

UNIVERSIDADE DO ESTADO DO AMAPÁ - UEA
ESCOLA NORMAL SUPERIOR - ENS
LICENCIATURA EM CIÊNCIAS BIOLÓGICAS

ANÁLISE DE DEGRADAÇÃO DO HERBICIDA GLIFOSATO POR FUNGOS
ISOLADOS DA BACIA DO TARUMÃ AÇU

Manaus – AM

2025

IAGO CORRÊA BATISTA

ANÁLISE DE DEGRADAÇÃO DO HERBICIDA GLIFOSATO POR FUNGOS
ISOLADOS DA BACIA DO TARUMÃ AÇU

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado
ao Curso de Licenciatura em Ciências
Biológicas da Universidade do Estado do
Amazonas-UEA, como requisito final para
obtenção do título de graduado em Ciências
Biológicas.

Orientador (a): Prof Dr. Rudi Emerson de
Lima Procópio

Co-orientadora: Prof^a Dr^a Ieda Hortêncio Batista

Manaus – AM

2025

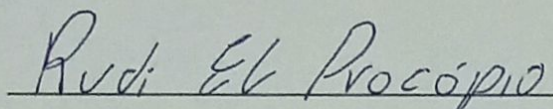
IAGO CORRÊA BATISTA

**ANÁLISE DE DEGRADAÇÃO DO HERBICIDA GLIFOSATO POR FUNGOS
ISOLADOS DA BACIA DO TARUMÃ AÇU**

Monografia apresentada ao Curso de Licenciatura em Ciências Biológicas, da Escola Normal Superior - ENS, da Universidade do Estado do Amazonas - UEA, como requisito final para obtenção do título de graduado em Ciências Biológicas.

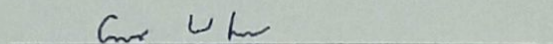
Aprovado em: 26/05/2015

BANCA EXAMINADORA



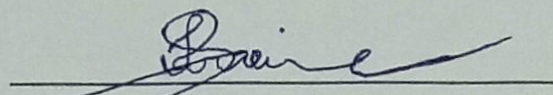
Prof. Dr. Rudi Emerson de Lima Procópio – UEA

Orientador (Presidente)



Prof. Dr. André Miasato Higa- UEA

Membro Titular



Prof. Dr. Francisca da Silva Ferreira – UEA

Membro Titular

Ficha Catalográfica

Ficha catalográfica elaborada automaticamente de acordo com os dados fornecidos pelo(a) autor(a).
Sistema Integrado de Bibliotecas da Universidade do Estado do Amazonas.

B333a

Batista, Iago Corrêa

Análise de degradação do herbicida glifosato por fungos isolados da Bacia do Tarumã Açu / Iago Corrêa Batista . Manaus : [s.n], 2025.
29 f.: color.; 21,0 cm.

TCC - Graduação em Ciências Biológicas- Licenciatura-
Universidade do Estado do Amazonas, Manaus, 2025.

Inclui Bibliografia.

Orientador: Procópio, Rudi Emerson de Lima.

Coorientador: Batista, Ieda Hortêncio.

1. Biodegradação. 2. Herbicida. 3. Impacto ambiental. 4.
Isolamento. 5. Rio Negro.. I. Procópio, Rudi Emerson de Lima
(Orient.) II . Batista, Ieda Hortêncio (Coorient.) III. Universidade do
Estado do Amazonas. IV. Título

CDU(1997)57

AGRADECIMENTOS

A Deus, pois apenas ele sabe o quanto pedi por essa graduação, permitindo a realização de um sonho de infância.

Aos meus pais por sempre apoiarem minhas escolhas profissionais, permitindo minha autonomia, enfatizando inúmeras vezes que a educação é o melhor caminho a seguir, obrigado pelos esforços para que eu e meus irmãos tivéssemos boas oportunidades, mãe e pai.

Minha amiga Bruna Eloísa, por me informar sobre minha aprovação, pois eu já havia desistido da possibilidade de aprovação..

Aos meus amigos de longa data e demais colegas, Isabel Maia, Jovana Cardoso, Bruno Toga, Bianca Nadini e José Everton, por ajudarem de maneira direta e indireta em momentos cruciais, a graduação não seria a mesma sem vocês.

Minha amiga e colega de laboratório Rebeca Trícia, aquela que considero minha primeira orientadora, compartilhando não apenas conhecimentos acadêmicos, mas também de vida, garantindo boas risadas, tornando o trabalho no laboratório mais prazeroso.

Aos meus amigos mais próximos e futuros colegas de trabalho, Marlon Farias e Yasmim Santos, por compartilharem o mesmo interesse pela microbiologia, sendo pessoas importantes na minha carreira acadêmica e vida pessoal, presentes nos momentos mais importantes, fáceis ou difíceis, sempre me incentivando a prosseguir.

Minha amiga Milene Bentes que esteve sempre a disposição em auxiliar sempre que necessário, possuindo as informações necessárias para diversos tipos de processos, além dos inúmeros momentos de descontração que valorizo muito.

Meu amigo Anderson Andrade por auxiliar sempre que solicitado, compartilhando o que sabia e cedendo o que podia.

Meu amigo Esaú Carvalho, por compartilhar as experiências acadêmicas que já possuía e pelos feedbacks, além dos bons momentos que apenas ele sabe proporcionar.

Agradeço aos Drs Rudi Emerson, Ieda Hortêncio, Larissa Kirsch e Evelyn Lira por estarem presentes no meu desenvolvimento profissional, sendo fortes influências na minha escolha de área de atuação, sendo pessoas que admiro e enxergo como inspiração.

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	9
2. OBJETIVOS	12
2.1 Geral	12
2.2 Específicos	12
3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	13
4. MATERIAL E MÉTODOS	17
4.1. Coletas de material biológico	17
4.2 Isolamento e purificação das linhagens fúngicas	17
4.3 Caracterização macromorfológica e micromorfológica	18
4.4 Avaliação da degradação do glifosato	19
4.4.1 Screening preliminar	19
4.4.2 Avaliação de isolados quanto a utilização de glifosato como fonte de carbono e fósforo	19
4.4.3 Cromatografia de camada delgada	20
5. RESULTADOS	22
5.1. Isolamento e identificação dos fungos isolados da Bacia do Tarumã	22
5.2 Avaliação de isolados quanto a utilização de glifosato como fonte de carbono e fósforo	22
6. DISCUSSÃO	25
7. CONCLUSÃO	26
8. REFERÊNCIAS	27

