

Estudo das linhagens do fungo *Fusarium* FCG45 e FCG43 em testes de biodegradação de pesticida

Study of Fusarium FCG45 and FCG43 strains in pesticide biodegradation tests

Leidaiany Pereira dos Santos¹, Anelyse Macêdo Brito², Douglas Martins de Oliveira Bessa³, Vanessa Mara Chapla⁴, Grasielle Soares Cavallini⁵, Nelson Luis Gonçalves Dias de Souza⁶

RESUMO

As tecnologias verdes têm se destacado como uma solução sustentável para a remediação de solos contaminados na presença de microrganismos nativos ou modificados geneticamente, tem se mostrado eficiente na degradação de compostos tóxicos, como organofosforados e organoclorados. Diante disso, o objetivo deste estudo foi estabelecer as concentrações de trabalho para estudos de biodegradação do glifosato, como modelo. Os parâmetros avaliados, o tempo para o desenvolvimento das hifas foi o maior fator para o fungo FCG43 as primeiras 48h e 96 horas, com concentrações de 300 ppm inibitória para o fungo. Esse comportamento também foi observado com o FCG45, mas também um estímulo ao crescimento em 300 ppm, que pode ser devido ao glifosato ser uma fonte de carbono e fósforo a ser utilizada pelo microrganismo. Para os resultados de massa seca as concentrações elevadas inibem devido a presença do pesticida na cultura líquida. Isso se deve que em algumas culturas a estabilização e disponibilidade de nutrientes pode ser menor em meio sólido do meio líquido. A decisão referente a biodegradabilidade os valores da razão DBO/DQO demonstraram que baixa biodegradabilidade com valores menores que 0,5.

Palavras-chave: Biodegradabilidade, *Fusarium* sp., pesticida.

ABSTRACT

Green technologies stand out as a sustainable solution for the remediation of contaminated soils in the presence of native or genetically modified microorganisms and efficiently handle toxic compounds, such as organophosphates and organochlorines. Therefore, this study aimed to establish working concentrations for glyphosate biodegradation studies. The parameters evaluated, the time for hyphae development was the biggest factor for the FCG43 fungus in the first 48h and 96 hours, with concentrations of 300 ppm inhibitory for the fungus. This behavior was also observed with FCG45, but also a growth stimulus at 300 ppm, which may be due to glyphosate being a carbon source and corresponding to being used by the microorganism. For dry mass results, high concentrations are inhibited due to pesticides in the liquid culture. This should mean that in some cultures the stabilization and availability of nutrients may be lower in solid media than in liquid media. The decision regarding biodegradability, the BOD/COD ratio values demonstrated low biodegradability with values lower than 0.5.

Keywords: Biodegradability. *Fusarium* sp. Glyphosate.

¹Doutora em Ciências e Universidade Federal do Tocantins, Brasil. ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-5329-7782>

E-mail: leidaiansantos@gmail.com

² Graduanda em Biotecnologia e Bioprocessos e Universidade Federal do Tocantins, Brasil. ORCID: <https://orcid.org/0009-0001-6282-5310>.

³ Mestre em Química, Universidade Federal do Tocantins, Brasil. ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-0370-3468>

⁴ Doutora em Química e Universidade Federal do Tocantins, Brasil. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-1078-668X>.

⁵ Doutora em Química e Universidade Federal do Tocantins, Brasil. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-5227-9539>.

⁶ Doutor em Química e Universidade Federal do Tocantins, Brasil. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-5980-3209>.

1. INTRODUÇÃO

O Brasil, por se tratar de um país de grande extensão territorial e clima favorável para o cultivo de grandes quantidades de alimento, também faz parte do décimo quinto maior consumidor de pesticidas do mundo, sendo os pesticidas mais empregados, o glifosato, o 2,4-D, óleo mineral e a antrazina, na presença ou ausência de adjuvantes para melhorar a eficiência na pulverização. De acordo com os dados obtidos entre os anos de 2009 e 2018, pode-se observar uma elevação acentuada de uso quando comparamos os três compostos, o 2,4-D é o mais utilizado em todo mundo, seguido do glifosato e por último a antrazina (BROVINI *et al.*, 2021).

