox. Disponível em: [https://www.adapar.pr.gov.br/sites/adapar/arquivos\\_restritos/files/documento/2024-06/glifosatonortoxultra.pdf](https://www.adapar.pr.gov.br/sites/adapar/arquivos_restritos/files/documento/2024-06/glifosatonortoxultra.pdf). 2024a. Acesso em: 10 ago. 2025.
- ADAPAR. Bula do 2-4D Nortox. Disponível em: [https://www.adapar.pr.gov.br/sites/adapar/arquivos\\_restritos/files/documento/2025-04/24dnortox.pdf](https://www.adapar.pr.gov.br/sites/adapar/arquivos_restritos/files/documento/2025-04/24dnortox.pdf). 2024b. Acesso em: 10 ago. 2025
- ARAÚJO, F. S. M.; LEMOS, J. L. S. Isolamento e identificação de fungos degradadores de petróleo. 2002. <http://mineralis.cetem.gov.br/handle/cetem/850>. Acesso em: 29 de abril de 2024.
- BELO, Alessandra Ferreira; COELHO, A.T.C.P.; FERREIRA, L.R.; SILVA, A.A.; SANTOS, J.B. Potencial de espécies vegetais na remediação de solo contaminado com sulfentrazone. **Planta Daninha**, v. 29, n. 4, p. 821–828, 1 dez. 2011. DOI: <https://doi.org/10.1590/s0100-83582011000400012>.
- BERMAN, M. Castro; MARINO, D.J.G.; QUIROGA, María Victoria; ZAGARESE, Horacio.. Occurrence and levels of glyphosate and AMPA in shallow lakes from the Pampean and Patagonian regions of Argentina. **Chemosphere**, v. 200, p. 513–522, 2018.
- BORGES, A. L. (Ed.). **Recomendações de calagem e adubação para abacaxi, acerola, banana, citros, mamão, mandioca, manga e maracujá**. Cruz das Almas, BA: Embrapa Mandioca e Fruticultura, 2021. 303 p. Disponível em: <https://www.embrapa.br/busca-de-publicacoes/-/publicacao/1134518/recomendacao-s-de-calagem-e-adubacao-para-abacaxi-acerola-banana-citros-mamao-mandioca-manga-e-maracuja>
- BORTOLOTTO, Caroline Cardozo; HIRSCHMANN, Roberta; MARTINS-SILVA, Thais; FACCHINI, Luiz Augusto. Exposição a agrotóxicos: estudo de base populacional em zona rural do sul do Brasil. **Revista Brasileira de Epidemiologia**, v. 23, 2020. DOI: <https://doi.org/10.1590/1980-549720200027>.
- CALDEIRA, D. M. V. S.; UAGODA, R.; NOGUEIRA, A. M. Dinâmica dos sedimentos clásticos cavernícolas: potencialidade para estudo paleoambientais no Brasil. **Revista Brasileira de Geociências**, 50(3), e025, abr. 2020. Disponível em: <https://repositorio.icmbio.gov.br/handle/cecav/119>. Acesso em: 02 de maio de 2024.
- CARRANZA, Cecilia S.; BARBERIS, Carla L.; CHIACCHIERA, Stella M.; MAGNOLI, Carina E. Assessment of growth of *Aspergillus* spp. from agricultural soils in the presence of glyphosate. **Revista Argentina de Microbiología**, v. 49, n. 4, p. 384-393, 2017.
- CARVALHO, Leonardo B. de. **Herbicidas**. Primeira edição. E-book. ISBN 978-85-912712-1-4. Lages, Santa Catarina. Edição do autor, 2013. Disponível em: [https://www.fcav.unesp.br/Home/departamentos/fitossanidade/leonardobiancodecarvalho/livro\\_herbicidas.pdf](https://www.fcav.unesp.br/Home/departamentos/fitossanidade/leonardobiancodecarvalho/livro_herbicidas.pdf)
- CASTRO, Aline Machado de; PEREIRA JR, Nei. Produção, propriedades e aplicação de celulases na hidrólise de resíduos agroindustriais. **Química Nova**, v. 33, n. 1, p. 181–188, 2010. DOI: <https://doi.org/10.1590/S0100-40422010000100031>
- COMPANHIA AMBIENTAL DO ESTADO DE SÃO PAULO. **Informações toxicológicas. Ficha toxicológica 2,4-D**. Disponível em: <https://cetesb.sp.gov.br/laboratorios/servicos/informacoes-toxicologicas/>. Acesso em: 1 maio 2024.

