



**INSTITUTO FEDERAL DE EDUCAÇÃO, CIÊNCIA E TECNOLOGIA
DO CEARÁ
IFCECAMPUS FORTALEZA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM TECNOLOGIA
E GESTÃO AMBIENTAL**

SORAYA LILIA DA ROCHA

**AVALIAÇÃO DO POTENCIAL DE LEVEDURAS NA BIODEGRADAÇÃO
DE AGROTÓXICOS: REVISÃO SISTEMÁTICA DA LITERATURA E ESTUDO
PROSPECTIVO**

FORTALEZA

2021

SORAYA LILIA DA ROCHA

**AVALIAÇÃO DO POTENCIAL DE LEVEDURAS NA BIODEGRADAÇÃO
DE AGROTÓXICOS: REVISÃO SISTEMÁTICA DA LITERATURA E ESTUDO
PROSPECTIVO**

Qualificação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Tecnologia e Gestão Ambiental do Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Ceará (IFCE) – *Campus* Fortaleza, como requisito parcial para obtenção de Título de Mestre em Tecnologia e Gestão Ambiental.

Orientadora: Profa. Dra. Teciá Vieira Carvalho
Coorientador: Prof. Dr. Manoel Paiva de Araújo Neto
Coorientadora: Prof. Titular Glória Maria Marinho Silva

FORTALEZA

2021

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação
Instituto Federal do Ceará - IFCE
Sistema de Bibliotecas - SIBI
Ficha catalográfica elaborada pelo SIBI/IFCE, com os dados fornecidos pelo(a) autor(a)

- R672a Rocha, Soraya Lília da.
 Avaliação do potencial de leveduras na biodegradação de agrotóxicos : Revisão sistemática de literatura e estudo prospectivo / Soraya Lília da Rocha. - 2021.
 83 f. : il. color.
- Dissertação (Mestrado) - Instituto Federal do Ceará, Mestrado em Tecnologia e Gestão Ambiental, Campus Fortaleza, 2021.
 Orientação: Profa. Dra. Tecia Vieira Carvalho.
 Coorientação: Prof. Dr. Manoel Paiva de Araújo Neto.
1. Agrotóxicos. 2. Biorremediação. 3. Fungos. 4. Leveduras. 5. Tecnologia. I. Título.
- CDD 628
-



INSTITUTO FEDERAL DE EDUCAÇÃO, CIÊNCIA E TECNOLOGIA DO CEARÁ
Av. 13 de maio, 2081 , - Bairro Benfica - CEP 60040-531 - Fortaleza - CE - www.ifce.edu.br

AVALIAÇÃO

Processo: 23256.008522/2021-96

Interessado: Coordenadoria do Curso de Mestrado em Tecnologia e Gestão Ambiental
(PGTGA)

FOLHA DE APROVAÇÃO

SORAYA LILIA DA ROCHA

AVALIAÇÃO DO POTENCIAL DE LEVEDURAS NA BIODEGRADAÇÃO DE PESTICIDAS: REVISÃO SISTEMÁTICA DA LITERATURA

Dissertação apresentada ao curso de Pós-Graduação em Tecnologia e Gestão Ambiental do Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Ceará (IFCE) - Campus Fortaleza, como requisito parcial para obtenção do Título de Mestre em Tecnologia e Gestão Ambiental. Área de concentração: Tratamento e Reúso de Efluentes e Resíduos.

Aprovada em: 30/09/2021



Documento assinado eletronicamente por **Tecia Vieira Carvalho, Usuário Externo**, em 04/10/2021, às 14:52, com fundamento no art. 6º, § 1º, do [Decreto nº 8.539, de 8 de outubro de 2015](#).



Documento assinado eletronicamente por **Manoel Paiva de Araujo Neto, Professor do Ensino Básico, Técnico e Tecnológico**, em 14/10/2021, às 20:15, com fundamento no art. 6º, § 1º, do [Decreto nº 8.539, de 8 de outubro de 2015](#).

Documento assinado eletronicamente por **Gloria Maria Marinho Silva, Coordenador(a) do PGTGA**, em 16/10/2021, às 14:25, com fundamento no art. 6º, § 1º, do [Decreto nº 8.539, de 8 de](#)



[outubro de 2015.](#)



Documento assinado eletronicamente por **Barbara Chaves Aguiar Barbosa, Usuário Externo**, em 30/11/2021, às 19:12, com fundamento no art. 6º, § 1º, do [Decreto nº 8.539, de 8 de outubro de 2015](#).



A autenticidade do documento pode ser conferida no site https://sei.ifce.edu.br/sei/controlador_externo.php?acao=documento_conferir&id_orgao_acesso_externo=0 informando o código verificador **3014765** e o código CRC **01CF0C33**.

AGRADECIMENTOS

Agradeço ao Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Ceará (IFCE) pela oportunidade e todo aprendizado fornecido que foi fundamental para a realização da pesquisa.

A todos que fazem parte do Programa de Pós-Graduação em Tecnologia e Gestão Ambiental do IFCE *Campus* - Fortaleza, pela oportunidade de realização deste estudo. Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) pelo financiamento da pesquisa.

Aos meus queridos professores que contribuíram para minha vida acadêmica, que além da mediação de conhecimentos, foram verdadeiros exemplo de pessoas e profissionais a serem seguidos, a vocês minhas sinceras gratificações. Em especial aos professores do PGTGA.

A todos os membros do Laboratório de Biologia Ambiental e Microbiologia (LABIAM) pelo apoio e disponibilidade. Em especial a Sabrina Ribeiro que me auxiliou bastante durante o desenvolvimento deste trabalho.

A minha orientadora Professora. Dra. Tecia Vieira Carvalho e meus coorientadores professor Dr. Manoel Paiva de Araújo Neto e Professora Titular Glória Maria Marinho Silvapor todas as contribuições, orientações além do apoio, compreensão, paciência e confiança.

Aos meus amigos que presenciaram cotidianamente este processo, agradeço pelo companheirismo, conversas e por toda ajuda, em especial a Regina Maria, Ivan Fonteles, Geiziane Laurindo e Tatiana Soares.

Dedico a toda minha família em especial minha mãe Lídia Rocha, meu pai Eudes Rocha, meu irmão Mateus Rocha e meu namorado Emanuel Araujo, que sempre me apoiaram e me motivaram, me dando forças pra enfrentar os obstáculos ao longo do curso e desta pesquisa. Sem dúvidas vocês foram a base para chegar onde estou atualmente.

E por último mas não menos importante, agradeço a Deus por todas as bênçãos, dentre elas a oportunidade de ser mestrande do PGTGA e da realização desta pesquisa.

LISTA DE SIGLAS

ANVISA	Agência Nacional de Vigilância Sanitária
EMBRAPA	Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária
EPI	Equipamento de Proteção Individual
FTIR	Espectroscopia de Infravermelho por Transformada de <i>Fourie</i>
GC-MS	Cromatografia Gasosa acoplada à Espectrometria de Massas
HPLC	Cromatografia Líquida de Alto Desempenho
LC-MS/MS	Cromatografia Líquida Acoplada à Espectrometria de Massas Sequencial
LMR	Limite Máximo de Resíduos (LMR)
NMR	Ressonância Magnética Nuclear
OD	Densidade Óptica
OPE	Organização Europeia de Patentes
PARA	Programa de Análise de Resíduos de Agrotóxicos em Alimentos
PCBs	Bifenilos Policlorados
SINAN	Sistema Nacional de Informação de Agravos Notificáveis
SINITOX	Sistema Nacional de Informação Tóxico-Farmacológica
SINITOX	Agência de Proteção Ambiental dos Estados Unidos

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1 Ano de publicação dos artigos coletados
- Figura 2 Países de publicação dos artigos coletados
- Figura 3 Tendência de investimentos tecnológicos nos últimos 10 anos a partir dos termos “Yeasts and pesticides”
- Figura 4 Relação dos países que mais depositam patentes nos termos “Yeasts and pesticides” nos últimos 10 anos
- Figura 5 Tendência de investimentos tecnológicos nos últimos 10 anos a partir dos termos “Yeasts and bioremediation”
- Figura 6 Relação dos países que mais depositam patentes nos termos “Yeasts and bioremediation”. nos últimos 10 anos
- Figura 7 Tendência de investimentos tecnológicos nos últimos 10 anos a partir dos termos “Yeasts and contaminated soil”
- Figura 8 Relação dos países que mais depositam patentes nos termos “Yeasts and contaminated soil” nos últimos 10 anos

LISTA DE FIGURAS

- Quadro 1 Classificação toxicológica dos agrotóxicos
- Quadro 2 Classificação de Periculosidade ambiental
- Quadro 3 Palavras-chave para a busca de artigos
- Quadro 4 Resultado dos artigos encontrados nas bases de dados
- Quadro 5 Resultado dos artigos encontrados nas bases de dados
- Quadro 6 Relação dos agrotóxicos analisados nos artigos coletados
- Quadro 7 Busca de patentes pelo *Orbit Intelligence*