RESUMO

Os fungos são microrganismos eucariontes, heterótrofos que se alimentam por absorção, excretando enzimas no substrato e absorvendo os nutrientes liberados. Essa característica torna-os aliados da biorremediação, visto que os metabólitos que produzem podem degradar diversas substâncias, dependendo das condições e características fisiológicas do microrganismo. A biorremediação é o processo de uso de organismos vivos para reduzir ou eliminar poluentes, sendo uma alternativa ecologicamente viável e com menores custos, ideal para a recuperação de áreas degradadas. Lançamentos de esgoto, atividades industriais e o uso intensivo de agrotóxicos na agricultura são fontes de contaminação de solos e recursos hídricos. Isso preocupa pela saúde humana e a biodiversidade, pois esses poluentes, frequentemente tóxicos, afetam as nascentes e podem causar danos à saúde e reduzir a qualidade de vida. Os agrotóxicos, como pesticidas, fungicidas e herbicidas, têm impactos ambientais e de saúde quando usados de forma indiscriminada. O glifosato, o herbicida mais utilizado mundialmente, é prejudicial à saúde humana e ao meio ambiente, sendo genotóxico, citotóxico e pode causar distúrbios neurológicos e outros problemas de saúde. A Bacia Hidrográfica do Tarumã-Açu, situada em Manaus, é uma bacia periurbana que integra um complexo hídrico. Suas águas pretas, ácidas e ricas em compostos orgânicos, são decompostas por microrganismos aquáticos, formando uma base para a cadeia trófica local. Apesar de estudos sobre a recuperação de áreas afetadas por agrotóxicos, há poucas pesquisas sobre a biorremediação e biodegradação de herbicidas por fungos aquáticos. Com o objetivo de examinar o potencial biorremediador dos fungos isolados da Bacia do Tarumã, foram selecionados 3 isolados fúngicos (*Aspergillus* F2P3, *Penicillium* F3P2 e *Trichoderma* F4P3) da Bacia Hidrográfica do Rio Tarumã Açu. Para avaliar a degradação do glifosato e sua possível utilização como fonte de carbono e fósforo, os isolados foram cultivados em meios de cultura I) czapek com baixa concentração de sacarose (2,35 g/L), II) meio contendo baixa concentração de sacarose com adição de KH_2PO_4 e III) meio contendo baixa concentração de sacarose com adição de glifosato (2,35g/L) por 14 dias a 28°C sob agitação de 150 rpm. Os isolados apresentaram resultados negativos quando cultivados no meio czapek com baixa concentração de sacarose e suplementado com 2,35 g/L de glifosato não apresentando crescimento, sendo verificado por cromatografia a presença do herbicida, comprovando sua não degradação, sendo possível concluir que os fungos analisados não apresentam potencial para biodegradar o glifosato.

Palavras chave: Biodegradação; Herbicida; Impacto ambiental; Isolamento; Rio Negro.

ABSTRACT

Fungi are eukaryotic microorganisms, heterotrophic, and feed by absorption, excreting enzymes onto the substrate and absorbing the released nutrients. This characteristic makes them allies of bioremediation, as the metabolites they produce can degrade various substances depending on the conditions and physiological traits of the microorganism. Bioremediation is the process of using living organisms to reduce or eliminate pollutants, serving as an ecologically viable and cost-effective alternative, ideal for the recovery of degraded areas. Sewage discharges, industrial activities, and the intensive use of pesticides in agriculture are sources of soil and water contamination. This raises concerns for human health and biodiversity because these pollutants, often toxic, affect water springs and can cause health problems and reduce quality of life. Pesticides, such as fungicides, herbicides, and insecticides, have environmental and health impacts when used indiscriminately. Glyphosate, the most widely used herbicide in the world, is harmful to human health and the environment, being genotoxic, cytotoxic, and potentially causing neurological disorders and other health issues. The Tarumã-Açu Watershed, located in Manaus, is a periurban basin that integrates a complex water system. Its black, acidic waters, rich in organic compounds, are decomposed by aquatic microorganisms, forming the base of the local food chain. Although there have been studies on the recovery of areas affected by pesticides, there is limited research on the bioremediation and biodegradation of herbicides by aquatic fungi. To examine the bioremediation potential of fungi isolated from the Tarumã Basin, three fungal isolates (*Aspergillus* F2P3, *Penicillium* F3P2, and *Trichoderma* F4P3) from the Tarumã-Açu River Basin were selected. To evaluate the degradation of glyphosate and its possible use as a source of carbon and phosphorus, the isolates were cultured in media I) Czapek with a low concentration of sucrose (2.35 g/L), II) medium containing low concentration of sucrose with the addition of KH_2PO_4 , and III) medium containing low concentration of sucrose with the addition of glyphosate (2.35 g/L) for 14 days at 28°C with agitation at 150 rpm. The isolates showed negative results when cultured in the Czapek medium with low sucrose concentration and supplemented with 2.35 g/L of glyphosate, showing no growth. Chromatography confirmed the presence of the herbicide, proving its non-degradation. It was concluded that the analyzed fungi do not have the potential to biodegrade glyphosate.

Keywords: Biodegradation; Herbicide; Environmental impact; Isolation; River Negro.

1. INTRODUÇÃO

A Bacia Hidrográfica do Tarumã-Açu está situada na cidade de Manaus, capital do Estado do Amazonas. É classificada como uma bacia periurbana já que está localizada na área de transição entre as zonas urbana e rural do município, formando junto com as bacias do Puraquequara, São Raimundo e Educandos, um complexo hídrico (Siqueira, 2019).

É um rio de águas pretas, afluente da margem esquerda do Rio Negro, que possui tal coloração devido a decomposição de materiais orgânicos, mediada em parte por microrganismos aquáticos. As águas da Bacia do Tarumã são naturalmente ácidas, apresentando pH com valor médio de 5,26, devido à presença de ácidos húmicos e fúlvicos, com temperatura média anual de 27° C, característica comum dos rios de águas pretas do Amazonas (Costa, 2020; Horbe, 2008).

Segundo Krauss (2011), a maior parte da matéria orgânica encontrada em rios e lagos temperados é proveniente da vegetação que circunda suas margens, decomposta por fungos e bactérias do meio aquático. Além de atuarem como decompositores de matéria, esses microrganismos, também compõem a base da cadeia trófica, colonizando o substrato alóctone, adicionando ao material orgânico compostos nitrogenados, enriquecendo e tornando-o mais atrativo para os detritívoros por apresentar maior concentração proteica (Krauss, 2011; Moreira, 2010).

Os fungos são microrganismos eucariontes, heterótrofos que se alimentam por absorção, excretando enzimas no substrato em que estão crescendo, posteriormente absorvendo os nutrientes liberados após a ação dessas proteínas. Essa característica os torna aliados da biorremediação, uma vez que os metabólicos que produzem apresentam potencial para degradar diferentes tipos de substâncias, em função das condições a qual o microrganismo é submetido e suas características fisiológicas (Colla, 2008; Francisco, 2018).

Práticas como lançamentos de esgoto, atividades industriais e a agricultura, com o uso intensivo de agrotóxicos, estão entre as principais ações contaminantes de solos e recursos hídricos. A degradação desses ecossistemas gera preocupação quanto às espécies que dependem desses ambientes e também quanto à saúde humana, já que esses poluentes, geralmente de caráter tóxico, em contato com nascentes ou em forma de gases causam graves danos à saúde, reduzindo a qualidade de vida dos indivíduos (Francisco, 2018; Pereira, 2012; Soares, 2011).

Entre as substâncias poluentes, tem-se os agrotóxicos, produtos que têm por objetivo, destruir pragas e eliminar doenças que podem atacar as plantações. São classificados como

pesticidas, fungicidas e herbicidas. Tais produtos, quando utilizados de forma indiscriminada, podem causar impactos graves, não apenas ambientais, mas contaminando alimentos consumidos pela população (Corrêa, 2022).

O herbicida mais utilizado mundialmente é o glifosato, produto amplamente utilizado em plantações domésticas, jardinagem e em grandes culturas agrícolas, como a soja e milho. Seu uso está presente durante todas as etapas do cultivo, desde o preparo da terra antes do plantio, ao decorrer do crescimento da plantação, combatendo ervas daninhas que prejudicam o desenvolvimento do cultivo, e na etapa final como dessecante para acelerar o processo de colheita. O glifosato é um produto tóxico, vinculado a várias doenças crônicas aos seres humanos e alterações ambientais preocupantes (Corrêa, 2013; Freitas, 2022).