COMPANHIA AMBIENTAL DO ESTADO DE SÃO PAULO. **Informações toxicológicas. Ficha toxicológica** **Glifosato.** Disponível em: <https://cetesb.sp.gov.br/laboratorios/servicos/informacoes-toxicologicas/>. Acesso em: 1 maio 2024.

CORREA, L. O.; BEZERRA, A. F. M.; HONORATO, L. R. S.; CORTEZ, A. C. A.; SOUZA, J. V. B.; SOUZA, E. S. Amazonian soil fungi are efficient degraders of glyphosate herbicide; novel isolates of *Penicillium*, *Aspergillus*, and *Trichoderma*. **Brazilian Journal of Biology**, Manaus, vol. 83, e242830, 2023. Disponível em: <https://doi.org/10.1590/1519-6984.242830>.

CORREIA, Núbia Maria. Herbicidas. **Informe Agropecuário**, v. 42, n. 315, 2021. Disponível em: <https://www.alice.cnptia.embrapa.br/alice/handle/doc/1140443>.

CORREIA, N.M.; CARBONARI, C.A.; VELINI, E.D. - Detection of herbicides in water bodies of the Samambaia River sub-basin in the Federal District and eastern Goiás. **Journal of Environmental Science and Health - Part B. Pesticides Food Contaminants, and Agricultural Wastes**, v.55, n.6, p.574-582, Mar. 2020. DOI: [10.1080/03601234.2020.1742000](https://doi.org/10.1080/03601234.2020.1742000).

COUTINHO, P. W. R.; CADORIN, D. A.; NORETO, L.M.; GONÇALVES JR., A. C. G. -Alternativas de remediação e descontaminação de solos: Biorremediação e Fitorremediação. **Nucleus**, v.12, n.1, Paraná, 2016. Disponível em: <https://core.ac.uk/reader/268033270> Acesso em: 04 de maio de 2024.

DANTAS, Gabriela N.; SANTAROSA, Bianca P.; CAGNINI, Didier Q.; CAVALCANTI, Rodrigo M.; CHIACCHIO, Simone B.; GONÇALVES, Roberto C.; RIET-CORREA, Franklin; BORGES, Alexandre S. Intoxicação aguda por metano arsonato ácido monossódico em bovinos. *Pesquisa Veterinária Brasileira*, v. 32, n. 12, p. 1239–1245, 2025. Disponível em: [https://www.bvs-vet.org.br/vetindex/periodicos/pesquisa-veterinaria-brasileira/32-\(2012\)-12/intoxicacao-aguda-por-metano-arsonato-acido-monossodico-em-bovinos/](https://www.bvs-vet.org.br/vetindex/periodicos/pesquisa-veterinaria-brasileira/32-(2012)-12/intoxicacao-aguda-por-metano-arsonato-acido-monossodico-em-bovinos/)

DISNER, Geonildo Rodrigo; FALCÃO, Maria Alice Pimentel; ANDRADE-BARROS, Aline Ingrid; SANTOS, Natalia Vitorino Leite dos; SOARES, Amanda Beatriz Silva; MARCOLINO-SOUZA, Milena; GOMES, Kamila Sousa; LIMA, Carla; LOPES-FERREIRA, Monica. The Toxic Effects of Glyphosate, Chlorpyrifos, Abamectin, and 2,4-D on Animal Models: A Systematic Review of Brazilian Studies. **Integrated Environmental Assessment and Management**, v. 17, n. 3, p. 507–520, 2020.