SUMÁRIO

I INTRODUÇÃO	14
2 OBJETIVOS	16
2.1 Objetivo geral.....	16
2.2 Objetivos específicos	16
3 REFERENCIAL TEÓRICO	17
3.1 Agrotóxicos	17
3.1.1 Agrotóxicos mais utilizados	19
3.1.2 Riscos ao meio ambiente e à saúde humana.....	21
3.2 Biorremediação	25
3.2.1 Biorremediação <i>in situ</i> e <i>ex situ</i>	26
3.2.2 Biorremediação <i>intrínseca</i>	27
3.2.3 Bioestímulo.....	27
3.2.4 Bioaumento	28
3.2.5 Landfarming.....	28
3.2.6 Biorreatores	29
3.2.7 Compostagem	29
3.2.8 Biopilhas.....	30
3.4 Fungos.....	30
3.4.1 Leveduras.....	31
3.4.2 Utilização de leveduras como bioindicadoras de poluição	32
3.4.3 Resistência das leveduras na presença de agrotóxicos.....	32
3.4.4 Aplicação de leveduras em processos de biodegradação	34
3.4.5 Sensibilidade antifúngica e bombas de efluxo	35
4 MATERIAL E MÉTODOS	36
4.1 Revisão Sistemática da Literatura - RSL	36
4.2 Aplicação do <i>Methodi Ordinatio</i> no presente estudo	36
4.3 Estudo de Prospeção	39
5 RESULTADOS E DISCUSSÃO	40
5.1 Revisão Sistemática pelo <i>Methodi Ordinatio</i>	40
5.2.1 Lindano.....	45
5.2.2 Bifentrina.....	46
5.2.3 Dinitrofenóis.....	48

5.2.4 Clorpirifós e Diazinon.....	48
5.2.5 Atrazina	49
5.2.6 Bifenilos policlorados (PCBs).....	50
5.3 Análise da concentração de agrotóxicos e identificação de metabólitos após a biodegradação	51
5.4 Enzimas associadas a processos de degradação de agrotóxicos	54
5.5 Metabólitos	56
5.6 Otimização das condições de degradação dos agrotóxicos.....	60
5.7 Estudo prospectivo de busca de patentes.....	63
6 CONCLUSÕES.....	67
REFERÊNCIAS	69

RESUMO

O efeito tóxico dos agrotóxicos ocasionam riscos tanto saúde humana como ambiental. Com a industrialização e o crescimento populacional, e consequentemente a ampliação de áreas de cultivo, propiciou o aumento da aplicação de agrotóxicos com o intuito de proteger as culturas contra os agentes limitantes, como plantas daninhas, insetos e fungos. A biorremediação é uma das técnicas mais utilizadas na descontaminação de ambientes por agrotóxicos, e a micorremediação apresenta ser uma estratégia plausível e ecológica na degradação de agrotóxicos. Sabendo da importância de se buscar alternativas para diminuição dos efeitos dos poluentes, este estudo tem por objetivo identificar as leveduras degradadoras de agrotóxicos, o processo de análise quali-quantitativa de resíduos resultantes, bem como a evolução da produção tecnológica, por meio de uma revisão sistemática e um estudo prospectivo do tema. A metodologia utilizada pautou-se na revisão sistemática, utilizando-se o *Methodi Ordinatio* em uma escala temporal de 10 anos (2011 a 2020), com as bases de dados Science Direct, Scopus, Web of Science, Google Academic e Scielo, em que foram utilizadas palavras-chave específicas para a buscas de artigos. Como resultados foram encontrados 11 artigos relacionados ao tema, considerados relevantes. As leveduras com potencial de degradação pertencem aos gêneros *Rhodotorula*, *Candida*, *Pichia* e *Pseudozyma*. Quanto aos agrotóxicos, foram estudados o Lindano, Bifentrina, Dinitrofenóis, Clorpirifós, Diazinon, Atrazina e Bifenilos Policlorados. Foram utilizadas técnicas cromatográficas e espectrométricas na identificação dos resíduos de agrotóxicos e na determinação dos percentuais de degradação. Fatores como pH, temperatura, adição de glicose e concentração do inóculo interferem diretamente nos processos de degradação. O estudo prospectivo de patentes foi realizado pelo *Orbit Intelligence*, não foi encontrado nenhum produto patenteado produzido por leveduras capazes de degradar agrotóxicos, sendo Estados Unidos e China os países que mais depositam patentes relacionado ao tema. Esta revisão proporciona um embasamento teórico para possíveis trabalhos futuros, fornecendo conhecimento sobre o processo de degradação de agrotóxicos por leveduras, apresentando agrotóxicos e respectivas leveduras degradadoras, bem como técnicas para identificação dos resíduos resultantes e o percentual de degradação, e as condições ideais que favorecem esse processo. Diante disso, esta revisão sinaliza para a necessidade de novas pesquisas sobre o tema, tanto no que se referem aos artigos científicos como também ao desenvolvimento de produtos patenteados.

Palavras-chave: Agrotóxicos; Biorremediação; Fungos; Leveduras, Tecnologia.

ABSTRACT

The toxic effects of pesticides cause both human and environmental health risks. With industrialisation and population growth, and consequently the expansion of cultivated areas, the application of pesticides has increased in order to protect crops against limiting agents such as weeds, insects and fungi. Bioremediation is one of the most used techniques in decontamination of environments by pesticides, and the mycorremediation presents itself as a plausible and ecological strategy in the degradation of pesticides. Knowing the importance of seeking alternatives to reduce the effects of pollutants, this study aims to identify the yeasts that degrade pesticides, the process of qualitative and quantitative analysis of the resulting residues, as well as the evolution of technological production, through a systematic review and a prospective study of the subject. The methodology used was based on systematic review, using the Methodi Ordinatio in a time scale of 10 years (2011 to 2020), with the databases Science Direct, Scopus, Web of Science, Google Academic and Scielo, in which specific keywords were used to search for articles. As results were found 11 articles related to the theme, considered relevant. The yeasts with degradation potential belong to the genera *Rhodotorula*, *Candida*, *Pichia* and *Pseudozyma*. As for pesticides, Lindane, Bifenthrin, Dinitrophenols, Chlorpyrifos, Diazinon, Atrazine and Polychlorinated Biphenyls were studied. Chromatographic and spectrometric techniques were used in the identification of pesticide residues and in the determination of the degradation percentages. Factors such as pH, temperature, glucose addition and inoculum concentration interfere directly in the degradation processes. The prospective study of patents was performed by Orbit Intelligence, it was not found any patented product produced by yeasts capable of degrading pesticides, being the United States and China the countries that most deposit patents related to the subject. This review provides a theoretical foundation for possible future works, providing knowledge about the pesticides degradation process by yeast, presenting pesticides and their degrading yeasts, as well as techniques to identify the resulting residues and the percentage of degradation, and the ideal conditions that favor this process. Given this, this review signals the need for further research on the subject, both with regard to scientific articles as well as the development of patented products.

Keywords: Pesticides; Bioremediation; Fungi; Yeasts, Technology.

I INTRODUÇÃO

Em um ambiente ecologicamente equilibrado, uma mata nativa apresenta microrganismos, como fungos e bactérias, que convertem e degradam a matéria orgânica incorporada no solo, contribuindo para a ciclagem de nutrientes, sendo assim essenciais para a manutenção da vida na Terra. Com a industrialização e o crescimento populacional, áreas de cultivo vêm crescendo pelo planeta, principalmente em países cujo principal produto da economia é de origem agrícola (Al-SHAALANet *et al.*, 2019; SILVA; GARRIDO, 2021).

A agricultura, principalmente cultivo de monoculturas, promove uma alteração na composição, produtividade, taxas de decomposição e propriedades do solo, sobretudo devido a alterações nas comunidades microbianas residentes, influenciando nos ciclos de nutrientes e da biodiversidade no ecossistema afetado (YURKOV *et al.*, 2012). Para potencializar a produção de alimentos, ainda são introduzidos compostos agrotóxicos com o intuito de proteger as culturas contra agentes limitantes como plantas daninhas, insetos, fungos e outras pestes (GOMES *et al.*, 2020).

Simultaneamente aos benefícios adquiridos com o uso de agrotóxicos na agricultura surgiram também malefícios ocasionados pelo uso indiscriminado, além de aplicações em doses não recomendadas, reaplicações em intervalos irregulares, descarte inadequado das embalagens e/ou resíduos de soluções aquosas, dentre outros (ALVES *et al.*, 2019; ALVES; OLIVEIRA-SILVA, 2013). O efeito tóxico propicia riscos tanto saúde humana (efeitos neurológicos, teratogênicos e carcinogênicos, esterilidade, fraqueza, tonturas, abortos), como ambiental (contaminação da água, solo e ar). Ainda possui efeito acumulativo na cadeia trófica (ALVES *et al.*, 2019; Al-SHAALANet *et al.*, 2019; GOMES *et al.*, 2020).