No mesmo sentido, o reflexo do emprego elevado de pesticidas na agricultura também é acompanhado pelo crescente desmatamento, concentrações elevadas desses compostos tóxicos encontradas em alimentos, contaminação do solo, reservas de água subterrânea e organismos vivos, sendo um agente com potencial genotóxico e carcinogênico em animais e para a saúde humana (WIMALAWANSA & WIMALAWANSA, 2014; PANIS *et al.*, 2022). Além disso, os impactos à saúde humana estão associados especificadamente ao fato de que os pesticidas da classe dos organoclorados e organofosforados possuem potencial inibitório da síntese de aminoácidos e proteínas importantes para síntese de reguladores, receptores e neuroestimuladores bioquímicos (RANI *et al.*, 2021).

Nos últimos 15 anos, no Brasil, a demanda crescente consumo de pesticidas não foi só atribuído aos mais utilizados, mas também a presença elevada em alimentos para o consumo humano com resíduo de ingredientes ativos não autorizados para a cultura e não autorizados segundo a legislação do país (LOPES & ALBUQUERQUE, 2021). Como uma tentativa de prevenir o uso indiscriminado de herbicidas e pesticidas as agências regulatórias nacionais como, MAPA, ANVISA e estados atuam conjuntamente na fiscalização do manejo de agroquímicos de forma contínua, uma ação preventiva.

Em casos que seja detectada contaminação ambiental, principalmente de solos, as portarias nº 164 de 28 de dezembro de 2022 e a resolução nº420 de 28 de dezembro de 2009 do Conselho Nacional do Meio Ambiente (BRASIL, 2009; BRASIL, 2022) determinam a aplicação de técnicas de remediação, que podem incluir diferentes procedimentos, dentre eles a biorremediação/ bioaugmentação para a redução do composto químico presente no solo com auxílio de microrganismos (CYCON *et al.*, 2017). Assim para alinhar a busca de uma agricultura mais sustentável com o uso consciente desses

compostos, há uma necessidade da redução dos níveis de pesticidas no solo, ar, água. Nesse propósito técnicas de remediação de solos com biorremediação associada aos materiais poliméricos biodegradáveis podem ser uma opção na remediação contínua de solos na agricultura.

Vários estudos reportam o desenvolvimento das tecnologias verdes de remoção desses contaminantes do solo, que são baseados em métodos de inoculação de microrganismos nativos ou engenheriados, capazes de degradar compostos organoclorados, organofosforados, carbamatos, piretrinos e piretroides na presença de espécies de bactérias como as *Pseudomonas* sp., *Agrobacterium*, *Flavobacterium* sp., *Arthrobacter* sp., *Bacillus cereus*, *Achromobacter* sp., *Shingomonas*, *Streptomyces*, *Burkholderia* sp. (SAWATHY *et al.*, 2024). E algumas classes de fungos mais utilizados, como o *Fusarium solani*, *Penicillium* sp., *Trichoderma* sp., sendo que para essa aplicação de fungos foi evidenciada a menos de duas décadas (SAWATHY *et al.*, 2024).

A degradação de pesticidas como o 2,4-D e glifosato são amplamente estudados por se tratar de pesticidas que possuem baixo custo, efetividade e estão na escala de maior aplicação no Brasil e no mundo. Assim bactérias e fungos empregadas em alguns estudos, cujo nível de degradação se aproximam a uma taxa de 95% para os organoclorados e organofosforados. Bactérias do gênero *Arthrobacter* e *Pseudomonas* geralmente estão entre os organismos mais comuns (GONZALEZ-CUNA, 2019; 2018). Nesse sentido, o presente trabalho tem por objetivo estudar o comportamento de espécies de fungos endofítico *Fusarium* sp. das linhagens FCG43 e 45, previamente isolados da *Cochlorosperma regium* em estudos de biodegradação de pesticidas, como o glifosato.

2. MATERIAIS E MÉTODOS

Reagentes e instrumentação

Água destilada, os sais para o preparo da água de diluição (meio mineral) utilizada nos testes de demanda bioquímica de oxigênio (KH_2PO_4 , K_2HPO_4 , NH_4Cl , $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, $\text{CaCl}_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$, FeCl_3) e crescimento de microrganismos como os Meios de cultura caldo Batata Dextrose (BD), Batata Dextrose Ágar (BDA) e suplementação (glifosato) foram adquiridos com grau alto de pureza.

Para a quantificação de glifosato foram utilizados sulfato de cobre anidro, ácido bórico e o Ponceau 4R foram adquiridos com alto grau de pureza da Sigma-Aldrich (St.