FUREY, Neil M.; RACEY, Paul A. Conservation Ecology of Cave Bats. *In: VOIGT, Christian C.; KINGSTON, Tigga. Bats in the Anthropocene: Conservation of Bats in a Changing World*, p. 463–500, 2015. DOI: <https://doi.org/10.1007/978-3-319-25220-9>

FERREIRA, Sueli Barbosa Santos- Biorremediação como alternativa de tratamento em ambientes contaminados. **Revista FIMCA**, v.7, n.3, 2020. DOI: <https://doi.org/10.37157/fimca.v7i3.121>

FRANCISCO, Wellington C.; QUEIROZ, Tânia M. de. Biorremediação. **Nucleus**, v. 15, n. 1, p. 249–256, 30 abr. 2018. DOI: <https://doi.org/10.3738/1982.2278.1700>.

FRIEDRICH, Karen; SOARES, Vicente Eduardo; AUGUSTO, Lia Giraldo da Silva; GURGEL, Aline do Monte; SOUZA, Murilo Mendonça Oliveira de; ALEXANDRE, Veruska Prado; CARNEIRO, Fernando Ferreira. Agrotóxico: mais venenos em tempos de retrocessos de direitos. **OKARA: Geografia em debate**, v. 12, n. 2, p. 326, 12 ago. 2018. DOI: <https://doi.org/10.22478/ufpb.1982-3878.2018v12n2.41320>.

GOOGLE EARTH PRO. Brasília: Vexcel imaging, US inc. 2025.

GREGORI, Pedro - México proíbe herbicida Glifosato e outros países do continente limitam seu uso. **Publica – Agência de Jornalismo Investigativo**, 28 jan. 2021. Disponível em: <https://encurtador.com.br/lzYZ0> . Acesso em: 02 de maio de 2024.

GUIMARÃES, Luis Henrique S.; PEIXOTO-NOGUEIRA, Simone C.; MICHELIN, Michele; RIZZATTI, Ana Carolina S.; SANDRIM, Valéria C.; ZANOELO, Fabiana F.; AQUINO, Ana Carla M.M.; JUNIOR, Altino B.; POLIZELI, Maria de Lourdes T. M. Screening of filamentous fungi for production of enzymes of biotechnological interest. **Brazilian Journal of Microbiology**, v. 37, n. 4, p. 474–480, 2006. DOI: <https://doi.org/10.1590/S1517-83822006000400014>

INSTITUTO BRASILEIRO DO MEIO AMBIENTE E DOS RECURSOS NATURAIS RENOVÁVEIS. **Painéis de informações de agrotóxicos**. Disponível em: <https://www.gov.br/ibama/pt-br/assuntos/quimicos-e-biologicos/agrotoxicos/paineis-de-informacoes-de-agrotoxicos/paineis-de-informacoes-de-agrotoxicos#Painel-comercializacao>. Acesso em: 02 de maio de 2024.

INSTITUTO NACIONAL DE CÂNCER. **Agrotóxico**. Disponível em: <https://www.gov.br/inca/pt-br/assuntos/causas-e-prevencao-do-cancer/exposicao-no-trabalho-e-no-ambiente/agrotoxico>. Acesso em: 1 maio 2024.

INSTITUTO NACIONAL DE METEOROLOGIA DO BRASIL – INMET. Estação Meteorológica de Observação de Superfície Automática, Brasília, DF, Brasil, 2025. Disponível em: <https://mapas.inmet.gov.br/>. Acesso em: 15 ago. 2025.