Esse herbicida é prejudicial à saúde humana, visto seu caráter genotóxico aos linfócitos, por induzir a proliferação celular através dos receptores de estrogênio em células tumorais mamárias, apresentar efeito citotóxico na pele relacionado a distúrbios oxidativos, induzir o colapso da membrana mitocondrial nas células pulmonares, e no sistema neural, está relacionado a distúrbios do sistema emocional e neurodegenerativo (Freitas, 2022).

Para eliminar o poluente do meio, tem-se como alternativa a biorremediação, descrita por Gaylarde (2005) como processo em que são utilizados organismos vivos, para reduzir ou eliminar poluentes e contaminantes, encontrados no meio, sendo uma alternativa ecologicamente aceitável, por apresentar menores custos, ser menos agressiva ao meio ambiente ideal para recuperação de regiões degradadas. Método aplicável em ambientes variados, como ambientes aquáticos, solos, aterros ou áreas de contenção (Gaylarde, 2005; Machado, 2018; Souza, 2021).

O uso de fungos tem destaque nos processos de remoção de substâncias contaminantes de ambientes gravemente prejudicados. Sua aplicação ocorre pela resistência dos microrganismos autóctones aos compostos, como, metais pesados, agrotóxicos, substâncias recalcitrantes e resíduos da indústria têxtil, com vasto histórico de aplicação em solos (Pereira, 2012; Soares, 2011).

Porém, mesmo com as pesquisas atuais envolvendo a recuperação de regiões flageladas por agrotóxicos, há um número limitado de estudos relacionando a biorremediação e a biodegradação de herbicidas por fungos isolados de ambientes aquáticos.

Portanto, o presente estudo sobre a biorremediação do herbicida glifosato com o uso de fungos isolados da Bacia Hidrográfica do Rio Tarumã Açu, como *Aspergillus sp*, *Trichoderma sp* e *Penicillium sp*, pode contribuir para a compreensão desses processos de

remediação ambiental e para o desenvolvimento de tecnologias mais eficazes e sustentáveis para o tratamento de águas ou solos contaminados.

2. OBJETIVOS

2.1 Geral

- Examinar o potencial biodegradador de fungos isolados da Bacia do Tarumã.

2.2 Específicos

- Isolar fungos da Bacia do Tarumã.
- Realizar a caracterização morfológica dos fungos isolados.
- Verificar se os fungos isolados da Bacia do Tarumã podem ser utilizados como biodegradadores do herbicida glifosato.
- Realizar identificação molecular dos fungos que apresentarem resultados positivos.

3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

Degradação de ecossistemas

Com o crescimento populacional e alta demanda de produção de bens tem -se consequentemente o aumento das atividades industriais, que com a deposição inadequada de resíduos, contribuem para a poluição ambiental. Lançamentos de esgoto, atividades industriais e a agricultura, com o uso intensivo de agrotóxicos, estão entre as principais práticas poluentes, atingindo solos, fontes de água superficiais e subterrâneas, modificando as características naturais do ambiente, afetando inúmeras espécies com esse processo (Pereira, 2012; Silva, 2017; Soares, 2011).

A degradação desses ecossistemas afeta não só espécies silvestres que dependem de seu equilíbrio para sobreviver, mas também influencia na qualidade de vida humana, uma vez que esses poluentes, geralmente de caráter tóxico, podem culminar em graves danos à saúde, de maneira indireta, pela ingestão de alimentos ou água contaminada e inalação de gases tóxicos, ou de maneira direta, pelo contato com as substâncias poluentes (Machado, 2018; Pereira, 2012).

Agrotóxicos

Os agrotóxicos são produtos que têm por objetivo, destruir pragas e eliminar doenças que podem atingir as plantações. Podem ser classificados como inseticidas, fungicidas e herbicidas, combatendo respectivamente insetos, fungos e espécies de plantas invasoras ou parasitas. Tais produtos quando utilizados de forma exagerada e indiscriminada, produzem impactos ambientais graves, principalmente por sua persistência no ambiente.(Corrêa, 2015; Freitas, 2019).

Em solos, os agrotóxicos interferem diretamente na ciclagem de matéria, já que afetam os microrganismos responsáveis por esse processo. Porém, também há o transporte dessas substâncias por processos como lixiviação e escoamento superficial, ocasionando o translocamento das moléculas para camadas mais profundas do solo, que podem atingir e contaminar as águas subterrâneas, e com o escoamento superficial, há a contaminação das águas superficiais. A presença de agrotóxicos no ambiente pode ainda ocasionar em bioacumulação, quando esses compostos químicos são acumulados nos tecidos de um organismo vivo com o decorrer do tempo, afetando toda a cadeia trófica, além de interferir no metabolismo das espécies presentes (Corrêa, 2013; Yokoyama, 2023).

Além da sua persistência no ambiente, os agrotóxicos também podem atuar no surgimento de pragas resistentes, causar morte de larvas e animais aquáticos e ser tóxico ao

ser humano, relacionado à doenças respiratórias, dermatites e mutações celulares que podem resultar em câncer e alterações endócrinas. Além disso, os agrotóxicos também podem influenciar na reciclagem da matéria orgânica realizada por microrganismos, já que nem todos apresentam resistência a esses compostos (Corrêa, 2015; Yokoyama, 2023).

Glifosato (C₃H₈NO₅P– n-(fosfometil)glicina)

O glifosato (C₃H₈NO₅P– n-(fosfometil)glicina), exemplo de agrotóxico, é uma das moléculas herbicidas de maior participação no mercado mundial, com mais de 150 marcas comerciais sendo comercializado em mais de 119 países (Moraes, 2010). Essa vasta comercialização é resultado de sua ampla translocação nas plantas, proporcionando um controle eficaz, com baixa toxicidade a outros organismos. Entretanto, quando atingem os sistemas aquáticos por meio de várias rotas como de escoamento superficial e lixiviação, os agrotóxicos podem causar alterações nesses ecossistemas, uma vez que ao afetar os organismos vivos, alteram a composição das comunidades aquáticas, interferindo nas relações tróficas e nos ciclos biogeoquímicos, portanto, modificando a estrutura e o funcionamento dos ecossistemas aquáticos (Campos, 2015; Corrêa, 2022; Yokoyama, 2023).

Este herbicida é utilizado tanto nas plantações domésticas, para jardinagem, como também em grandes culturas agrícolas, como a soja e milho. Seu uso está presente em todas as etapas, desde o preparo da terra antes do plantio, durante o crescimento da plantação, no combate às ervas daninhas, que prejudicam o crescimento do cultivo, e na etapa final como dessecante para acelerar o processo da colheita (Campos, 2015; Freitas, 2022).

O herbicida está vinculado a várias doenças crônicas aos seres humanos, visto que possui caráter genotóxico aos linfócitos, induz a proliferação celular através dos receptores de estrogênio em células tumorais mamárias, apresenta efeito citotóxico na pele relacionado a distúrbios oxidativos, induz o colapso da membrana mitocondrial e no sistema neural está relacionado a distúrbios do sistema emocional e neurodegenerativo (Freitas, 2022).