Uma das alternativas bastante utilizadas para a descontaminação de ambientes é a biorremediação, utilização de seres vivos e suas enzimas, especialmente microrganismos, na degradação dos contaminantes e recuperação dessas áreas. A biorremediação é bastante aceita pela comunidade científica, por ser uma técnica considerada ecologicamente adequada, eficaz e de baixo custo, quando comparada as remediações físico-químicas (ZHANG *et al.*, 2020; SARKER *et al.*, 2021; BOSE; KUMAR; VO, 2021).

Os fungos têm um papel atuante em processos de degradação, e dessa forma tem sido muito utilizados em técnicas de biorremediação. A micorremediação apresenta ser uma estratégia plausível, ecologicamente correta para o tratamento de solos e águas contaminados com agrotóxicos (AKHTARA; MANNAN, 2020). Em contrapartida, ainda são escassas pesquisas sobre leveduras com potencial de degradação e sua utilização em processos de

biorremediação de ambientes contaminados, sendo mais estudados fungos filamentos e macrofungos basidiomicetos (SARKER *et al.*, 2021; ZHANG *et al.*, 2020; RAFAEL, 2018; BOSE *et al.*, 2021; BOKADE; PUROHIT; BAJAJ, 2021)

Existem muitos estudos relacionando a resistência fúngica em amostras clínicas, mas quando comparadas às amostras ambientais, essas ainda são escassas (CASTELO-BRANCO *et al.*, 2020). Considerando que compostos químicos podem causar alterações na expressão ou na sequência de genes específicos, desenvolvendo estratégias de adaptação que por sua vez podem conduzir a resistência de agrotóxicos (PILEGGI; PILEGGI; SADOWSKY, 2020; PAIVA *et al.*, 2020), acredita-se que possa existir espécies de leveduras que possuem também potencial de biodegradação, podendo ser utilizadas em processos biotecnológicos, como a biorremediação.

Sabendo da importância de se descobrir novas alternativas capazes de degradar poluentes no meio ambiente, e a falta de estudos e de metodologias para o processo de degradação de agrotóxicos por leveduras, esta pesquisa de revisão sistemática da literatura tem o intuito investigar leveduras responsáveis pela degradação de agrotóxicos, bem como o processo de análise quali-quantitativa de resíduos reduzidos e metabólitos resultantes, servindo como embasamento para novas pesquisas relacionadas ao tema.

Este estudo também tem a finalidade de analisar a evolução da produção tecnológica do tema ao longo dos últimos dez anos por meio do estudo prospectivo, de natureza técnica e científica. O estudo prospectivo é bastante relevante em uma pesquisa, pois ele contribui no delineamento de novas estratégias, métodos e produtos que inovem e melhorem de forma significativa o futuro, seja no âmbito ambiental e/ou social.

2 OBJETIVOS

2.1 Objetivo geral

Investigar o potencial de leveduras na biodegradação de agrotóxicos, por meio de uma revisão sistemática de literatura e de um estudo prospectivo de patentes nos últimos dez anos.

2.2 Objetivos específicos

1. Identificar leveduras que possuem potencial para degradar agrotóxicos
2. Realizar o levantamento de agrotóxicos já utilizados no processo de micorremediação com leveduras.
3. Mapear as metodologias utilizadas para identificação dos agrotóxicos e de seus metabólitos.
4. Apresentar possíveis metabólitos e subprodutos derivados de degradação dos agrotóxicos encontrados.
5. Realizar o estudo prospectivo do tema abordado pelo banco de dados de patentes do *Orbit Intelligence*.

3 REFERENCIAL TEÓRICO

3.1 Agrotóxicos

Com o crescimento populacional e desenvolvimento econômico, são introduzidas inúmeras substâncias químicas na agricultura que ocasionam aumento da produtividade, sendo muitas vezes utilizadas de maneira exacerbada. Essas substâncias são os denominados agrotóxicos, também chamados de pesticidas, agroquímicos ou defensivos agrícolas (JABALI; MILLET; EL-HOZ, 2019).

Atualmente o Brasil é o único país que emprega na documentação técnica e normativa o termo agrotóxico, mas mundialmente é conhecido como pesticida ou praguicida (SANTOS, 2020). No Brasil é defendido a ideia que o termo pesticida é considerado errôneo, pois significa “o que mata a peste”, e “peste” é doença, mas o que se mata não é a doença e sim os agentes causadores da doença. O termo “defensivo agrícola” é considerado o termo mais errôneo pois mascara os efeitos negativos à saúde humana e ao meio ambiente. Foi preciso muitas negociações políticas para modificarem o termo para “agrotóxico”, visto que comerciantes e produtores desses insumos tinham interesses econômicos, e preferiam manter uma conotação positiva de que essas substâncias defendiam a agricultura (PERES; MOREIRA; DUBOIS, 2003). Os debates sobre sua nomenclatura continuam até os dias atuais, em 2002 foi realizado o projeto de lei (PL) 6.299 de 2002 que defende a mudança do termo “agrotóxico” para “defensivos agrícolas” ou “produto fitossanitário” com o intuito também de suavizar os riscos inerentes aos produtos químicos (LEAL; LOPES, 2019). Mas até o momento não houve nenhuma mudança de nomenclaturas.

De acordo com A Lei Federal nº 7.802 de 11/07/89 que dispõe sobre a experimentação, produção, embalagem e rotulagem, transporte, armazenamento, comercialização, propaganda comercial, utilização, importação, exportação, destino final dos resíduos e embalagens, registro, classificação, controle, inspeção e a fiscalização de agrotóxicos, seus componentes e afins, define no seu Artigo 2º o termo agrotóxico:

“Produtos e componentes de processos físicos, químicos ou biológicos destinados ao uso nos setores de produção, armazenamento e beneficiamento de produtos agrícolas, nas pastagens, na proteção de florestas nativas ou implantadas e de outros ecossistemas e também em ambientes urbanos, hídricos e industriais, cuja finalidade seja alterar a composição da flora e da fauna, a fim de preservá-la da ação danosa de seres vivos considerados nocivos, bem como substâncias e produtos empregados como desfolhantes, dessecantes, estimuladores e inibidores do crescimento”.

De acordo com a Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) (2020), o nível de toxicidade dos agrotóxicos são divididos em seis categorias (Quadro 1).

Quadro 1—Classificação toxicológica dos agrotóxicos

Categoria	Classificação toxicológica	Cor da faixa
Categoria 1	Produto extremamente tóxico	Vermelha
Categoria 2	Produto altamente tóxico	Vermelha
Categoria 3	Produto moderadamente tóxico	Amarela
Categoria 4	Produto pouco tóxico	Azul
Categoria 5	Produto improvável de causar dano agudo	Azul
Não Classificado	Produto não classificado	Verde

Fonte: ANVISA (2020).

Esse nível de toxicidade é determinado de acordo com testes realizados em laboratório que buscam estabelecer a dosagem letal (DL) do agrotóxico em 50% dos animais utilizados na concentração. A dose letal é expressa em miligramas do produto químico por quilograma da massa corporal, já que a capacidade de um determinado composto ocasionar morte ou efeito colateral depende da quantidade presente no corpo do indivíduo (GURGEL, 2020; SOUSA; SILVA; CARNEIRO, 2021).

O Instituto Nacional do Meio Ambiente e dos Recursos Naturais Renováveis (IBAMA) é responsável pela classificação dos agrotóxicos conforme a periculosidade ambiental. Segundo a Portaria Normativa nº 84 de 1996, em seu artigo 3º essa classificação baseia-se nos parâmetros de bioacumulação, persistência, transporte, toxicidade a diversos organismos, potencial mutagênico, teratogênico e carcinogênico. É dividido em quatro classes (Quadro 2):

Quadro 2— Classificação de Periculosidade ambiental

Classe I	Altamente perigoso ao meio ambiente
Classe II	Muito perigoso ao meio ambiente
Classe III	Perigosos ao meio ambiente
Classe IV	Pouco perigoso ao meio ambiente

Fonte: IBAMA (1996).

Os agrotóxicos são classificados tanto pela sua composição química quanto pelo seu organismo alvo. Quanto a seus mecanismos de ação, são definidos como: Inseticidas, fungicidas, fumigantes, herbicidas, acaricidas, nematicidas, dentre outros (RÓDIO; ROSSET,

BRANDALIZE, 2021).

O Brasil por ter como base econômica a agricultura, é considerado como um dos maiores consumidores de produtos químicos agrícolas. De acordo com Censo Agropecuário do Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE) de 2017, foi observado um aumento de 20% no total de estabelecimentos com uso de agrotóxicos, comparado com os dados de 2006. Segundo esse mesmo estudo o Ceará é o quinto estado que mais utiliza agrotóxicos nas lavouras.