ISLAM, Faisal; WANG, Jian; FAROOQ, Muhammad A.; KHAN, Muhammad S.S. XU, Ling; ZHU, Jinwen; ZHAO, Min; MUÑOS, Stéphane; LI, Qing X.; ZHOU, Weijun. Potential impact of the herbicide 2,4-dichlorophenoxyacetic acid on human and ecosystems. **Environment International**, v. 111, n. 0160-4120, p. 332–351, 2018.

JABLONOWSKI, Nicolai David; SCHÄFFER, Andreas ; BURAUDEL, Peter. Still present after all these years: persistence plus potential toxicity raise questions about the use of atrazine. **Environmental Science and Pollution Research**, v. 18, n. 2, p. 328–331, 2010. DOI: 10.1007/s11356-010-0431-y.

JACQUES; R. J. S.; BENTO, F. M.; ANTONIOLLI, Z. I.; CAMARGO, F. A. O.- Biorremediação de solos contaminados com hidrocarbonetos aromáticos policíclicos. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 37, n. 4, p.1192-1201, jul./ago., 2007. Disponível em:

<https://doi.org/10.1590/S0103-84782007000400049> Acesso em: 05 de maio de 2024

LOPES, Paulo Henrique Silva; PASIN, Thiago Machado; BENASSI, Vivian Machado; NELSON, David Lee.; OLIVEIRA, Tássio Brito de; POLIZEL, Maria de Lourdes Teixeira de Moraes. Standardization of the Cultivation of Rhizopus arrhizus Using Agroindustrial Residues: High Production of Amylases in Pineapple Peel. **Brazilian Archives of Biology and Technology**, v. 67, 2024. DOI: <https://doi.org/10.1590/1678-4324-2024240293>

LUTZENBERGER, José. A. O absurdo da agricultura. **Estudos Avançados**, v. 15, p. 61–74, 1 dez. 2001. DOI: <https://doi.org/10.1590/S0103-40142001000300007>.

MACHADO, J. M.; FILHO, B. D. O.; SILVA, R. S.; POHLMANN, V. Bioprospecção de micro-organismos nativos com potencial biorremediador de solos contaminados por herbicidas. **Revista em Agronegócio e Meio Ambiente**, Maringá, v. 14, Supl. 2, e8917, 2021. Disponível em: <https://10.17765/2176-9168.2021v14Supl.2.e8917>. Acesso em: 04 de maio de 2024.

MAGALHÃES, A. F.; CALDAS, Eloisa D. Exposição e intoxicação ocupacional a produtos químicos no Distrito Federal. **RIUnB**, v. 72, p. 32–40, 1 fev. 2019. DOI: <http://dx.doi.org/10.1590/0034-7167-2017-0439>.