Bacia hidrográfica do Rio Tarumã Açu

A Bacia Hidrográfica do Tarumã-Açu está situada na cidade de Manaus, capital do Estado do Amazonas. É classificada como uma bacia periurbana já que está localizada na área de transição entre as zonas urbana e rural do município, formando junto com as bacias do Puraquequara, São Raimundo e Educandos, um complexo hídrico (Siqueira, 2019).

É um rio de águas pretas, afluente da margem esquerda do Rio Negro, que possui tal coloração devido a decomposição de materiais orgânicos, mediada em parte por microrganismos aquáticos. As águas da Bacia do Tarumã são naturalmente ácidas,

apresentando pH com valor médio de 5,26, devido à presença de ácidos húmicos e fúlvicos, com temperatura média anual de 27° C, característica comum dos rios de águas pretas do Amazonas (Costa, 2020; Horbe, 2008).

Glifosato nas águas do Amazonas

Em seu estudo, Silva (2016) verificou o uso de agrotóxicos em plantações de mandioca da região amazônica. Como resultados, apontou que 84% das propriedades rurais faziam uso desse implemento agrícola, onde 87% dos entrevistados afirmou utilizar o herbicida glifosato ($C_3H_8NO_5P$ – n-(fosfometil)glicina) para combater as ervas daninhas, destacando que não existe um padrão de aplicação recomendado para a cultura. A quantidade de herbicida aplicada é estabelecida ao acaso, variando em decorrência da quantidade de ervas daninhas presentes no ambiente sem obedecer critérios técnicos, sendo portanto aplicado de maneira indiscriminada (Silva, 2016).

O risco da utilização do glifosato de maneira exacerbada está na sua não metabolização pela planta, processo recorrente. Com sua adsorção, o herbicida pode persistir durante anos no solo. Além disso, os processos de transporte como lixiviação e escoamento superficial possibilitam o translocamento das moléculas de herbicidas para as camadas profundas do solo, podendo atingir e contaminar as águas subterrâneas, bem como o escoamento superficial favorece a contaminação das águas superficiais, devido ao transporte do herbicida adsorvido nas partículas do solo erodido ou em solução, afetando comunidades aquáticas, como descrito por Freitas (2019) em seu estudo com caranguejos de água doce, detectando o herbicida na água, posteriormente avaliando os efeitos sobre a espécie (Freitas, 2019; Silva, 2014; Silva, 2016).

Biorremediação

A biorremediação é definida como processo onde são utilizados organismos vivos, normalmente plantas ou microrganismos, como fungos e bactérias, objetivando reduzir ou eliminar poluentes e contaminantes, encontrados no meio, sendo uma alternativa ecologicamente aceitável, menos agressiva ao meio ambiente, mais adequada e eficaz para a manutenção do equilíbrio ecológico, reconhecida pelo baixo custo, podendo ser aplicada no tratamento de ambientes contaminados, tais como recursos hídricos, solos, além de resíduos e efluentes industriais em aterros ou áreas de contenção (Gaylarde, 2005; Machado, 2018; Souza, 2021).

Quanto à aplicação da biorremediação, há duas metodologias mais utilizadas, a bioestimulação e a bioaumentação. A primeira consiste na adição de nutrientes orgânicos e

inorgânicos que estimulam a degradação do contaminante pela microbiota autóctone através da atividade metabólica, tornando as características físicas do ambiente contaminado propício a ser biorremediado por maior atividade dos microrganismos presentes. Diferentemente, tem-se a bioaugmentação, em que se utiliza microrganismos alóctones, com ou sem a adição de fatores físicos ou químicos para o favorecimento do seu desenvolvimento, visando que esses microrganismos realizem processos que degradem as toxinas ou substâncias que estejam em excesso no ambiente. (Machado, 2018; Souza, 2021).

É possível ainda classificar a biorremediação em dois tipos: *ex situ* e *in situ*, onde a técnica *ex situ* consiste na retirada do material estudado, como solo ou efluente do local contaminado para que os mesmos sejam tratados em outro local. A remoção pode ser necessária quando há possibilidade de contaminação de pessoas e do ambiente próximo do local a ser biorremediado. Já a técnica *in situ*, é realizada no próprio local, sem que haja remoção de material contaminado, evitando custos e distúrbios ambientais associados ao movimento de solos e águas de um local contaminado para outros locais destinados ao tratamento (Francisco, 2018; Machado, 2018; Pereira, 2012).

Fungos na biorremediação

A atividade microbiana é reconhecida como um dos fatores mais importantes na eliminação de compostos químicos do ambiente, em destaque para os fungos, seres eucariontes e heterótrofos que se alimentam por absorção. São reconhecidos por sua distribuição cosmopolita, colonizando diferentes substratos, degradando diferentes substâncias, característica que os torna aliados da biorremediação, uma vez as enzimas liberadas por esses microrganismos degradam diferentes tipos de compostos, dependendo da espécie e condições a qual é submetido, possuindo vasta aplicação na biorremediação (Colla, 2008; Francisco, 2018; Soares 2011).

O uso de fungos filamentosos, tipo de fungo pluricelular, se destaca na remoção de substâncias tóxicas de ambientes gravemente contaminados. Sua utilização é justificada por sua resistência a tais substâncias como, metais pesados, agrotóxicos, substâncias recalcitrantes e resíduos da indústria têxtil. Dentre os gêneros mais utilizados na biorremediação, destacam-se *Penicillium* sp. e *Trichoderma* sp. Esses gêneros se mostraram eficazes na recuperação de ambientes degradados, como solos e ambientes aquáticos (Pereira, 2012; Soares, 2011).

4. MATERIAL E MÉTODOS

4.1. Coletas de material biológico

As amostras de água foram coletadas da Bacia do Tarumã, na Marina do Davi, Manaus (AM) em 5 pontos diferentes, distribuídos no médio e baixo curso. Todas as coletas se concentraram na superfície das águas, uma vez que se busca isolar os microrganismos concentrados nessa área. As amostras de água foram recolhidas em garrafas de vidro estéreis de 1L, mantidas a 4 °C até a chegada ao Laboratório de Microbiologia (HUB - ILUM), da Universidade do Estado do Amazonas.

Figura 1. Coleta das amostras de água da Bacia Hidrográfica do Rio Tarumã Açu



Fonte: Batista, 2024

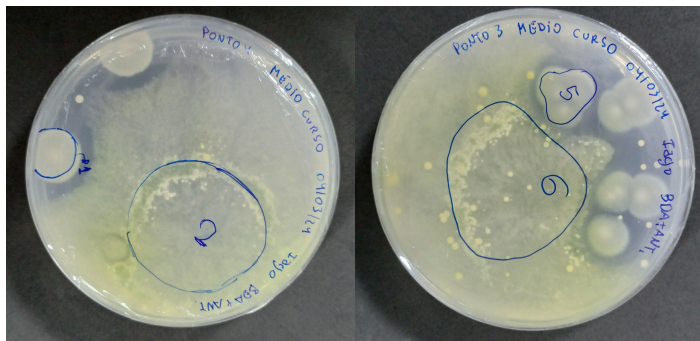
4.2 Isolamento e purificação das linhagens fúngicas

Posteriormente, foram feitas alíquotas de 100 μ L da água dos diferentes pontos coletados em placas com meios seletivos com antibiótico, ampicilina e tetraciclina, posteriormente plaqueada com a alça de Drigalski até que estivesse completamente seca. As placas foram feitas em triplicata por cada ponto de coleta, identificadas e armazenadas em BOD a 18°C.