De acordo com a Lei Federal 7.802/1989 (LEI ORDINÁRIA 11/07/1989 Art. 3º) os agrotóxicos, seus componentes e afins, a partir da definição do art. 2º desta Lei, só poderão ser produzidos, exportados, importados, comercializados e utilizados se já estiverem registrados nas instituições governamentais competentes: no Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA) com o objetivo de avaliar a eficácia agrônômica dos agrotóxicos, no Ministério do Meio Ambiente com o intuito analisar e classificar o potencial de periculosidade ambiental das aplicações, e no Ministério da Saúde para executar a avaliação e classificação toxicológica dos mesmos. Com a obtenção desses dados realizados por esses entes federais, são elaboradas também as bulas dos produtos químicos, contendo informações bem como recomendações e restrições necessárias para obter uma maior segurança no seu manuseio.

3.1.1 Agrotóxicos mais utilizados

Com relação estrutura química, os agrotóxicos são classificados em cinco classes: organoclorados, organofosforados, carbamatos, piretróides e triazinas, sendo bastante utilizados tanto na agricultura como em domicílio (RÓDIO; ROSSET, BRANDALIZE, 2021).

Os organoclorados são considerados os mais agressivos, são compostos lipossolúveis com alta persistência no meio ambiente. Podem causar disfunções endócrinas e mitocondriais, teratogênese, carcinogênese, imunossupressões, além da bioacumulação na cadeia alimentar (GOMES *et al.*, 2020, RÓDIO; ROSSET, BRANDALIZE, 2021). Seu uso foi proibido para o controle de pragas agrícolas, sendo usados apenas para o controle vetorial e transmissão de doenças, como regiões acometidas por malária e febre amarela (SILVA; GARRIDO, 2021), embora o lindano (γ -HCH) ainda seja amplamente utilizado em alguns países (JIN *et al.*, 2019).

Os organofosforados são compostos de éster ou tiol derivados dos ácidos fosfórico, fosfônico, fosfínico ou fosforamídico (SARLAK *et al.*, 2021). Inicialmente foram utilizados na década de 70 durante a Segunda Guerra Mundial, tanto para proteger soldados de pragas que

transmitiam doenças como agentes de guerra química. Posteriormente foram introduzidos na agricultura substituindo os organoclorados por serem menos persistente ao ambiente, porém com alta toxicidade (CASTRO *et al.*, 2017). Dentre os efeitos tóxicos associados aos compostos organofosforados, encontram-se a neurotoxicidade, imunotoxicidade, desregulação endócrina, hepatotoxicidade, potencial hiperglicêmico, dentre outros (SILVA; GARRIDO, 2021; PAIDI *et al.*, 2021).

Agrotóxicos carbamatos (CBMs) são ésteres e tioésteres derivados do ácido carbâmico, substituíram agrotóxicos considerados mais tóxicos, como organoclorados e organofosforados, devido sua mais rápida biodegradação, baixo potencial de bioacumulação e persistência. São amplamente utilizados na agricultura, em domicílio e indústrias. No entanto, seu uso inapropriado pode promover riscos a saúde de organismos não visados, especialmente humanos (MISHRA *et al.*, 2021; OLIVEIRA *et al.*, 2020).

Tanto os carbamatos como os organofosforados são capazes de inibir a colinesterase, uma enzima presente em muitos animais, inclusive nos seres humanos. Essas enzimas tem a função de degradar a acetilcolina, um neurotransmissor responsável pela transmissão dos impulsos nervosos presentes nas sinapses do sistema nervoso central e periférico. A colinesterase uma vez inibida não consegue catalizar a acetilcolina, ocasionando um acúmulo deste neurotransmissor nas sinapses nervosas e impedindo que o estímulo nervoso seja cessado. Com isso, pode ocorrer inúmeros distúrbios, como contrações musculares involuntárias, convulsões e outras neuropatias (BELCHIOR *et al.*, 2017; MISHRA *et al.*, 2021).

Compostos triazínicos por serem altamente persistentes e solúveis em água, possuem fortes riscos de contaminação do solo, águas superficiais e subterrâneas (JIANG *et al.*, 2020, ROUSIS *et al.*, 2021). A atrazina, um dos agrotóxicos mais utilizados na agricultura, pode ocasionar efeitos negativos na reprodução de anfíbios, mamíferos, crustáceos e répteis, sendo considerado ainda um desregulador endócrino nos seres humanos (JIANG *et al.*, 2020). É a terceira no ranking brasileiro de agrotóxicos mais usados (BROVINI *et al.*, 2021).

Os piretróides também são considerados com baixa bioacumulação, sendo utilizados na agricultura e aquicultura desde 1970 para substituir os agrotóxicos tradicionais. Porém propiciam efeitos imunotoxicológicos em peixes quando expostos continuamente devido sua alta absorção nas guelras (YANG; LIM; SONG, 2020). Apesar de seus resíduos não apresentarem toxicidade aguda a longo prazo, pode afetar o desenvolvimento reprodutivo e embrionário de plantas, animais e até mesmo dos seres humanos (ZHANet *et al.*, 2020).

3.1.2 Riscos ao meio ambiente e à saúde humana

Alguns estudos apontam que apenas cerca de 5% da substância ativa presente nos agrotóxicos atingem pragas-alvo, enquanto os 95% penetra no solo e recursos hídricos ou se espalha pelo ar, provocando contaminação humana e poluição ambiental, e consequentemente extinção de espécies da fauna e flora (Al-SHAALANet *al.*, 2019). Ainda possui efeito acumulativo na cadeia trófica, ocasionada pela ingestão de água e alimentos contaminados (GOMESet *al.*, 2020).

O uso excessivo de agrotóxicos ainda promovem a resistência das pragas-alvo, aumentando cada vez mais a quantidade utilizada na agricultura e/ou sendo necessário novos compostos mais potentes e consequentemente mais poluentes (NOGUEIRA; MELVILLE, 2020).

Os agrotóxicos apresentam grandes potenciais de contaminação do solo e corpos d'água devido às suas propriedades físicas e químicas, tais como: solubilidade, adsorção, bioacumulação, precipitação, lixiviação, escoamento superficial, subdrenagem superficial, persistência e toxicidade (MOJIRIet *al.*, 2020). Compostos com maior solubilidade tem mais facilidade de contaminar outros compartimentos ambientais, mas quando livremente dissolvidas na água estão mais acessíveis à radiação solar, à ação de microrganismos e aos efeitos de outros compostos químicos. Em contrapartida, quando apresenta menor solubilidade tendem a agrupar-se a matéria orgânica que protege e reduz o acesso de agentes biodegradantes, adquirindo maior estabilidade, resultando em maior tempo de permanência no ambiente (SILVA, 2019).

Essas substâncias podem atingir o solo diretamente durante a aplicação ou indiretamente por transferência de resíduos provenientes das plantas. O transporte e a permanência do produto químico no solo depende da característica da substância como a densidade, concentração, polaridade, solubilidade, cossolvência, volatilidade, pressão de vapor e pKa, bem como das características do meio poroso onde está o composto: o teor e tipo de matéria orgânica, a distribuição granulométrica, a mineralogia e teor de finos, distribuição de vazios e capacidade de troca catiônica (SILVA, 2019).

A constante contaminação do solo pode deixá-lo infértil, além de prejudicar toda a biota nela existente, sendo capaz de extinguir algumas espécies como também selecionar outras mais resistentes, promovendo um desequilíbrio ecológico. Os agrotóxicos também podem penetrar o solo alcançando lençóis freáticos e posteriormente os rios (ALVES *et al.*, 2019; BELCHIOR *et al.*, 2017). Ao chegar nos rios, podem ocasionar alterações na fauna e flora. A acumulação

dessas substâncias em animais comestíveis pelo homem (peixes, crustáceos, moluscos, dentre outros) também pode ocasionar danos a saúde humana, como intoxicações e surgimento de doenças. Quando este recurso é utilizado para o abastecimento da população se torna ainda mais agravante (ISMAEL; ROCHA, 2019; JABALI; MILLET; EL-HOZ, 2019). Além de resíduos oriundos das práticas agrícolas, os agrotóxicos podem contaminar corpos d'água através de descargas industriais que são liberadas constantemente de forma indiscriminada (JIN *et al.*, 2019).

Carneiro *et al.* (2015) ao realizar um levantamento de estudos feitos no Brasil sobre impactos agrícolas, cita um estudo efetuado pela Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (Embrapa) entre 1997 a 2007. A Embrapa ao analisar o risco de contaminação das águas superficiais e subterrâneas na região do Vale do Rio São Francisco em decorrência dos agrotóxicos aplicados em culturas de manga e uva, observou que entre os agrotóxicos que apresentam maior mobilidade no ambiente são: acefato, dimetoato, diuron, fenarimol, fosetil, metalaxil, metamidofós, metidation, metomil, monocrotofós, tebuconazole, triclorfon, paclobutrazol, plocloz e glifosato.

Essas substâncias também podem ser transportadas em longas distâncias, em que a capacidade do composto transportado depende diretamente de alguns fatores, como: estabilidade, estado físico da substância e velocidade do fluxo do rio. Países em desenvolvimento e com agricultura intensiva, como no Brasil, existem maiores probabilidades de fontes difusas de contaminação, em que são mais difíceis de serem efetivamente monitorados, avaliados e controlados do que as fontes pontuais (ALBUQUERQUE, 2019).