- MALLMANN, Viviane; ARAGÃO, Lucas Wagner Ribeiro; FERNANDES, Shaline Séfara Lopes; FERNANDES, Tauane Catilza Lopes; ARAGÃO, Roberta Fernanda Ribeiro; SILVA, Rogério César de Lara da. As Vantagens da Biorremediação na Qualidade Ambiental. **Ensaios e Ciência**, v. 23, n. 1, p. 12-15, 2019. DOI: <https://doi.org/10.17921/1415-6938.2019V23N1P12-15>
- MANDELS, M.; ANDREOTTI, R.; ROCHE, C.- Measurement of saccharifying cellulase. **Biotech. Bioeng. Symp.**, 16: 21-3, 1976.
- MEHARG, Andrew A. **The potential for utilizing mycorrhizal associations in soil bioremediation**. Cambridge: Cambridge University Press, p. 445–455, 2001. Disponível em: <https://www.cambridge.org/core/books/abs/fungi-in-bioremediation/potential-for-utilizing-mycorrhizal-associations-in-soil-bioremediation/A63C4D18EA90897BB0636FAF42B9937C>
- MELLO F. A., FAGIANI, M. A. B., SILVA R. C. R., & Nai, G. A. (s.d.). Agrotóxicos: impactos ao meio ambiente e à saúde humana. **Universidade do Oeste Paulista**, São Paulo, 2019. DOI: <https://doi.org/10.5747/cv.2019.v11.n2.v262>. Acesso em: 02 de maio de 2024.
- MILLER, G. L. Use of dinitrossalicylic acid reagent determination of reducing sugars. **Anal. Chem.**, 31: 426- 428, 1969.
- MORAES, P. V. D.; ROSSI, P. Comportamento ambiental do glifosato. **Scientia Agraria Paranaensis**, v. 9, n. 3, p. 22-35, 2010. DOI: <https://doi.org/10.18188/sap.v9i3.5258>. Disponível em: <https://saber.unioeste.br/index.php/scientiaagraria/article/view/5258>. Acesso em: 30 de abril de 2024.
- MOREIRA, F. M. S.; SIQUEIRA, J. O. **Microbiologia e bioquímica do solo**. 2. ed. Lavras: UFLA, 2006. 729 p. <https://www.bibliotecaagptea.org.br/agricultura/biologia/livros/MICROBIOLOGIA%20E%20BIOQUIMICA%20DO%20SOLO.pdf>
- NATIONAL PESTICIDE INFORMATION CENTER. 2,4-D Technical Fact Sheet. Oregon, 2008. Disponível em: <https://npic.orst.edu/factsheets/archive/2,4-DTech.html>. Acesso em: 10 ago. 2025.
- NATIONAL PESTICIDE INFORMATION CENTER. Glyphosate Technical Fact Sheet. Oregon, 2010. Disponível em: <https://npic.orst.edu/factsheets/archive/glyphotech.html>. Acesso em: 10 ago. 2025.
- NITZU, Eugen; VLAICU, Marius; GIURGINCA, Andrei; MELEG, Ioana N.; POPA, Ionut; NAE, Augustin; BABA, Ștefan. University of Bucharest Assessing preservation priorities of caves and karst areas using the frequency of endemic cave-dwelling species. **International Journal of Speleology**, v. 47, n. 1, 2018. Disponível em: <https://digitalcommons.usf.edu/ijs/vol47/iss1/4/>
- OLIVEIRA, Letícia Helena Guedes; SILVA, Cláudio Henrique Cerri e. Análise do potencial enzimático de fungos filamentosos visando a biorremediação de solos tratados com glifosato e 2-4D. **Programa de Iniciação Científica - PIC/UniCEUB**, 2023. DOI: <https://doi.org/10.5102/pic.n0.2021.8925>
- OLIVEIRA, Thaynara M. de; CARNEIRO, Fernanda M.; WASTOWSKI, Isabela. J. Pesticidas em Ecossistemas Aquáticos e sua Interação com Algas e Cianobactérias: Uma Análise Cienciométrica. **Fronteiras: Journal of Social, Technological and Environmental**

*Science*, v. 11, n. 1, p. 88–111, 29 abr. 2022. DOI: <https://doi.org/10.21664/2238-8869.2022v11i1.p88-111>.

PAPINI, S.; ANDRÉA, M. M. Ação de minhocas *Eisenia foetida* sobre a dissipação dos herbicidas simazina e paraquat aplicados no solo. *Revista Brasileira de Ciência do Solo*, v. 28, n. 1, p. 67–73, fev. 2004. DOI: <https://doi.org/10.1590/S0100-06832004000100007>

PARDO, A. G.; FORCHIASSIN, F. Influence of temperature and pH on cellulase activity and stability in *Nectria catalinensis*. *Revista Argentina De Microbiologia*, v. 31, n. 1, p. 31–35, 1999. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/10327458/>

PAULA, Caio C.P. de; MONTOYA, Quimi V.; MEIRELLES, Lucas A.; FARINAS, Cristiane S.; RODRIGUES, André; SELEGHIM, Mirna H. R. High cellulolytic activities in filamentous fungi isolated from an extreme oligotrophic subterranean environment (Catão cave) in Brazil. *Anais da Academia Brasileira de Ciências*, v. 91, n. 3, 2019. DOI: <https://doi.org/10.1590/0001-3765201920180583>

PEREIRA, A.R.B; FREITAS, D.A.F. - Uso de microrganismos para a Biorremediação de ambientes impactados. *Rev. Elet. em Gestão, Educação e Tecnologia Ambiental* (e-ISSN:2236-1170), v(6), nº6,p.975-1006, 2012.