O acompanhamento do desenvolvimento dos microrganismos foi realizado diariamente, com seu respectivo repique em duplicatas em tubos de ensaio contendo meio Sabouraud ao longo de 7 dias, buscando isolar e purificar as colônias dos fungos presentes.

Após a purificação em tubos, os fungos foram cultivados em placas de *Petri* com meio Sabouraud de maneira tripontual. Quando averiguada a purificação, a colônia foi inoculada de forma unipontual, em uma placa de *Petri*, contendo meio Sabouraud.

Figura 2. Placas de Petri com meio sabouraud 7 dias após o plaqueamento das amostras

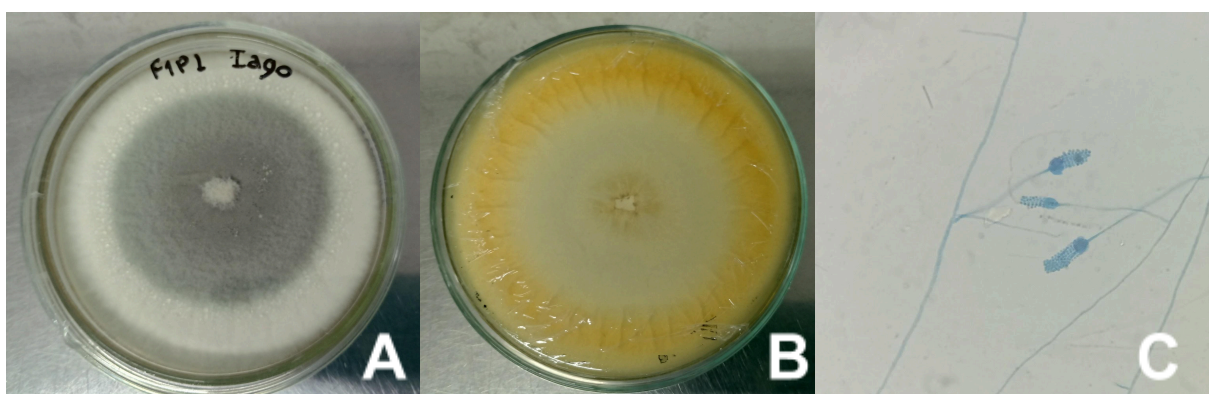


Fonte: Batista, 2024

4.3 Caracterização macromorfológica e micromorfológica

A identificação morfológica dos fungos isolados foi realizada pela inoculação de 10µl de suspensão de esporos no centro de placas de *Petri* contendo 20 mL de meio de Ágar Batata Dextrose (BDA) e as placas foram mantidas em estufa a 28°C. Durante o crescimento, os fungos foram observados quanto às características de cor, tamanho, textura da colônia e verso-reverso. Os fungos foram posteriormente submetidos à técnica de microcultivo (Riddell, 1950), para a verificação de suas características microscópicas, a fim de identificar os fungos em nível de gênero (Fontes, 2016).

Figura 3. A) Colônia de *Penicillium* sp isolado em meio BDA, B) verso da placa de *Petri*, C) lâmina corada com azul de lactofenol após técnica de microcultivo.



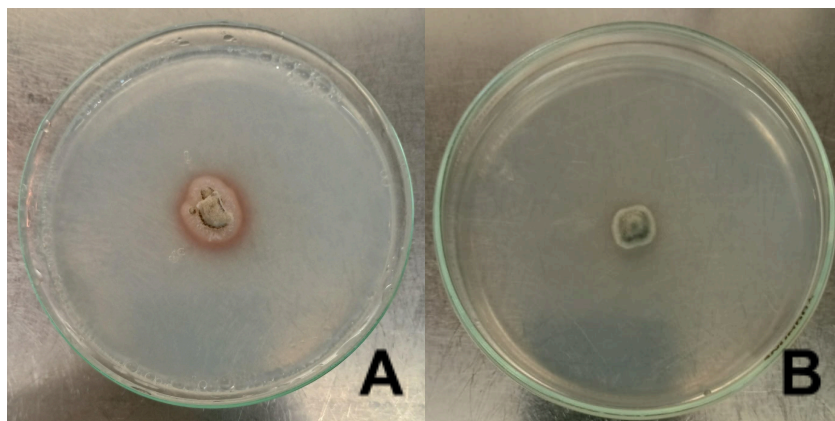
Fonte: Batista, 2024

4.4 Avaliação da degradação do glifosato

4.4.1 Screening preliminar

A metodologia aplicada foi adaptada de Oliveira (2022), onde um screening preliminar foi feito com o objetivo de avaliar a tolerância dos fungos ao herbicida glifosato. Esse teste foi conduzido em meio de cultura czapek (NaNO_3 2,0 g, K_2HPO_4 1,0 g, MgSO_4 0,5 g, KCl 0,5 g, $\text{FeSO}_4(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ 0,01 g, ágar 15,0 g para 1000 mL de água destilada), contendo concentrações crescentes do glifosato, iniciando com 0,2% e intervalo constante de 0,2%, até atingir a concentração de 2%. O diâmetro central do disco micelial foi medido com paquímetro diariamente, no decorrer dos quatorze dias de incubação em BOD a 28 °C. O crescimento diário das culturas (DGRab) foi calculado pela equação: $\text{DGRab} = (\text{Db} - \text{Da}) / (\text{tb} - \text{ta})$, onde Db é o diâmetro final calculado, Da é o diâmetro inicial do disco e tb-ta representa o intervalo de tempo de exposição (Oliveira, 2022).

Figura 4. *Penicillium* sp (A e B) inoculado em meio czapek suplementado com glifosato com concentração de 0,8%



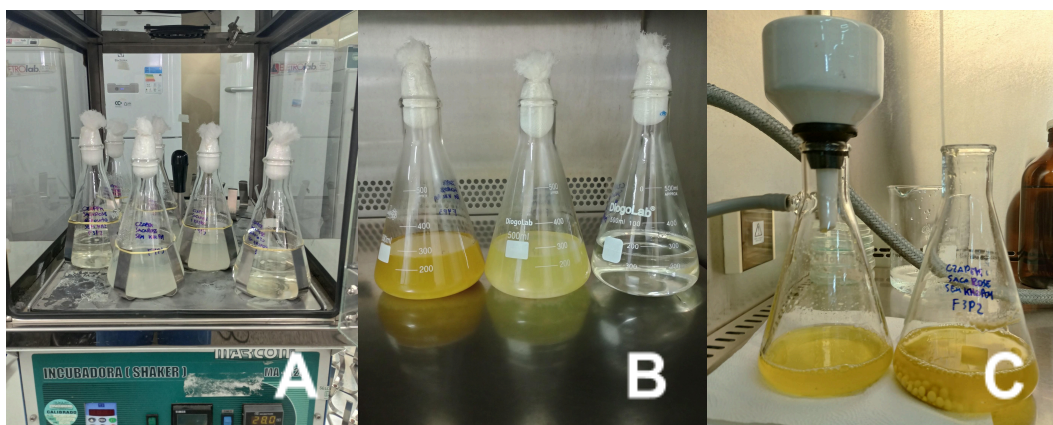
Fonte: Batista, 2025

4.4.2 Avaliação de isolados quanto a utilização de glifosato como fonte de carbono e fósforo

As linhagens que se destacaram no ensaio anterior foram submetidas a um ensaio com menor influência da sacarose. Os isolados fúngicos foram cultivados em frascos erlenmeyers de 500 ml, contendo 250 ml de três meios diferentes: I) meio czapek com baixa concentração de sacarose (2,35 g/L), II) meio contendo baixa concentração de sacarose com adição de KH_2PO_4 e III) meio czapek com baixa concentração de sacarose e suplementado com 2,35 g/L de glifosato, sendo inoculados 4 discos de 3x3 cm de micélio das linhagens selecionadas (Corrêa, 2013).