Além da água outra preocupação são os alimentos contaminados, resíduos tóxicos podem permanecer em tecidos de frutas e legumes por longos prazos, por serem alimentos presentes cotidianamente na dieta da população em geral, trazem sérios riscos à saúde humana. Sendo necessários medidas avaliativas para detecção desses resíduos (GOMES *et al.*, 2020; GOMES *et al.*, 2021).

Segundo o relatório de estudos realizados pelo Programa de Análise de Resíduos de Agrotóxicos em Alimentos (PARA) da ANVISA no período 2017-2018, foi observado amostras consideradas insatisfeitas por apresentarem valores acima do Limite Máximo de Resíduos (LMR). Ao todo, foram analisadas 4.616 amostras de 14 alimentos de origem vegetal que fazem parte da dieta da população brasileira: abacaxi, alface, alho, arroz, batata-doce, beterraba, cenoura, chuchu, goiaba, laranja, manga, pimentão, tomate e uva. As amostras foram coletadas em estabelecimentos varejistas localizados em 77 municípios brasileiros, exceto no Estado do Paraná, que optou por não fazer parte do Programa desde 2016. Foram detectados

120 agrotóxicos dos 270 pesquisados. Do total de amostras analisadas, 3.544 (77%) foram consideradas satisfatórias quanto aos agrotóxicos pesquisados, sendo que em 2.254 (49%) não foram detectados resíduos e 1.290 (28%) apresentaram resíduos com concentrações iguais ou inferiores ao Limite Máximo de Resíduos (LMR), estabelecido pela Anvisa. Mas 1.072 amostras (23%) apresentaram valores superior ao LMR (ANVISA, 2019). O LMR é definido como o nível de concentração mais alto aceito legalmente para resíduos de agrotóxicos em alimentos (expresso em mg / kg), criado para regular o uso dos agrotóxicos bem como garantir uma exposição com menos riscos aos consumidores (GOMES *et al.*, 2020).

A contaminação no homem pode ocorrer de duas formas: direta (pela pele e vias respiratórias) ou indireta (ingestão de alimentos e água contaminada). Os efeitos agudos, resultantes da exposição direta, acometidas principalmente em agricultores rurais (no manuseio inadequado e não utilização de equipamento de proteção individual - EPI) apresentam sintomas no período de 24 a 48 horas, tais como: náuseas, fraqueza, cefaleia e diarreia (GOMES *et al.*, 2020; ALVES *et al.*, 2019). Uma exposição prolongada sendo direta ou indireta pode ocasionar efeitos crônicos, em que os sintomas vão aparecendo lentamente, sendo capaz de ocasionar doenças mais graves, como: dermatites, impotência sexual, esterilidade, aborto, má formação congênita, efeitos teratogênicos, carcinogênicos e neurológicos, dentre outros (GOMES *et al.*, 2020; DUTRA; FERREIRA, 2016).

Busato *et al.* (2019) em seus estudos realizados com trabalhadores rurais no município de Quilombo (SC), concluiu que sintomas agudos são notórios pelos agricultores, pelo fato de perceberem sintomas imediatos, porém, as intoxicações crônicas passam despercebidas, em que não sabem identificar a causa das doenças. A falta de informações e conscientização dos agricultores, decorrentes da dificuldade de acesso às unidades de saúde, o despreparo das equipes de saúde em relacionar os problemas de saúde com a exposição a agrotóxicos, a falta de fiscalização e acompanhamento técnico na utilização adequada de agrotóxicos são as principais causas de subnotificação e aumento de casos de intoxicação por agrotóxicos (BRITO *et al.*, 2021).

Cunha *et al.* (2020) constatou um total de 1.132 casos de intoxicação por agrotóxicos registrados no estado de Rondônia no período de 2015 a 2019, onde indivíduos de 22 a 50 anos obtiveram o maior índice de intoxicação. Observou-se também que 89,29% dos casos de intoxicação evoluíram para cura sem sequelas, mas 5,74% evoluiu para óbito. Um estudo realizado por Araújo *et al.* (2007) com 102 pequenos agricultores de ambos os sexos, em uma comunidade agrícola localizada em Nova Friburgo (RJ), afim conhecer os aspectos epidemiológicos, clínicos e laboratoriais da exposição múltipla a agrotóxicos, concluiu que

havia um elevado percentual de agricultores com episódios agudos ou subagudos de intoxicação recente (13,7%) ou relatada ao longo dos últimos anos (11,8%). Foram também diagnosticados 13 (12,8%) quadros de neuropatia tardia por exposição aos compostos organofosforados e 29 (28,5%) quadros de síndrome neurocomportamental e distúrbios neuropsiquiátricos associados ao uso crônico de organofosforados.

Apesar das limitações dos registros, no Brasil existe o Sistema Nacional de Informação Tóxico-Farmacológica (SINITOX) e o Sistema Nacional de Informação de Agravos Notificáveis (SINAN) que são referências nacionais. No SINITOX seus dados são mantidos por formulários preenchidos pela rede de 32 Centros de Controle de Intoxicações existentes em 18 estados brasileiros (DUARTE; SANTANA; DALMAS, 2019). De acordo com o SINITOX a principal causa de intoxicações e consequentemente de óbitos são os agrotóxicos de uso agrícola, com letalidade de aproximadamente 3%. Entre 2010 a 2017, foram notificados 33245 casos de intoxicações por agrotóxicos agrícolas, causando 1003 mortes (SINITOX, 2020).

Outra fonte de contaminação tanto ambiental como social, é o descarte inadequado das embalagens. De acordo com a Lei Federal 9.974 de 6 de junho de 2000, no art. 1º os usuários dos agrotóxicos têm o dever de devolver as embalagens aos estabelecimentos comerciais de acordo com as instruções nas respectivas bulas em até um ano, contado a partir da data de compra, ou prazo superior, se autorizado pelo órgão registrante. Esse material será entregue às empresas produtoras que farão o recolhimento e a destinação adequada das embalagens vazias. Infelizmente esta lei nem sempre é praticada, Quental, Belém e Oliveira (2020) ao estudar o destino das embalagens descartáveis de agrotóxicos pelo trabalhador agrícola da Região do Cariri Cearense, observaram que os agricultores da região demonstraram falta de conhecimento e prática de aplicação da legislação, mesmo um pequeno percentual sabendo de que na região existe um ponto de recolhimento das embalagens. Amaro *et al.* (2021) ao realizar uma pesquisa com agricultores do Distrito de Cuncas, Barro – CE obtiveram resultados semelhantes, em que as embalagens vazias, são em geral descartadas de forma incorreta no ambiente ou queimadas a céu aberto e apenas 10% dos agricultores informaram tomar os devidos cuidados para a devolução das embalagens.

Nos estudos realizados por Ristow *et al.* (2020) boa parte dos agricultores (81%) afirmou ter recebido treinamento para manipulação de agrotóxicos, mas a maioria dos treinamentos foram feitos por empresas ou cooperativas agrícolas que os comercializam, agrônomos ou técnicos agrícolas. Apenas seis agricultores afirmaram ter recebido treinamento de órgãos públicos (Emater e Senar). Dessa forma, é necessário que os órgãos públicos também promovam capacitações aos agricultores sobre o uso seguro dos agrotóxicos e o descarte

adequado dos seus resíduos, conforme prevê a Lei nº 7.802/1989, que compete aos órgãos públicos o treinamento e fiscalização da utilização de EPIs, devolução e destinação adequada de embalagens vazias de agrotóxicos (BRASIL, 1989).

Com o aumento da liberação de agrotóxicos no Brasil a situação torna-se preocupante para a saúde humana e ambiental. Gurgel, Guedes e Friedrich (2021) realizaram um estudo descritivo e transversal, onde analisaram normas, decisões judiciais e relatórios técnicos publicados no âmbito da União entre janeiro de 2019 e janeiro de 2021. A partir destes estudos foi inferido que entre 2019 e 2020 foram liberados ao todo 997 agrotóxicos. Com relação a periculosidade ambiental desses agrotóxicos liberados, 48,14% são classificados como muito perigosos para o ambiente (classe II) e 34,10% como produtos perigosos ao ambiente (classe III) e 3,12% como altamente perigosos para o ambiente (classe I), indicando que 85,36% dos produtos autorizados representam um grau de ameaça importante para o ambiente. Somente 14,64% dos agentes foram categorizados como pouco perigosos. Nesse mesmo período também foram aprovadas diversas medidas legais e infralegais que flexibilizam o registro e uso de agrotóxicos no Brasil, como reavaliação toxicológica de agrotóxicos, mudanças nos procedimentos de avaliação de toxicidade, flexibilização das regras de pulverização aérea, autorização da queima de resíduos de agrotóxicos em fornos de cimenteiras, dentre outros. Tais medidas estão voltadas a interesses econômicos que fortalecem o o agronegócio.