Louis, USA) para condução desses estudos. As análises foram realizadas no espectrofotômetro UV-Vis da marca Kasvi no comprimento de onda de excitação na região de ultravioleta-visível, $\lambda_{\max} = 505 \text{ nm}$.

Para a coleta das imagens foi utilizado um aparelho smartphone da marca Samsung, modelo A32 contendo sistema de câmera integrado com 12 megapixel na parte traseira.

Preparo de meios de cultura sólido e líquido

Os meios de cultura sólidos foram preparados com a dissolução do pó Batata-Dextrose-Ágar (39 g) em 1 litro de água deionizada. Para o meio de cultura líquido, o caldo Batata-Dextrose (24 g) foi preparado da mesma forma em água destilada. Em seguida as soluções foram esterilizadas a 121°C por 15 minutos e resfriadas até 50°C , e suplementadas com 25 ppm, 100 ppm e 300 ppm de glifosato a partir da solução mais concentrada 10000 ppm preparada com água destilada estéril sob condições estéreis.

Após a suplementação, o meio BDA foi encapsulado em placas de Petri estéreis enquanto 10 mL do meio BD foi transferido para tubos falcon de 50mL estéreis. Todas as etapas desse processo foram realizadas em condições assépticas com ajuste de pH para $5,6 \pm 0,2$, quando aplicável. Os meios foram armazenados sob refrigeração por um prazo de no máximo 48 horas.

Análise da taxa de extensão de hifas das linhagens FCG43 e FCG45: crescimento radial

Para o cultivo das linhagens de fungos FCG43 e FCG45 em meio sólido, discos miceliais de 5mm de diâmetro, obtido a partir de um pré-cultivo no mesmo meio de cultura foram transferidos para o centro da placa de Petri (90mm de diâmetro) com auxílio de pinças sob condições estéreis. As placas inoculadas foram incubadas a $25 \pm 2^{\circ}\text{C}$, na ausência de luz por um período de 5 dias. A extensão radial das hifas foi avaliada periodicamente com a medida da distância radial e diâmetro.

Análise da produção da biomassa seca dos microrganismos FCG43 e FCG45

A análise da produção de biomassa foi realizada com o cultivo das linhagens de fungos FCG43 e FCG45 em meio líquido, com a transferência de 5 mm da pré-cultura em

meio sólido transferidos para o centro da placa de Petri (90mm de diâmetro). O pré-cultivo foi incubado a $25 \pm 2^\circ\text{C}$, sob agitação orbital a 150rpm, na ausência de luz por um período de 5 dias. Em seguida 1mL da pré-cultura foi transferida para 10mL do meio líquido BD e incubadas sob as mesmas condições em tubo falcon 50mL. Para a obtenção da biomassa as culturas foram filtradas com auxílio de papel filtro de celulose. A biomassa obtida foi pesada após a secagem em estufa por 24h (60°C).

Determinação da concentração do glifosato

A determinação da concentração do glifosato foi realizada através do método colorimétrico 4PR de (HESIEH e LI, 2024) e adaptado para a faixa de detecção do estudo 42,0 – 8,4 ppm com incrementos de 8,4 ppm. A curva de calibração foi preparada a partir da solução estoque (10000 ppm) preparada em água destilada e as análises realizadas em triplicata.

Estudo de biodegradabilidade do glifosato

O estudo de biodegradabilidade foi realizado de acordo com método respirométrico com o consumo de oxigênio por 15 dias com ausência de luz em sistema fechado, sob agitação constante a $20 \pm 2^\circ\text{C}$ em estufa de BOD. Os micro-organismos foram inoculados em meio mineral e a biodegradação dos pesticidas foram avaliados e corrigidos com o branco analítico, considerado como o controle abiótico. Após a finalização dos estudos foi realizada a análise de Demanda Química de oxigênio (DQO) para aferir a quantidade de oxigênio necessário utilizado para degradação do pesticida, com auxílio do teste comercial de DQO (HI3754D-25) da marca Hanna *instruments*. A biodegradabilidade foi identificada com a razão entre a BOD e DQO segundo a metodologia padrão OECD 301B (OECD, 2020).

Processamento de dados e tratamento estatístico

Os a extensão radial das hifas foi avaliada periodicamente com a medida da distância radial, com auxílio do software ImageJ® com a padronização do diâmetro da placa de Petri de 90 mm. Para as análises de distribuição normal com o modelo Shapiro-Wilk e ANOVA de duas vias foi empregado o software *GraphPrism* 9.0.0® e elaboração de análises

gráficas. Os dados foram previamente tratados com auxílio do software Microsoft Excel para obtenção das médias, desvio padrão e variância.