Após 14 dias, incubados a 28° C em shaker a 150 rpm, foi verificado o crescimento fúngico nos três diferentes meios. Para isso, as culturas foram filtradas por meio de filtros de papel de 15 cm de diâmetro, posteriormente sendo analisadas por cromatografia.

Figura 5. A) fungos cultivados em diferentes meios B) meios de cultura após 14 dias de incubação, C) processo de filtração após 14 dias de incubação para obtenção do caldo.

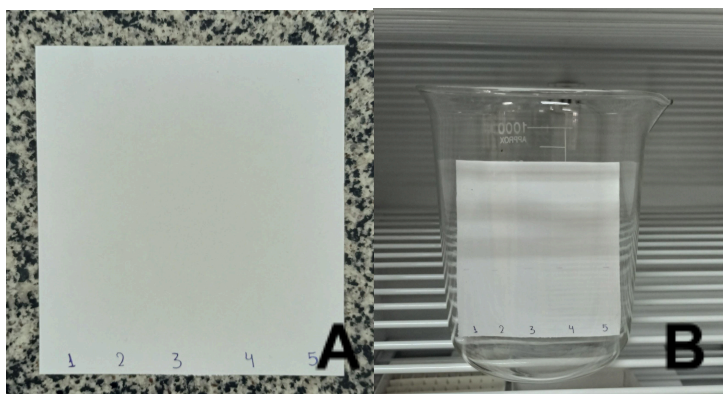


Fonte: Batista, 2025

4.4.3 Cromatografia de camada delgada

Os filtrados fúngicos, foram examinados por cromatografia em camada delgada, onde foram utilizadas placas de CCD de 10x10 cm pré- revestidas com gel de sílica 60 (Merck, Darmstadt, Alemanha). Os cromatogramas foram desenvolvidos utilizando etanol /acetona / água (1:1:1) como solventes de arraste, de acordo com Corrêa (2013). Nas placas de sílica foram colocadas 20µl de cada solução: solução padrão de glifosato, meio czapek com glifosato sem inóculo fúngico, e as soluções dos filtrados de acordo com os isolados selecionados. As amostras das soluções correram em placa de sílica em 10 minutos e em seguida as placas receberam “banho” de solução de ninidrina com acetona (0,05 g de ninidrina em 10 ml de acetona), posteriormente colocadas em estufa a 100°C durante 10 minutos.

Figura 6. A) Placa CCD 10x10 B) Placa secando em estufa a 100 °C.



Fonte: Batista, 2025

5. RESULTADOS

5.1. Isolamento e identificação dos fungos isolados da Bacia do Tarumã

Com a coleta da água e isolamento dos fungos em placas de *Petri*, foi possível obter ao fim do trabalho 31 morfotipos, pertencentes a pelo menos 6 gêneros (Tabela 1).

Tabela 1. Fungos obtidos com a coleta de água na Bacia Hidrográfica do Rio Tarumã Açú

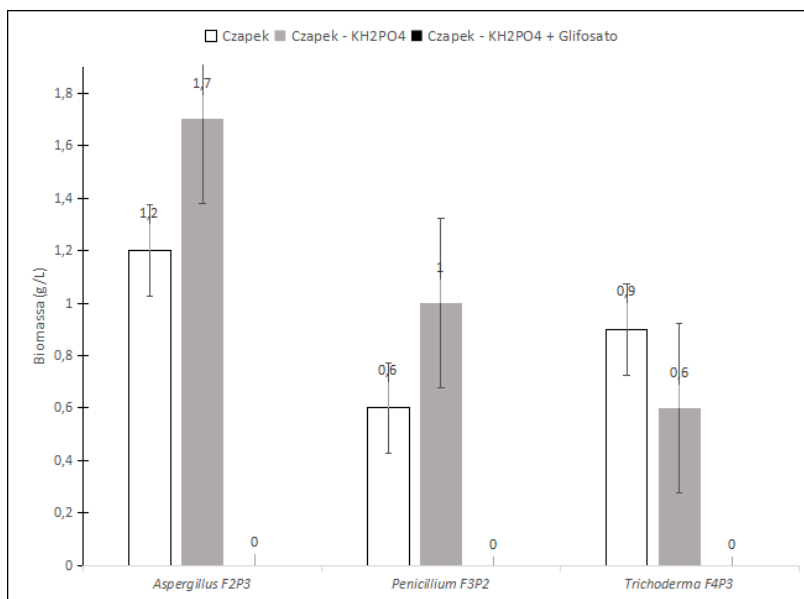
Gêneros dos fungos isolados	Pontos de coleta					
	1	2	3	4	5	Total
<i>Acremonium</i> ssp	-	-	-	1	-	1
<i>Aspergillus</i> ssp	7	4	1	-	-	12
<i>Paecilomyces</i> ssp	1	-	-	-	-	1
<i>Penicillium</i> ssp	-	2	1	3	2	8
<i>Trichoderma</i> ssp	-	-	1	-	-	1
<i>Trichophyton</i> ssp	-	1	-	-	-	1
Não identificado	-	1	3	2	1	7
Total	8	8	6	6	3	31

Fonte: Batista, 2025

5.2 Avaliação de isolados quanto a utilização de glifosato como fonte de carbono e fósforo

Com a finalidade de avaliar a degradação do glifosato e sua possível utilização como fonte de carbono, foram selecionados 3 isolados fúngicos (*Aspergillus* F2P3, *Penicillium* F3P2 e *Trichoderma* F4P3) que apresentaram melhores resultados nas etapas anteriores, sendo cultivados em três diferentes meios czapek: I) meio czapek com baixa concentração de sacarose (2,35 g/L), II) meio contendo baixa concentração de sacarose com adição de KH_2PO_4 e III) meio czapek com baixa concentração de sacarose e suplementado com 2,35 g/L de glifosato. Os resultados são apresentados no gráfico 1.

Gráfico 1. Crescimento dos isolados fúngicos (*Aspergillus* F2P3, *Penicillium* F3P2 e *Trichoderma* F4P3) em meios com baixa concentração de sacarose.



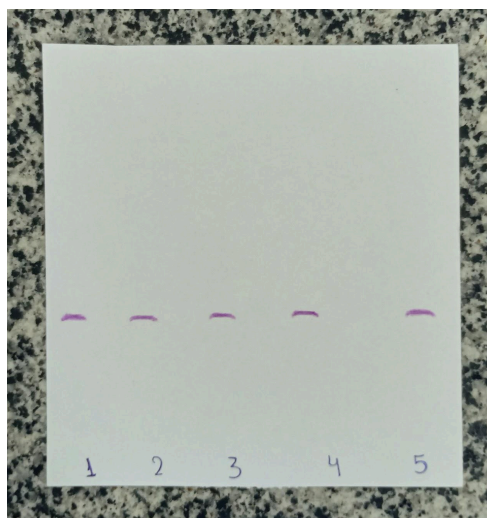
Fonte: Batista, 2025

Todos os isolados apresentaram resultados negativos quando cultivados no meio czapek com baixa concentração de sacarose e suplementado com 2,35 g/L de glifosato, não apresentando crescimento. Os meios de cultura I) czapek com baixa concentração de sacarose (2,35 g/L) e II) meio contendo baixa concentração de sacarose com adição de KH₂PO₄ apresentaram melhores crescimentos, com resultados mistos quanto a produção de biomassa, com destaque para *Aspergillus* F2P3, que apresentou maior produção em meio contendo baixa concentração de sacarose com adição de KH₂PO₄.