3.2 Biorremediação

A biorremediação é a utilização de microrganismos (fungos e bactérias) e plantas com potencial de degradação dos poluentes, sendo aplicados em áreas degradadas e com contaminação ambiental. Os microrganismos biodegradam para obtenção de energia (alimento), em que o contaminante funciona como uma espécie de fonte de carbono. Alguns são capaz de transformá-los em produtos com pouca ou nenhuma toxicidade, como dióxido de carbono, água e sais minerais, podendo ser incorporados ao ambiente sem prejuízos aos organismos vivos, embora também possa surgir metabólitos resultantes de processos de degradação (SOUSA; SANTOS JÚNIOR; SANTOS, 2020; ZHANG *et al.*, 2020; SARKER *et al.*, 2021).

A degradação de agrotóxicos por microrganismos em compostos inorgânicos simples requer processos de oxidação, hidrólise e redução (BOSE *et al.*, 2021). Os fungos merecem destaque em processos de biodegradação devido a sua diversidade metabólica e versatilidade dos múltiplos sistemas enzimáticos, sendo capaz de sobreviver em ambientes desfavoráveis por

longos períodos e crescerem rapidamente quando o ambiente se torna favorável (AKHTARA; MANNAN, 2020).

Existem alguns fatores que podem limitar o processo de biodegradação, tais como: altos níveis de concentração de poluentes, falta de oxigênio, pH desfavorável, falta de nutrientes minerais, baixa umidade, temperaturas desfavoráveis e competitividade biológica (ZHANG *et al.*, 2020). Com as técnicas de biorremediação, esses fatores podem ser ajustados, formando um ambiente propício para que os microrganismos biodegradadores naturais cresçam adequadamente. Em ambientes que possuem baixa quantidade desses microrganismos ainda pode haver a inoculação de microrganismos alóctones, promovendo o aumento da biodegradação (AZUBUIKE; OKPOKWASILI; CHIKERE, 2016; MARIANO, 2006; MOREIRA; SIQUEIRA, 2006).

A estrutura química das moléculas dos poluentes como tamanho e presença de grupos funcionais, influenciam na biodegradação, pois determina o comportamento da substância no solo, as rotas metabólicas e a absorção por microrganismos (LEONEL *et al.*, 2010). Características do solo como porosidade e a textura também precisam ser analisados no processo de biorremediação (ZHANG *et al.*, 2020; MUTECA, 2012).

Diante disto, é importante que haja uma análise particular do tipo e da quantidade do contaminante, assim como avaliações de ordem biológica, geológica, geofísica e hidrológica do local contaminado. Deve ser analisado também os possíveis efeitos colaterais. As primeiras avaliações biológicas ocorrem em laboratórios, caracterizando os microrganismos biodegradadores naturais do local, bem como seu metabolismo e interação com o poluente, a fim de encontrar formas de otimizar a biodegradação (AZUBUIKE; OKPOKWASILI; CHIKERE, 2016; MORAIS FILHO; CORIOLANO, 2016; MUDHOO *et al.*, 2019).

Os processos de biorremediação são divididos em dois tipos: *in situ* e *ex situ*, existem vários tipos de técnicas, algumas podem ser aplicadas tanto *in situ* como *ex situ* (GHANGREKAR, SATHE, CHAKRABORTY, 2020).

3.2.1 Biorremediação *in situ* e *ex situ*

Na biorremediação *in situ* não há remoção do material contaminado, sendo o tratamento realizado no próprio local onde há a contaminação. Dispõe de processos que vão desde a inserção de oxigênio e nutrientes, até a adição de organismos específicos para cada tipo de contaminante. Esta técnica diminui os custos e evita distúrbios ambientais associados a movimentações de água e solos contaminados para outros locais destinados ao tratamento, em

contrapartida o processo de descontaminação pode ser mais lento (MUDHOO *et al.*, 2019; MORAIS FILHO; CORIOLANO, 2016).

Já na biorremediação *ex situ* o material contaminado é retirado do solo ou efluente de onde apresenta a contaminação e posteriormente levado para ser tratado em outro local, como no laboratório, por exemplo. Esta prática é realizada quando existem riscos de contaminação de pessoas e do ambiente próximo do solo a ser biorremediado, características desfavoráveis do local contaminado, presença de altas concentrações e dos tipos de contaminantes a ser biodegradado. Esta técnica possui vantagens por se ter um maior controle dos níveis de temperatura, oxigênio, nutrientes e pH. Apresenta também uma maior versatilidade quanto ao tratamento de diferentes contaminantes e tipos de solo (BALSEIRO-ROMERO *et al.*, 2019). No entanto, o transporte do solo contaminado promove custos mais elevados, comparados com os procedimentos *in situ* (GHANGREKAR, SATHE, CHAKRABORTY, 2020).

3.2.2 Biorremediação intrínseca

Consiste em uma atenuação natural monitorada sem adição de outros nutrientes ou microrganismos (FRIAS; SANTOS, 2020). É utilizado apenas os microrganismos presentes na microbiota do local contaminado, também chamados de autóctones, que possuem capacidade de biodegradar os poluentes, usando-os como fonte de carbono (MORAIS FILHO; CORIOLANO, 2016).

Esta técnica é promissora devido a intervenção ser mínima, mantendo equilíbrio ambiental. Mas por depender apenas dos processos naturais, este método torna-se lento, o que exige o uso em conjunto de outras técnicas bem como o monitoramento por um longo período de tempo (AZUBUIKE; OKPOKWASIL; CHIKERE, 2016; CARNEIRO; GARIGLIO, 2010). Para que a biorremediação intrínseca seja eficaz, é necessário um maior aprofundamento das características geológicas, hidrológicas e biológicas do local a ser tratado (MARIANO; ANGELIS; BONOTTO, 2007).

3.2.3 Bioestímulo

Na biorremediação por bioestímulo é adicionado tanto populações de microrganismos autóctones, como nutrientes orgânicos e inorgânicos, com o intuito de promover uma maior eficiência e rapidez nas taxas de biodegradação. Vale ressaltar que assim como a biorremediação intrínseca, é necessário que no local haja microrganismos biodegradadores do

poluente. Também são regulados pH, temperatura e aeração, promovendo a correção de fatores limitantes. Este processo pode ser realizado tanto *in situ* como *ex situ* (THAPA; KUMAR; GHIMIRE, 2012, WU *et al.*, 2019).

3.2.4 Bioaumento

Esta técnica pode ser realizada tanto *in situ* quanto *ex situ*. Consiste na inoculação de microrganismos com alto potencial de degradação (MUDHOO *et al.*, 2019). Este processo é indicado para locais que não possuem ou possuem em poucas quantidades os requisitos necessários para que o processo de degradação ocorra (MARIANO, 2006). Também podem ser fornecidos ao ambiente: nutrientes, regulação de pH e temperatura para promover condições mínimas aos microrganismos inoculados (COUTINHO *et al.*, 2015).

A inoculação de microrganismos pode ser realizada tanto por microrganismos autóctones por meio do isolamento e seleção a partir de amostras do ambiente a ser tratado, como microrganismos alóctones que não fazem parte da microbiota do ambiente, sendo coletado a partir de material *ex situ* disponível em coleção de culturas ou outras fontes (GAYLARDE; BELLINASSO; MANFIO, 2005).

Para a realização do processo de bioaugmentação deve-se considerar os seguintes aspectos: a aprovação do órgão ambiental competente, sua eficiência e inocuidade ao ambiente e se os microrganismos aplicados estão em sinergia, sem interferir nos processos ecológicos e biogeoquímicos naturais (MARIANO, 2006).

3.2.5 Landfarming

É uma técnica que consiste na aplicação do contaminante seja na forma líquida ou sólida (solo contaminado), na camada superior do solo (arável), que contém 90% dos microrganismos biodegradadores. Os rejeitos são incorporados ao solo por aração e gradagem. As condições físico-químicas do solo como níveis de água, aeração e nutrientes, são ajustados para maximizar a atividade microbiana heterotrófica (LACERDA; NAVONI; AMARAL, 2019; MOREIRA; MARQUES, 2019). A área do tratamento é permeabilizada com geomanta e argila compactada para evitar a infiltração do chorume no subsolo (WEBER; SANTOS, 2013).

Pode-se também bioaumentar o solo com microrganismos biodegradadores e adicionar surfactantes, com o intuito de potencializar a degradação. Esta técnica pode ser realizada tanto *in situ* como *ex situ*, mas se existirem riscos de contaminação subsuperficial do solo, o

tratamento deve ser apenas *ex situ* (JACQUES *et al.*, 2007). As desvantagens são a grande demanda por espaço físico, devido ao tratamento de camadas não muito espessas e a necessidade de se impermeabilizar grandes áreas (BERGER, 2005).

3.2.6 Biorreatores

Diferente dos demais, o tratamento é realizado em um espaço fechado, o reator. Com este tipo de ambiente é possível monitorar em tempo real as concentrações de oxigênio, nutrientes, teor de água, temperatura e pH, tornando a biodegradação mais rápida e eficiente (AZUBUIKE; OKPOKWASILI; CHIKERE, 2016; BALSEIRO-ROMERO *et al.*, 2019). O espaço pequeno também propicia maior disponibilidade de contaminantes aos microrganismos degradadores e uma maior homogeneidade do solo, facilitando também a biodegradação (RIZZO *et al.*, 2007).