3. RESULTADOS

3.1 Efeito da concentração inibitória do glifosato sobre o desenvolvimento das culturas fúngicas *Fusarium sp.* FCG 45 e FCG 43 no teste crescimento radial.

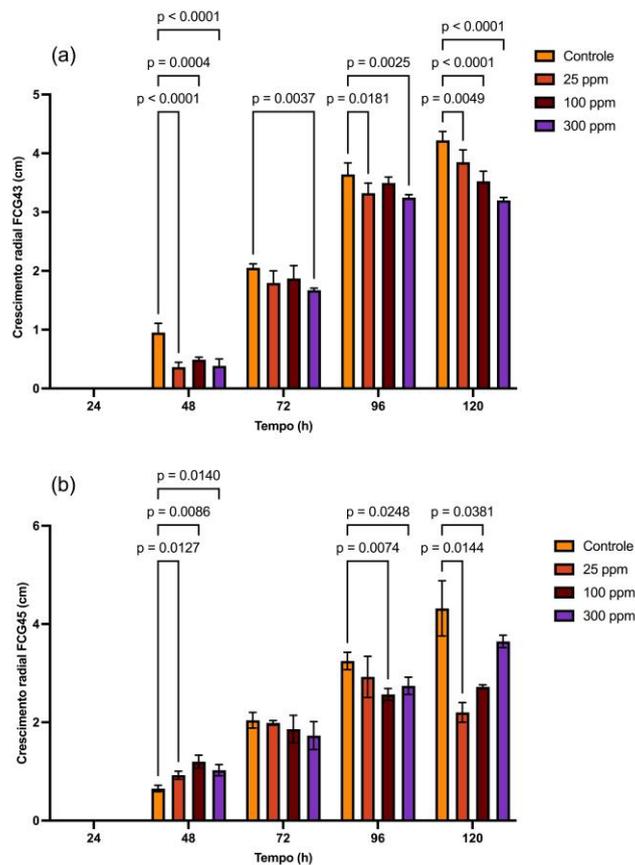


Figura 1: Crescimento radial em diferentes estágios de crescimento dos fungos da linhagem FCG43 e 45, tempo de 5 dias (120 horas), nas concentrações 25, 100 e 300ppm.

As culturas fúngicas foram inicialmente analisadas de acordo com a performance do desenvolvimento das hifas, em termos do diâmetro de crescimento (cm) em BDA em placa de Petri, suplementado com glifosato nas concentrações de 0, 25, 100, 300 ppm. O crescimento foi acompanhado a cada 24h por 5 dias consecutivos através de imagens digitais e a conversão dessas imagens em valores na forma de diâmetro de crescimento, indicados no gráfico da figura 1.

Tabela 1: parâmetros estatísticos dos fatores concentração e tipo de linhagem

<i>Linhagem</i>	<i>Fatores</i>	<i>%variação</i>	<i>F</i>	<i>GL</i>	<i>p-valor</i>
FCG43	Interação	0,8630	6,044	12	<0,0001
	Tempo	97,38	2046	4	<0,0001
	Concentração	1,285	36,01	3	<0,0001
FCG45	Interação	7,909	15,50	12	<0,0001
	Tempo	88,50	520,4	4	<0,0001
	Concentração	1,825	12,01	3	0,0025

Os valores obtidos, de modo geral demonstraram que as diferentes concentrações do pesticida foram extremamente significativas para o crescimento do fungo que é explicada por 1,285% da variância total dos dados (linha 3, tabela 1). O tempo de crescimento (linha 2, tabela 1) foi o principal fator com maior parte da variância dos dados. Para o crescimento do FCG 43, todas as concentrações, inclusive do controle apresentam um aumento de crescimento radial com o passar do tempo. Os tratamentos distintos, como por exemplo, nas concentrações 25ppm e 100ppm, após 96 horas apresentam diferenças sutis significantes, porém quanto a inibição do crescimento é acentuado em concentrações mais altas do pesticida (300 ppm) que sugere um comportamento não linear e de possível inibição do crescimento para o microrganismo FCG43.