5.3 Cromatografia em Camada Delgada

Os isolados selecionados para a cromatografia foram *Aspergillus* F2P3, *Penicillium* F3P2 e *Trichoderma* F4P3, visto que haviam demonstrado maior resistência ao herbicida em testes anteriores. Após as etapas realizadas para a detecção do glifosato nas amostras das soluções, ocorreram reações entre ninidrina e glifosato, resultando em coloração roxa, evidenciando sua presença, constatando que os fungos isolados não apresentaram atividade de degradação do herbicida.

Figura 7. Placa CCD 10x10 após banho com ninidrina, onde: 1- solução padrão de glifosato; 2- meio czapek com glifosato sem inóculo fúngico; 3, 4 e 5- soluções dos filtrados.



Fonte: Batista, 2025

Quanto à identificação molecular, visto que os isolados não apresentaram resultados satisfatórios, essa etapa não foi realizada, havendo apenas a identificação macromorfológica e micromorfológica, permitindo a identificação a nível de gênero dos isolados obtidos.

6. DISCUSSÃO

O estudo possibilitou a obtenção de 31 isolados fúngicos da Bacia Hidrográfica do Rio Tarumã Açu, dos quais 24 foram identificados, onde 38% correspondem a *Aspergillus* ssp, 26% *Penicillium* ssp, 3,3% *Acremonium* ssp, *Trichoderma* ssp e *Trichophyton* ssp 22,8% dos isolados não foram identificados por ausência de características morfológicas visíveis. Em trabalho semelhante, ao isolar fungos da Lagoa do Patinho, afluente do Amazonas, Lima (2017) isolou fungos dos gêneros *Aspergillus* ssp, *Curvularia* ssp, *Fusarium* ssp, *Mucor* ssp, *Penicillium* ssp, *Rhizopus* ssp e *Trichoderma* ssp, onde os gêneros *Aspergillus* ssp, *Penicillium* ssp e *Trichoderma* ssp são resultados convergentes. Destaque para a utilização desses gêneros nos processos de biorremediação como descrito por Pereira (2012) e Corrêa (2013).

Dos 31 fungos testados no screening preliminar, apenas 3 foram selecionados para as etapas seguintes, já que apresentaram os melhores resultados. Os fungos foram submetidos ao ensaio em meio czapek com baixa concentração de sacarose (2,35 g/L), adição de KH_2PO_4 e glifosato respectivamente, para avaliar a utilização do herbicida como fontes de carbono ou fósforo. Os fungos cultivados em meio czapek, sacarose e KH_2PO_4 apresentaram maior crescimento em biomassa quando comparados ao meio suplementado com glifosato, visto que nesse não houve crescimento, diferente dos resultados obtidos por Corrêa (2013), que utilizou fungos isolados de solo da floresta Amazônica com histórico de utilização do herbicida, mostrando que fungos do gênero *Penicillium* ssp e *Aspergillus* ssp foram capazes de utilizar o glifosato como fonte de fósforo, bem como fonte de carbono, dada a biomassa produzida.

Oliveira (2022) também utilizou fungos de solo contaminados com herbicidas para avaliar sua eficácia na degradação dessas substâncias, destacando os gêneros *Aspergillus*, *Penicillium* e *Fusarium* com os melhores resultados. A utilização de microrganismos autóctones nos processos de biorremediação torna mais provável que os mesmos utilizem as substâncias contaminantes como substituição de macronutrientes e micronutrientes, porém, o inverso também ocorre, logo a pouca concentração dessas substâncias, reduz as chances de degradação e resistência pelos microrganismos presentes.

No ambiente aquático, o glifosato está presente, porém, em concentrações não tão significativas como presente nos solos que já possuem longo histórico de utilização do herbicida, fato que permite propor, que o tempo de exposição e concentração do agrotóxico influenciam na tolerância e consumo da substância pelos isolados, como descrito por

Conceição (2025), que utilizou fungos (*Aspergillus*, *Penicillium* e *Trichoderma*) isolados do Rio Tocantins para biorremediar afluentes com presença de Zinco e Níquel.

Portanto, conclui-se que mesmo com o histórico de presença do glifosato nas águas do Amazonas, os fungos não se mostraram tolerantes sob a presença do herbicida, não sendo capazes de utilizá-lo como substrato, consequentemente sendo inviável sua utilização nos processos de biorremediação desse agrotóxico.

7. CONCLUSÃO

O isolamento e a identificação dos fungos da Bacia Hidrográfica do Rio Tarumã Açu (AM) resultou em fungos do Filo Ascomycota, especificamente dos gêneros, *Acremonium*, *Paecilomyces*, *Trichophyton*, *Penicillium*, *Trichoderma* e *Aspergillus*, sendo em sua maioria *Penicillium* e *Aspergillus*.

Avaliado o potencial degradador dos isolados identificados em utilizar o herbicida glifosato como fonte de fósforo e carbono, todos obtiveram resultados negativos quando cultivados no meio czapek com baixa concentração de sacarose e suplementado com 2,35 g/L de glifosato, não apresentando crescimento. Os meios de cultura I) czapek com baixa concentração de sacarose (2,35 g/L) e II) meio contendo baixa concentração de sacarose com adição de KH_2PO_4 apresentaram melhores crescimentos, com resultados mistos quanto a produção de biomassa, com destaque para *Aspergillus* F2P3, que apresentou maior produção em meio com adição de KH_2PO_4 .

A cromatografia de camada delgada apresentou em suas placas de sílica a presença dos padrões de glifosato nos filtrados fúngicos selecionados, enfatizando a não degradação do herbicida pelos fungos.

Portanto, o estudo realizado apresenta fungos isolados da Bacia Hidrográfica do Rio Tarumã Açu (AM) que não possuem capacidade de degradação do herbicida glifosato, porém, podem apresentar potencial biotecnológico não explorado, com possibilidade de aplicações em pesquisas futuras para outros fins.

8. REFERÊNCIAS

Brasil. (2005). Ministério do Meio Ambiente (MMA). Conselho Nacional do Meio Ambiente (CONAMA). Resolução CONAMA Nº 357, de 17/03/2005. Dispõe sobre a classificação dos corpos de água e diretrizes ambientais para o seu enquadramento, bem como estabelece as condições e padrões de lançamento de efluentes, e dá outras providências. Disponível em: <<http://conama.mma.gov.br/atos-normativos-sistema>>. Acesso em: 11 dez. 2023.

COLLA, Luciane Maria *et al.* Isolamento e seleção de fungos para biorremediação a partir de solo contaminado com herbicidas triazínicos. **Ciência e Agrotecnologia**, v. 32, n. 3, p. 809-813, jun. 2008. Disponível em: <https://doi.org/10.1590/s1413-70542008000300016>. Acesso em: 18 jan. 2024.

CONCEIÇÃO, VANESSA BARROS DA. **BIORREMEDIAÇÃO DE ZINCO E NÍQUEL EM SOLUÇÕES AQUOSAS UTILIZANDO FUNGOS AQUÁTICOS ISOLADOS DO RIO TOCANTINS**. 2025. Disponível em: <https://repositorio.uemasul.edu.br/handle/123456789/535>. Acesso em: 13 maio 2025.