Em contrapartida, são necessários maiores custos para a realização deste tratamento, por causa do deslocamento do material coletado, seguido de um alto valor energético e da necessidade de tecnologias para a construção e funcionamento dos biorreatores (BERGER, 2005; BALSEIRO-ROMERO *et al.*, 2019).

3.2.7 Compostagem

Baseia-se no tratamento termófilo de solos e resíduos contaminados, em que é misturado com materiais de base vegetal como palhas, pedaços de grama, madeira, folhas e serragem. Esta mistura favorece o aumento da permeabilidade do solo, da taxa de transferência de oxigênio e da fonte de carbono para microrganismos presentes no solo (RIZZO *et al.*, 2007), bem como reaproveitamento de resíduos orgânicos, redução da poluição e contaminação do meio ambiente, além de vetores de doenças que se proliferam durante a decomposição da matéria orgânica (LACERDA; NAVONI; AMARAL, 2019).

Neste caso, o solo contaminado é removido do local de origem e colocado na forma de pilhas em um ambiente que haja controle da lixiviação e do escoamento superficial do chorume originado dessas pilhas. E a biodegradação ocorre por meio dos microrganismos aeróbios presentes no local, transformando os contaminantes orgânicos em dióxido de carbono e água (JACQUES *et al.*, 2007). É bastante utilizado no tratamento de compostos orgânicos do resíduo sólido urbano, afim de propiciar a redução desses resíduos em aterros sanitários e a emissão de gases de efeito estufa (VELHO *et al.*, 2021), mas também pode ser utilizada no tratamento de

solos contaminados com compostos orgânicos tóxicos, como Hidrocarbonetos aromáticos policíclicos (PAHs), agrotóxicos e explosivos, desde que seja bem controlado os parâmetros físicos, químicos e biológicos, lixiviação, volatilização e escoamento superficial (BERTICELLI *et al.*, 2016). Os custos dependem da quantidade de solo que vai ser tratado, o tipo de contaminante e do projeto que será aplicado (COUTINHO *et al.*, 2015).

3.2.8 Biopilhas

Alguns autores consideram compostagem e biopilhas sinônimos por serem técnicas semelhantes. O processo ocorre por meio da construção de células ou pilhas de solo contaminado com o intuito de estimular a atividade microbiana aeróbia dentro dessas pilhas através de uma aeração eficiente. Podem ser adicionados água e nutrientes como fontes de nitrogênio e de fósforo para melhorar a atividade microbiana. Também é necessário que haja um controle da lixiviação para evitar contaminação de outros ambientes. Geralmente são recobertas por plástico para evitar a liberação de contaminantes para a atmosfera, bem como protegê-las das variações climáticas (MUTECA, 2012; MOREIRA; MARQUES, 2019).

3.4 Fungos

Fungos são organismos eucariotos, heterotróficos, subdivididos em unicelulares (leveduras) e pluricelulares (filamentosos). Apresenta diversidade filogenética e funcional nos mais diversos ecossistemas, sendo considerados ubíquos (GROSSART *et al.*, 2019). São encontrados na água, ar, solo, plantas, animais, alimentos e no próprio ser humano, comportando-se como saprófitos, parasitas ou simbioses (KOUR *et al.*, 2019). A temperatura ideal para a qualidade de seu crescimento é de 20 a 30°C, com umidade em torno da saturação e pH em torno de 5 a 6. Para o crescimento de suas estruturas vegetativas preferem pouca luminosidade, mas muitas espécies necessitam de luz durante a formação das estruturas reprodutivas (MORAES; PAES; HOLANDA, 2010).

Os fungos têm um papel fundamental na decomposição do solo, conseguem resistir a diversas variações, devido à alta plasticidade e produção de enzimas extracelulares. Além de degradar a matéria orgânica, algumas espécies conseguem degradar substâncias tóxicas, como xenobióticos, metais pesados e poluentes recalcitrantes (BOKADE; PUROHIT; BAJAJ, 2021). Além de serem decompositores e contribuir para a ciclagem de nutrientes, também realizam associações mutualísticas com outros organismos, como algas e plantas, formando líquens e

micorrizas, respectivamente. Existem espécies que vivem como comensais na microbiota humana e de outras espécies de animais (SCHÜNEMANN *et al.*, 2021). Também são importantes para a economia e melhoria da vida humana em diversos âmbitos, tais como: farmacologia, biotecnologia, agricultura, medicina, indústria alimentícia, dentre outros (HYDE *et al.*, 2019).

A classificação taxonômica fúngica é realizada principalmente de acordo com características citológicas, morfológicas e fenotípicas. Com o avanço da tecnologia, atualmente existem métodos mais modernos e eficientes que foram acrescentados na identificação dos fungos, como técnicas bioquímicas e moleculares, obtendo maior precisão nas complexas relações filogenéticas (BROOKS, 2014; MORAES; PAES; HOLANDA, 2010).

Os fungos obtêm energia a partir da absorção de nutrientes solúveis simples, devido sua parede celular ser bastante rígida. Impulsionam enzimas aos substratos onde colonizam e absorvem os nutrientes através da parede e membrana celular por difusão, por meio de um fluxo citoplasmático. A transformação do nutriente dá-se por oxidação desses nutrientes, como compostos orgânicos carbonados (MURRAY; ROSENTHAL; PFALLER, 2005; SILVA; COELHO, 2006).

Produzem metabólitos primários (ácido cítrico, etanol e glicerol) e secundários, sendo que alguns são importantes para a farmacologia e biotecnologia, como a produção de antibióticos (penicilina) (ALVES *et al.*, 2020; OLIVEIRA, 2019). Mas também existem metabólitos secundários maléficos, como as micotoxinas, tendo como consequências diversas patologias alérgicas, embora que para os fungos desempenham um papel de defesa (ARRUDA; BERETTA, 2019).

3.4.1 Leveduras

Levedura se refere a qualquer fungo que se reproduz por brotamento. São classificadas em Hemiascomycetes, da divisão Ascomycota, e Hymenomycetes e Urediniomycetes, da divisão Basidiomycota. São unicelulares, não melanizados, brancos ou avermelhados. É comum a formação de pseudomicélio, inclusive, algumas espécies produzem talos, hifas, células em brotamento e artroconídios (DE HOOG *et al.*, 2002).

A diversidade e a atividade das leveduras são reguladas tanto por fatores bióticos (plantas e outros organismos), como abióticos (pH, umidade, salinidade, estrutura e temperatura do solo) (MOREIRA, 2019). Quanto a vegetação, em solos agrícolas por exemplo, as leveduras ascomicetos são predominantes, aumentando a proporção com o manejo da terra. A

monocultura e a introdução de produtos químicos podem afetar negativamente no equilíbrio desses microrganismos (YURKOV, 2018).

3.4.2 Utilização de leveduras como bioindicadoras de poluição

Por estarem comumente associadas à presença de fezes humanas e de animais, e terem capacidade de sobreviver em ambientes contaminados, as leveduras, como espécies do gênero *Candida*, são de interesse em pesquisas, pois correlacionam a degradação ambiental às atividades antrópicas, tais como esgotos domésticos, efluentes industriais e agrícolas (HAGLER, 2006). São também usadas como bioindicadores de contaminação ambiental, conforme estudos realizados por Paiva *et al.* (2020) e Medeiros *et al.* (2008). Brilhante *et al.* (2015) ressaltam que apesar de leveduras serem onipresentes e consequentemente não possuírem um habitat específico, são sensíveis a mudanças ambientais, provocando alterações fenotípicas como a superexpressão de efeitos bombas de efluxo para desintoxicação celular, indicando presença de compostos químicos em ambientes contaminados. Com isso, espécies de leveduras que resistem e se adaptam a esses ambientes inóspitos, também podem ser utilizadas como bioindicadoras de qualidade de ambientes.

As leveduras mais comumente isoladas nesses ambientes alterados pertencem aos gêneros *Cryptococcus*, *Rhodotorula*, *Saccharomyces*, *Trichosporon* e *Candida* com destaque para as espécies *C. famata*, *R. mucilaginosa* e *C. laurentii*, que têm sido consideradas bioindicadoras de poluição (MEDEIROS *et al.*, 2008).

3.4.3 Resistência das leveduras na presença de agrotóxicos

A capacidade de rápida multiplicação e a diversidade dos fungos fornece oportunidade para a seleção de linhagens resistentes surgidas espontaneamente. Em uma população de fungos fitopatogênicos sensíveis a um determinado composto químico, células com menor sensibilidade ao produto surgem devido à mutação ou outro mecanismo de variabilidade dos seres vivos. Ao longo dos anos, o uso intensivo de agrotóxicos promove a resistência de fungos que fazem parte daquela microbiota (PARREIRA; EVES; ZAMBOLIM, 2009).