Da mesma maneira, a linhagem FCG45 possui tempo como principal fator e extremamente significativo, e em seguida a concentração como fator significativo (linha 5 e 6, tabela 1). Na linhagem do FCG45, o tratamento distinto foi mais bem evidenciado a partir de 96h de crescimento para todos os dados, entretanto as concentrações de 25 e 100ppm possuem efeito intermediário, promovendo um estímulo ao desenvolvimento dos micélios ligeiramente baixo, mas significativo a depender do estágio. Ainda assim, para as concentrações mais elevadas (300ppm), há uma tendência de inibição para linhagem FCG43, figura 2.

As concentrações apesar de serem significativas, uma tendência para cada linhagem foi observada. Os estágios de crescimento de hifas nas primeiras 48h e estágios finais (120h) foram fatores extremamente significantes para o desenvolvimento e extensão das hifas e redução do crescimento delas. Para os fungos FCG43, o cultivo em meio sólido DBA suplementado com o pesticida foi observado uma tendência de inibição à medida que a concentração aumenta, não sendo linear essa modificação.

Quando as concentrações 25 ppm e 100 ppm não possuem diferença estatística em seus efeitos. Contudo a concentração de 300 ppm a inibição é mais acentuada. As linhagens FCG45 é o que mais sofre na redução da extensão da hifa sobre o meio sólido.

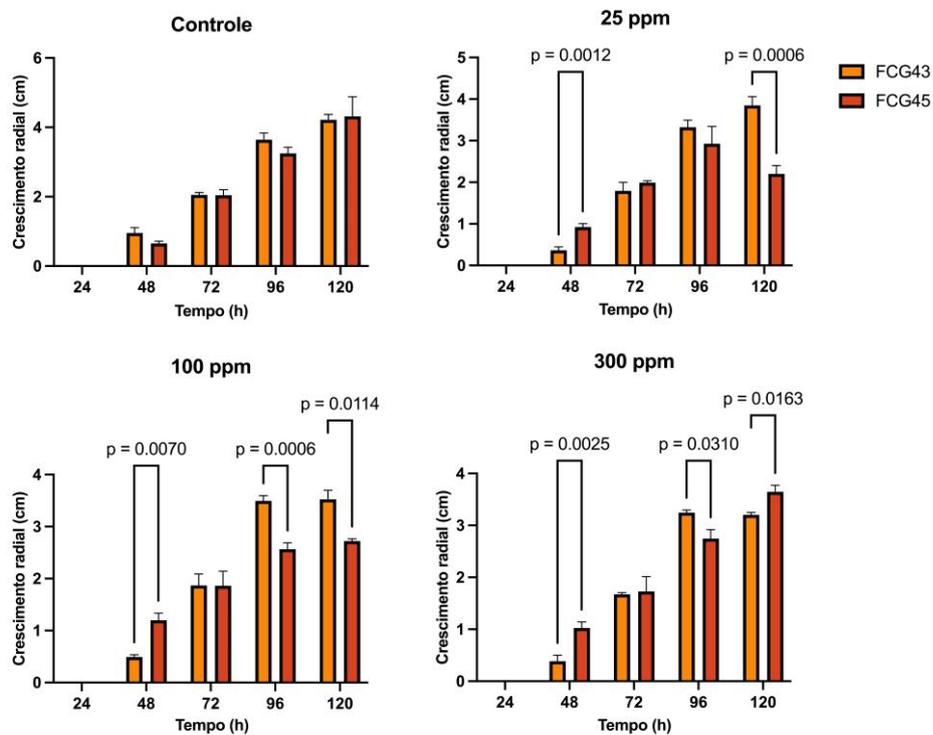


Figura 2: Efeito do crescimento radial analisado em relação a concentração em estágio de crescimento do FCG45 e FCG43.

3.2 Estudo do efeito do glifosato sobre as culturas fúngicas *Fusarium sp.* FCG 45 e FCG 43 a partir da massa seca.

O efeito inibitório também foi observado para a produção de biomassa através do teste de massa seca, com o uso do caldo BD suplementado com glifosato nas concentrações 25 e 100 ppm, concentração que melhor apresentaram resultados nos testes de atividade inibitória (figura 3).