CORRÊA, Lilian de Oliveira. **Degradação de glifosato (n-fosfonometil-glicina) por fungos isolados de solo da floresta amazônica**. 2013. Disponível em: https://bdtd.ibict.br/vufind/Record/UEA_23525384bb7bdc59303402c1bcc177f7. Acesso em: 7 abr. 2025.

FONTES, Livia de Carvalho. **Isolamento e seleção de fungos com potencial para biorremediação a partir de ambientes aquáticos com histórico de contaminação por metais pesados**. 2016. Universidade de São Paulo, [s. l.], 2016. Disponível em: <http://www.teses.usp.br/teses/disponiveis/42/42132/tde-16082016-115233/>. Acesso em: 29 jan. 2024.

FRANCISCO, Wellington Camilo; QUEIROZ, Tânia Márcia de. **BIORREMEDIAÇÃO. Nucleus**, v. 15, n. 1, p. 249-256, 30 abr. 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.3738/1982.2278.1700>. Acesso em: 18 jan. 2024.

FREITAS, Davis Manuel Barros Queiroz de. **Sazonalidade e presença de glifosato no igarapé Carrapato, Boa Vista/RR**. 2022. Disponível em: https://bdtd.ibict.br/vufind/Record/UFRR-6_6aeb6c90eca3ea11b6b1a3b6a8295548. Acesso em: 14 abr. 2025.

FREITAS, Maria Jaeline Alves. **Biblioteca Digital de Trabalhos Acadêmicos da Universidade Federal Rural da Amazônia: Toxicidade aguda no herbicida glifosato (Roundup®) para Valdivia serrata (Crustacea, Decapoda)**. 2019. Disponível em: <http://bdta.ufra.edu.br/jspui/handle/123456789/1592>. Acesso em: 15 abr. 2025.

GAYLARDE, Christine Claire. **Biorremediação**. 8 jun. 2005. Disponível em: https://edisciplinas.usp.br/pluginfile.php/4144372/mod_resource/content/1/Biorremediação%20-%20Artigo%201.pdf. Acesso em: 21 dez. 2023.

LIMA, Anni Kelle Serrão de et al. Fungos isolados da água de consumo de uma comunidade ribeirinha do médio Rio Solimões, Amazonas-Brasil: potencial patogênico. *Ambiente e Água*

- An Interdisciplinary Journal of Applied Science, v. 12, n. 6, p. 1017, 23 nov. 2017. Disponível em: <https://doi.org/10.4136/ambi-agua.2018>. Acesso em: 21 out. 2024

MACHADO, Thaís Strieder. TEDE UPF: Produção de biossurfactantes bacterianos em solos utilizando bioaugmentação e bioestimulação. 20 abr. 2018. Disponível em: <http://tede.upf.br/jspui/handle/tede/1514>. Acesso em: 11 dez. 2023.

MANNARINO, Camille Ferreira. **Avaliação de impactos do efluente do tratamento combinado de lixiviado de aterro de resíduos sólidos urbanos e esgoto doméstico sobre a biota aquática.** 18 nov. 2013. Disponível em: <https://www.scielo.br/j/csc/a/ZkCDCDRwjkLsvqFLVbJkRLc/abstract/?lang=pt>. Acesso em: 20 dez. 2023.

MEDEIROS, Úrsula Thaís de Paula. Universidade Federal do Rio Grande do Norte: Contaminantes emergentes em sistemas de tratamento de esgoto doméstico: impacto da carbamazepina na saúde e no meio ambiente. 15 dez. 2022. Disponível em: <https://repositorio.ufrn.br/handle/123456789/51973>. Acesso em: 26 dez. 2023.

PEREIRA, Aline Ramalho Brandão. USO DE MICRO-ORGANISMOS PARA A BIORREMEDIAÇÃO DE AMBIENTES IMPACTADOS. **Revista Eletrônica em Gestão, Educação e Tecnologia Ambiental**, v. 6, n. 6, 13 mar. 2012. Disponível em: <https://doi.org/10.5902/223611704818>. Acesso em: 12 dez. 2023.

RIDDELL, Roland W. Permanent Stained Mycological Preparations Obtained by Slide Culture. **Mycologia**, v. 42, n. 2, p. 265, mar. 1950. Disponível em: <https://doi.org/10.2307/3755439>. Acesso em: 29 jan. 2024.

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 - Relatórios de Pesquisa.** 2022. Disponível em: <https://www.rdi.uniceub.br/pic/article/view/8925>. Acesso em: 7 maio 2025.

SILVA, Ingrid Reis da *et al.* Utilização de fungos filamentosos no biotratamento da água de igarapés na cidade de Manaus (Amazonas-Brasil). **Research, Society and Development**, v. 12, n. 5, p. e28712541781, 29 maio. 2023. Disponível em: <https://doi.org/10.33448/rsd-v12i5.41781>. Acesso em: 11 dez. 2023.

SILVA, José Ferreira. **Qualidade e pH das águas de propriedades citrícolas e de rios da Amazônia Central sobre a eficiência do glifosato no controle de Brachiaria decumbens.** 2014. Disponível em: <http://tede.ufam.edu.br/handle/tede/4631>. Acesso em: 15 abr. 2025.

SILVA, Leno Luna da *et al.* O glifosato no cultivo de mandioca (Uarini - Amazonas). **Scientia Amazonia**, v. 5, n. 1, p. 55-62, 2016.

SILVA, Raphael Luiz Andrade . **RI UFPE: Biorremediação de águas fluviais contaminadas com corantes da indústria têxtil por fungos filamentosos isolados do bioma Caatinga.** 23 fev. 2017. Disponível em: <https://repositorio.ufpe.br/handle/123456789/28334>. Acesso em: 28 dez. 2023.

SIQUEIRA, L. F. Estudo hidrológico do efeito de barramento hidráulico no rio Tarumã-Açu, Manaus-AM. 2019. Dissertação (Mestrado em Clima e Ambiente) – Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia; Universidade do Estado do Amazonas, Manaus, 2019.

SOARES, I. A. *et al.* FUNGOS NA BIORREMEDIAÇÃO DE ÁREAS DEGRADADAS. **Arquivos do Instituto Biológico**, v. 78, n. 2, p. 341-350, jun. 2011. Disponível em: <https://doi.org/10.1590/1808-1657v78p3412011>. Acesso em: 18 jan. 2024.

SOUZA, Luís Henrique Nunes de; ARRUDA, Regina De Oliveira Moraes. REVITALIZAÇÃO DE CORPOS D' ÁGUA COM O USO DA BIORREMEDIAÇÃO. **Revista Engenharia e Tecnologia Aplicada - UNG-Ser**, v. 4, n. 1, p. 37, 25 jan. 2021. Disponível em: <https://doi.org/10.33947/2595-6264-v4n1-4579>. Acesso em: 10 dez. 2023.

YOCOYAMA, Leonardo Yuji. **IMPACTOS NA SAÚDE HUMANA E AMBIENTAL DO USO DO GLIFOSATO COMO HERBICIDA: UMA REVISÃO SOBRE AS TÉCNICAS DE REMEDIAÇÃO**. 2023. Disponível em: <https://repositorio.unifesp.br/handle/11600/68991>. Acesso em: 2 maio 2025.