PETTERSON, G. L. A simplification of the protein assay method of Lowry *et al.* which is more generally applicable. *Anal. Biochem.*, 83: 243-249, 1977.

RENDÓN-VON OSTEN, Jaime; DZUL-CAAMAL, Ricardo. Glyphosate Residues in Groundwater, Drinking Water and Urine of Subsistence Farmers from Intensive Agriculture Localities: A Survey in Hopelchén, Campeche, Mexico. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, v. 14, n. 6, p. 595, 2017. Disponível em: <https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC5486281/>

ROCHA, A. F.; SIQUIEROLI, A. C.; SILVA, A. de A.; CARNEIRO, A. M. de L.; VASCONCELOS, B. N. F.; GONDIM, D. D. R. Indicadores de Qualidade do Solo em Sistemas Agroecológicos no Cerrado Mineiro. *Sociedade & natureza*, v. 34, n. 1, 2022.

Santos, H. G. dos; Carmargo, M. N.; Larach, J. O. I.; Jacomine, P. K. T.; Carvalho, A. P. de. **Definição e notação de horizontes e camadas do solo**. Rio de Janeiro: Embrapa Solos. 1983. 34 p. Disponível em : <https://www.embrapa.br/busca-de-publicacoes/-/publicacao/987426/definicao-e-notacao-de-horizontes-e-camadas-do-solo>

ROSÁRIO, J. D. **Sedimentos clásticos em cavernas da região cárstica de Lagoa Santa (MG): origem, mecanismos de deposição e estratigrafia**. Dissertação (Programa de Pós Graduação em Geografia e Análise Ambiental) – Universidade Federal de Minas Gerais. Belo Horizonte, p. 131. 2021.

SALATI, P. **Liberação de agrotóxicos cai no Brasil em 2023, após sete anos seguidos de alta**. Disponível em: <https://g1.globo.com/economia/agronegocios/noticia/2024/01/10/liberacao-de-agrotocicos-cai-no-brasil-em-2023-apos-sete-anos-seguidos-de-alta.ghtml>. Acesso em: 1 maio 2024.

SCHABEREITER-GURTNER, Claudia; SAIZ-JIMENEZ, Cesareo; PIÑAR, Guadalupe; LUBITZ, Werner; RÖLLEKE, Sabine. Phylogenetic diversity of bacteria associated with Paleolithic paintings and surrounding rock walls in two Spanish caves (Llonín and La Garma). *FEMS Microbiology Ecology*, v. 47, n. 2, p. 235–247, 2004.

SERBENT, M. P.; GUIMARÃES, D. K. S.; DRECHSLER-SANTOS, E. R.; HELM, C. V.; GIONGO, A.; TAVARES, L. B. B. Growth, enzymatic production and morphology of the white-rot