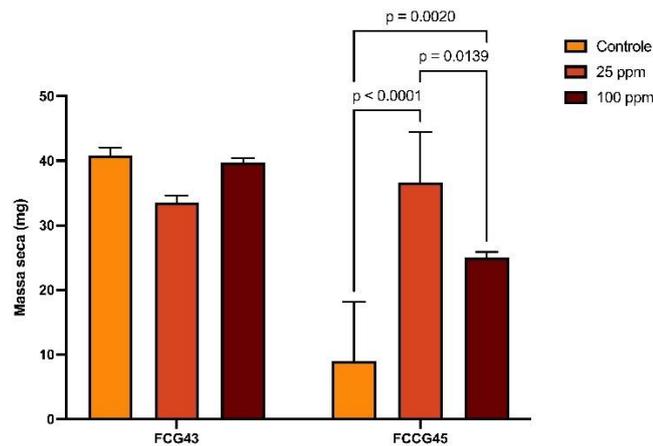


Figura 3: produção de biomassa pelo teste de massa seca.

As análises dos efeitos dos crescimentos de linhagens diferentes foram mais significativas do que os diferentes tratamentos no meio de cultura BDA. Dessa maneira, dentro de cada grupo das diferentes linhagens foram observadas, sendo a linhagem do FCG 45 mais sensível a presença do pesticida aplicado no qual a concentração do pesticida foi um fator extremamente significativo, para os tratamentos nas concentrações de 25ppm e 100ppm. Em concentrações menores, 25 ppm, um estímulo ao aumento de biomassa foi observado em relação ao controle. Contudo, a partir de 100 ppm ocorreu um decréscimo na produção de biomassa ($11,7 \pm 6,86$ mg) quando comparado com concentrações menores.

Na linhagem FCG 43, as concentrações não tiveram efeito significativo em relação ao controle, não sendo sensível a essas quantidades de pesticida que foram adicionadas ao meio de cultura nos valores do estudo, com valores de $p > 0,05$.

3.3 Resistência das culturas sobre as culturas fúngicas *Fusarium sp.* FCG 45 e FCG 43. Teste de biodegradabilidade do pesticida.

De acordo com a tabela 2, as concentrações obtidas nos testes demonstraram que a concentração de glifosato presente nas amostras foi de aproximadamente 300 ppm, em todas as amostras. É possível observar que os valores da DBO de quinze dias e os valores de DQO foram diferentes de acordo com as linhagens estudadas. Na linhagem de fungos FCG43 o consumo de oxigênio foi menor do que na FCG45. O valor de DQO foi mais elevado para FCG43 do que FCG45.

Tabela 2: parâmetros analisados DBO, DQO e DBO/DQO.

<i>Linhagem</i>	<i>Concentração (ppm)</i>	<i>DBO</i>	<i>DQO</i>	<i>Razão DBO/DQO</i>
<i>Controle</i>	302,7766 ± 1,819	0,95 ± 0,49	93,5303 ± 26,87	0,0102
FCG43	294,9739 ± 5,3355	22,3 ± 6,65	141,8044 ± 13,54	0,1572
FCG45	302,1764 ± 5,8205	63,95 ± 1,34	113,8038 ± 13,94	0,5619

4. DISCUSSÃO

O glifosato é um dos pesticidas mais utilizados em todo mundo como a formulação Roundup. Esse herbicida possui inúmeros estudos com relação a resultantes taxas de toxicidade e contaminação no meio ambiente, devido sua persistência e alta estabilidade definida pela ligação altamente estável entre o carbono-fósforo (ZHAN et al, 2018). Entretanto, mesmo com os inúmeros estudos sobre a persistência do composto em água, solo e microrganismos, ainda não são amplos a quantidade de trabalhos desenvolvidos sobre sistemas de biodegradação desse herbicida (SPINELLI et al, 2021).

Dessa maneira o estudo desenvolvido tende a buscar informações adicionais de microrganismos para potenciais aplicações e desenvolvimento de metodologias de biorremediação. Os microrganismos em estudo são linhagens de fungos da espécie *Fusarium sp.* previamente coletados a partir da planta *Cochlorosperma regium* (MORAES et al, 2023). Os fungos foram cultivados em meio Batata Dextrose Ágar (sólido) e Batata Dextrose (líquido), suplementados com as concentrações 25 ppm, 100 ppm e 300 ppm de glifosato grau padrão analítico.

O padrão de crescimento foi analisado a partir do teste de crescimento radial em meio sólido encapsulado em placa de Petri 90 x 15 mm. A extensão da hifa foi acompanhada por imagem adaptado do método de Perez et al (2020), sendo esses resultados analisados por ANOVA de duas vias e interações entre as variáveis.

Para o crescimento de microrganismos há diversos fatores foram importantes, como pH, temperatura, tipo de meio, fonte de carbono e tempo (MSHELIA et al, 2020). Na figura 1 o fator tempo refere-se ao estágio de crescimento também observado em outros trabalhos (BULLOCK et al, 2011). Os tratamentos empregados em cada linhagem foram fundamentais para verificação da atividade inibitória e estudo da concentração mínima a ser utilizada no estudo, assim como evidenciados por Singh e Sagar (2011) no estudo de duas linhagens de *Fusarium* (*F.poe* e *F.solani*) para avaliar o pesticida organoclorado

Lindane. O tempo de crescimento foi crucial mineralização da maior quantidade do pesticida dentro 10 dias de incubação.

Os parâmetros avaliados foram as interações entre os estágios de crescimento em cada concentração, a fim de avaliar o menor tempo para o desenvolvimento das hifas e se haveria possibilidade de realizar esse cultivo na presença do pesticida. Para o fungo FCG43 as primeiras 48h e 96 horas foram importantes para as concentrações de 25 e 300 ppm e atividade inibitória, figura 1. Esse comportamento também foi observado com o FCG45, mas também um estímulo ao crescimento em 300 ppm, figura 2, que pode ser devido ao glifosato ser uma fonte de carbono e fósforo a ser utilizada pelo microrganismo (MORALES-VARGAS et al, 2024).

Os resultados de massa seca revelaram que as concentrações elevadas inibem devido a presença do pesticida na cultura líquida, podendo ser devido a homogeneização e aeração, entretanto o crescimento em meio sólido há um resultado divergente. Isso se deve que em algumas culturas a estabilização e disponibilidade de nutrientes seja menor em meio sólido do que meio líquido (KENDRA et al, 2020).

Nas análises de biodegradabilidade que envolvem o crescimento sob agitação contínua a $20 \pm 2^\circ\text{C}$, pouca fração do pesticida foi consumida pela quantificação de glifosato (tabela 2) no qual os valores da razão DBO/DQO apresenta pouca biodegradabilidade para todas as linhagens estudadas, sendo as razões menores que 0,6 distantes do valor ideal (0,7) (COSSU et al, 2017; MANGKOEDIHARDJO, 2023). Todavia demonstra que as espécies de *Fusarium* sp. estudadas não são resistentes a aplicação de pesticidas, como o glifosato (CASTRO JR et al, 2007).

5. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Nosso estudo demonstrou que as culturas podem ser inibidas a partir de 100 ppm e o tempo de crescimento pode ser realizado em 96 horas. Os dados de massa seca foram importantes devido a homogeneidade e disposição dos nutrientes para o microrganismo. E para os estudos de biodegradação de pesticidas organofosforados, como o glifosato, a metodologia se mostrou pouco biodegradável com o uso das linhagens FCG43 e FCG45. Esses fungos endofíticos não são resistentes a esse pesticida até em baixas concentrações. Isso contradiz estudos que generalizam espécies de *Fusarium* sp. q que foram estudados na literatura.

REFERÊNCIAS

BRASIL. Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e dos Recursos Naturais Renováveis. Portaria 164, de 28 de dezembro de 2022.

_____, Ministério do Meio Ambiente. Conselho Nacional do Meio Ambiente. Resolução nº420, de 28 de dezembro de 2009.

BROVINI, E. M. *et al*, Three-bestseller pesticides in Brazil: Freshwater concentrations and potential environmental risks. **Science of the Total Environment**, v.771. p.1-12, out/jan, 2021. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.144754>. Acesso em: 20 abril 2024.

BULLOCK, J. D. *et al*. Effects of time, temperature, and storage container on the growth of *Fusarium* species: implications for the worldwide *Fusarium keratitis* epidemic of 2004-2006. **Arch Ophthalmol**. v.129.p.133-6, 2011. doi: 10.1001/archophthalmol.2010.338. PMID: 21320955.

CASTRO JR, J. V., PERALBA, M. C.R.; AYUB, M.A.Z. Biodegradation of the herbicide glyphosate by filamentous fungi in platform shaker and batch bioreactor. **Journal of Environmental Science and Health, Part B**, v. 42, p. 883-886, 2007, DOI: 10.1080/03601230701623290.

COSSU, R. *et al*. Further steps in the standardization of BOD5/COD ratio as a biological stability index for MSW. **Waste Manag.** v.68.p.16-23, 2017. doi: 10.1016/j.wasman.2017.06.035.