- fungi *Lentinus crinitus* (L.) Fr. upon 2,4-D herbicide exposition. **International Journal of Environmental Science and Technology**, 2020. DOI: <https://doi.org/10.1007/s13762-020-02693-1>. Acesso em: 29 de abril de 2024.
- SILVA, Claudio Henrique Cerri; PLUS, Jurgen; SOUSA, Marcelo Valle de; FERREIRA FILHO, Edivaldo Ximenes. Purification and characterization of a low molecular weight xylanase from solid-state cultures of *Aspergillus fumigatus fresenius*. **Revista de Microbiologia**, Brasília, 1999. Disponível em: <https://www.scielo.br/j/rm/a/N9R5cpJwrDwGSwMdtJkhWHw/>. Acesso em: 29 de abril de 2024.
- SILVA, Ludmila Aglai da; SOARES, Marcus Alvarenga; AGUIAR, Luciana Monteiro; FERREIRA, Caroline Conrado; VIEIRA, Estela Rosana Durães; SANTOS, José Barbosa dos. Aspectos biológicos de *Tetranychus ludeni* Zacher, 1913 (Acari: *Tetranychidae*) alimentados com folhas de batata-doce pulverizadas com o 2,4-D. **Arquivos do instituto biológico/Arquivos do Instituto Biológico**, v. 84, 22 jan. 2018.
- SILVA, Rosa Elvira Areias da. **Avaliação da atividade antimicrobiana de fungos e actinobactérias endofíticos isolados de *Conyza bonariensis* (L.) Cronquist. (Rabo-de-Raposa)**. Orientadora: Janete Magali de Araújo. Dissertação (Mestrado). Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia de Produtos Bioativos, Universidade Federal de Pernambuco, Recife, 2006. Disponível em: <https://repositorio.ufpe.br/handle/123456789/1689>. Acesso em: 18 fev. 2025.
- SIMON, Kevin S. Cave Ecosystems. In: WHITE, William B.; CULVER, David C.; PIPAN, Tanja. **Encyclopedia of caves**. Londres: Academic Press, 2019. cap. 26, p. 223-226.
- SPADOTTO, C. A.; GOMES, M. A. F. **Agrotóxicos no Brasil - Portal Embrapa**. Disponível em: <https://www.embrapa.br/agencia-de-informacao-tecnologica/tematicas/agricultura-e-meio-ambiente/qualidade/dinamica/agrotoxicos-no-brasil>. Acesso em: 1 maio 2024.
- TEIXEIRA, Flaviane Borges; GONÇALVES, Ester Vieira; CARNEIRO, Fernanda Melo; SANTOS, Solange Xavier; CARAMORI, Samantha Salomão. EFEITOS DAS CONDIÇÕES DE CULTIVO PARA OBTENÇÃO DE PELLETS FÚNGICOS. **Revista Agrotecnologia-Agrotec**, v. 14, n. FluxoCont, p. 27-33, 2023.
- TORTORA, Gerard J.; FUNKE, Berdell R.; CASE, Christine L. **Microbiologia**. Grupo A, 2017. E-book. ISBN 9788582713549. Disponível em: <https://integrada.minhabiblioteca.com.br/#/books/9788582713549/>. Acesso em: 1 mai. 2024.
- UENO, A. **Substâncias químicas descartadas no ambiente podem contaminar o ser humano de diversas formas**. Disponível em: <https://jornal.usp.br/radio-usp/substancias-quimicas-descartadas-no-ambiente-podem-contaminar-o-ser-humano-de-diversas-formas/>. 2023. Acesso em: 4 maio. 2024.
- VEIGA, Marcelo. M.; VEIGA, Lilian B. E.; SILVA, Dalton M. Eficiência da Intervenção Legal da Destinação Final de Embalagens Vazias de Agrotóxicos. In: Congresso brasileiro de Ciência e Tecnologia em Resíduos e Desenvolvimento Sustentável. 1., 2004. Florianópolis. **Anais**. Florianópolis: ICTR, 2004. Disponível em: <https://www.ipen.br/biblioteca/cd/ictr/2004/ARQUIVOS%20PDF/01/01-034.pdf>. Acesso em: 2 maio 2024.
- VEIGA, Marcelo Motta. Agrotóxicos: eficiência econômica e injustiça socioambiental. **Ciência & Saúde Coletiva**, v. 12, p. 145–152, 1 mar. 2007. DOI: <https://doi.org/10.1590/S1413-81232007000100017>