CYCOŃ, M., MROZIK, A., & PIOTROWSKA-SEGET, Z. Bioaugmentation as a strategy for the remediation of pesticide-polluted soil: A review. **Chemosphere**, v.172, p. 52–71, 2017. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2016.12.129>. Disponível: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0045653516318720?via%3Dihub>. Acesso em: 10 abril 2024.

GONZÁLEZ-CUNA, S. *et al*. Aerobic biofilm reactor for treating a commercial formulation of the herbicides 2,4-D and dicamba: Biodegradation kinetics and biofilm bacterial diversity. **International Biodeterioration and Biodegradation**, v.107, p.123–131, 2016. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.ibiod.2015.11.014>. Acesso em: 06 abril 2024.

HSIEH, B.; LI, Y. Colorimetric detection of glyphosate by its competitive reaction against Ponceau 4R for copper ion, **Sensors and Actuators B: Chemical**, v.401, 2024, p.135052, DOI: <https://doi.org/10.1016/j.snb.2023.135052>.

LOPES, C. V. A., & ALBUQUERQUE, G. S. C. de. Is daily intake of pesticide residues in foods acceptable? **Cadernos de Saúde Pública**, v.37, n.5, p.1-3, 2021. DOI: <https://doi.org/10.1590/0102-311x00096621>. Acesso em: 12 abril 2024.

MANGKOEDIHARDJO, S., Insights on sequential changes to the ratios of Biochemical Oxygen Demand and Chemical Oxygen Demand, *J.sustain. dev. energy water environ. syst.*, v.11, 2023, DOI: <https://doi.org/10.13044/j.sdewes.d10.0441>

MORAES, G. K. A. *et al.* Atividade antagonista, alelopática e diversidade química de fungos endofíticos isolados de *Cochlospermum regium*. **DESAFIOS - Revista Interdisciplinar Da Universidade Federal Do Tocantins**, v.10, 2023. https://doi.org/10.20873/DEZ_23_09.

MORALES-VARGAS, A.T. *et al* Endophytic Fungi for Crops Adaptation to Abiotic Stresses. **Microorganisms**, 12,1357, 2024, <https://doi.org/10.3390/microorganisms12071357>.

RANI, L. *et al.* An extensive review on the consequences of chemical pesticides on human health and environment. **Journal of Cleaner Production**, v. 283, n.124657, p.1-33, 2021. DOI: <https://doi.org/10.1016/J.JCLEPRO.2020.124657>. Acesso em: 12 abril 2024.

PETER MSHELIA, L. *et al.* Effect of Temperature, Water Activity and Carbon Dioxide on Fungal Growth and Mycotoxin Production of Acclimatised Isolates of *Fusarium verticillioides* and *F. graminearum*.v.12, p. 478, **Toxins** 2020. <https://doi.org/10.3390/toxins12080478>.

PEREZ, R. *et al.* Enabling community-based metrology for wood-degrading fungi. **Fungal Biol Biotechnol.** v.7, 2020. doi: 10.1186/s40694-020-00092-2.

SPINELLI, V *et al.* Glyphosate-Eating Fungi: Study on Fungal Saprotrophic Strains' Ability to Tolerate and Utilise Glyphosate as a Nutritional Source and on the Ability of *Purpureocillium lilacinum* to Degrade It. **Microorganisms**, v.9, 2179, 2021. <https://doi.org/10.3390/microorganisms9112179>

SWATHY, K. *et al.* Biodegradation of pesticide in agricultural soil employing entomopathogenic fungi: Current state of the art and future perspectives. **Heliyon**, v. 10, 2024. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2023.e23406>. Acesso em: 16 abril 2024.

ZHANG, W *et al.* Formation Dynamics of Cell-Loading Alginate Droplets in the Microtube Dripping and Cryo-Cross-Linking Process for Cell-Entrapped Cryogel Beads as the Biocatalysts toward Phenylactic Acid Biosynthesis. **Industrial and Engineering Chemistry Research**, v. 57, n. 21, p.7291–7300, 2018. DOI: <https://doi.org/10.1021/acs.iecr.8b00831>. Acesso em: 16 abril 2024.

WIMALAWANSA, SHEHANI A. AND SUNIL J. WIMALAWANSA. Agrochemical-Related Environmental Pollution: Effects on Human Health. **Global Journal of Biology, Agriculture & Health Science**, v.3, n. 3, p. 72-83, 2014. Acesso em: 16 abril 2024.