Paiva *et al.* (2020) ao isolarem cepas do gênero *Candida* da mata nativa e em áreas de cultivo, verificaram que *Candida guilliermondii*, seguida de *Candida parapsilosis* sensu lato e *Candida albicans* apresentavam resistência ao fluconazol. A mata nativa apresentou o maior número de isolados ao fluconazol, com 35% em relação à 15% de resistência na área de cultivo,

sugerindo contaminação por agroquímicos em longas distâncias, inclusive em ambientes não cultiváveis. Castelo-Branco *et al.* (2020) também obtiveram resultados similares ao encontrar cepas de *Candida* spp. resistentes aos azóis (fluconazol e itraconazol).

Sidrim *et al.* (2021) identificaram leveduras do gênero *Candida* de solos agrícolas cultivados com fungicidas azólicos e analisaram a presença de biofilmes resilientes à antifúngicos clínicos (fluconazol, itraconazol, voriconazol e anfotericina B) e agrícolas (tetraconazol e tebuconazol). Foi concluído que espécies de *Candida* que fazem parte da microbiota dos solos agrícolas estudados, são produtoras de biofilme resistentes a azóis. Foi sugerido que a exposição contínua a fungicidas azólicos em solos agrícolas pode levar ao desenvolvimento de resistência de *Candida* spp., como consequência de pressões seletivas, fator que pode contribuir para a seleção de espécies resistentes também a drogas clínicas, trazendo riscos aos humanos e outros animais que estão em contato com solos colonizados. Vale ressaltar também que espécies identificadas pertencem as espécies *C. parapsilosis* sensu stricto, *C. metapsilosis*, *C. albicans*, *C. tropicalis* e *C. fermentati*, que são descritas como patógenos oportunistas de humanos e/ou outros animais. Pode-se observar que a aplicação de agrotóxicos também promove riscos de desequilíbrios na microbiota, afetando todo o ecossistema.

Como foi dito anteriormente, os fungos, dentre eles as leveduras, quando presente em ambientes inóspitos são capazes de desenvolver mecanismos adaptativos que lhes atribuem resistência a produtos tóxicos, de forma que suas espécies perpetuem. Chen *et al.* (2009) isolaram de um solo contaminado, uma cepa do gênero *Candida* resistente ao Metsulfuron-metil (herbicida sulfonilureia), coletado na província de Jiangsu, China, sendo apresentada como uma nova espécie, *Candida mengyuniae* sp. O primeiro indício de que uma levedura possui capacidade de biodegradar agrotóxico, é sendo resistentes a eles. Mas é necessário avaliar todo o contexto de como ela adquire essa resistência, sendo preciso realizar testes de degradação, como avaliar se sua sobrevivência está relacionado a assimilação de carbono e nitrogênio em contato com essas substâncias tóxicas.

Vadkertiová e Sláviková (2011) estudaram o efeito de nove agrotóxicos diferentes no crescimento de leveduras isoladas das folhas de árvores frutíferas e florestais. Quatro inseticidas (tiaclopride, deltametrina, lambdacialotrina e tiametoxam) e cinco fungicidas (bitertanol, cresoxim-metil, mancozebe, trifloxistrobina e cúpricooxicloreto) foram testados. As cepas de levedura isoladas das folhas das árvores frutíferas não eram sensíveis a nenhum dos inseticidas, já as cepas isoladas de árvores das florestas apresentaram algumas espécies sensíveis. Enquanto *Rhodotorula mucilaginosa* e *Pichia anomala* não foram afetadas por nenhum inseticida, as

cepas de *Cryptococcus laurentii* e *Rhodotorula glutinis* apresentaram maior sensibilidade. Já com relação aos fungicidas as cepas mais resistentes também pertenciam às folhas das árvores frutíferas, como espécies *Metschnikowia pulcherrima*, *Pichia anomala* e *Saccharomyces cerevisiae*, enquanto *Cryptococcus albidus* e *C. laurentii*, originários de folhas de árvores florestais, mostraram maior sensibilidade. Concluiu-se que as cepas isoladas das folhas de árvores frutíferas que são tratadas regularmente com agrotóxicos, adquiriram mecanismos de resistência contra os mesmos. Pode-se perceber esta resistência até em cepas de mesma espécie como *Cryptococcus laurentii*.

Sláviková e Vadkertiová (2003) apresentaram resultados similares ao estudo acima, onde avaliaram o crescimento de leveduras isoladas de solo agrícola com a presença de seis agrotóxicos diferentes: dois herbicidas (com as substâncias ativas de lactofenol e metazacloz), dois fungicidas (fluquinconazol e procloraz) e dois inseticidas (cipermetrina + clorpirifós e triazamato). Os compostos metazacloz, cipermetrina + clorpirifós e triazamato não apresentaram inibição de leveduras mesmo em concentrações altas 18, 0,5 +0,57 e 0,06 mm, respectivamente. As cepas do gênero *Cryptococcus* foram mais sensíveis a agrotóxicos, enquanto as cepas da espécie *Cystofilobasidium capitatum*, *Debarymyces occidentalis* var. *occidentalis* e *Trichosporon cutaneum* foram os mais resistentes.

3.4.4 Aplicação de leveduras em processos de biodegradação

As células de leveduras apresentam um bom sistema enzimático, alta eficiência metabólica e pouca exigência nutricional, além de resistirem a acidez, alta temperatura e pressão osmótica, são consideradas tolerantes a condições desfavoráveis, tendo facilidade de adaptar em ambientes adversos (QADIR, 2019).

A biodegradação das leveduras ocorre por meio da absorção de nutrientes retirados do meio durante a decomposição da matéria orgânica. A assimilação de carbono e nitrogênio é a habilidade que uma levedura tem de crescer aerobiamente na presença de determinado açúcar (fonte de carbono) e/ou de algum composto nitrogenado, fornecido como única fonte de energia (SIDRIM; ROCHA, 2004). Ambos são elementos essenciais para o seu desenvolvimento e crescimento. Em contato com os poluentes, os microrganismos metabolizam os compostos orgânicos presentes, utilizando-os como fontes de energia, contribuindo então na redução das concentrações dessas substâncias ao longo do tempo (ROBB; MOYER, 2001).

Isiaet *al.* (2019) investigaram o potencial da levedura *Pichia kluyveri* FM012 para Degradação de Diclorodifeniltricloroetano (DDT). Este estudo constatou que em condições

ideais (pH 7, temperatura de 25 °C, velocidade de agitação a 150 rpm e presença de glicose) a levedura biodegradou 92% do agrotóxico na concentração de 40 mg/L em meio líquido, sendo utilizada como fonte de nitrogênio. Han *et al.* (2019) comprovaram que a levedura *Clavispora lusitaniae* pode degradar 74% de 200 mg/L do herbicida pendimetalina. Nos estudos de Derbalah, Banna e Allah (2021) a *C. Tropicalis* degradou 98% da concentração inicial do fungicida metalaxil (5 mg/L) em 36 dias, a 30 °C e pH 7.

Wang *et al.* (2012) concluíram com seus experimentos que a levedura *Yarrowia lipolytica* foi capaz de hidrolisar o metil paration, e em condições consideradas ideais (OD 600nm = 2,6, substrato com concentração = 100 mg/L e temperatura 40°C) foi hidrolizado 90,8% de metil paration em 30 minutos. Em condições semelhantes com mudanças de pH, a hidrólise ocorreu entre 98,7% (água da torneira - pH 9,5), 97% (água da torneira - pH 6,8), 96,5% (água do mar - pH 9,5) e 94,4% (água do mar natural - pH 8,2), mostrando eficácia na remoção do agrotóxico.

Xu *et al.*, (2007) também obtiveram resultados satisfatórios ao mineralizar o clorpirifós utilizando o *Trichosporon* sp. isolado de lodo ativado, degradando 50 mg de clorpirifós dentro de 7 dias. Zhou, Liu e Zhao (2015) concluíram que leveduras comestíveis são potentes ao degradar compostos organofosforados, dissipando clorpirifós, diclorvós, forato e triclorfon presentes no trigo.

Mesmo sabendo da potencialidade de leveduras em biodegradar agrotóxicos presentes no solo, ainda existem poucos estudos que mostram seu uso em processos de biorremediação em solos contaminados por agrotóxicos. Desse modo, é necessário novas pesquisas para a descoberta de leveduras com potenciais biotecnológicos, e posteriormente úteis em processos de biorremediação.

3.4.5 Sensibilidade antifúngica e bombas de efluxo

A resistência de muitos microrganismos, como bactérias e leveduras, dá-se por meio de bombas de efluxo, com o bombeamento ativo de antimicrobianos do meio intracelular para o extracelular. As bombas de efluxo são formadas por proteínas transmembrânicas que atuam como transportadores e tem como finalidade traduzir ativamente compostos através das membranas celulares. Estão divididas em dois grupos com base na sua estrutura e tipo de energia que utilizam para o transporte de várias moléculas: o primeiro grupo pertence a família ABC (ATP Binding Cassette) realiza a degradação da ATP para obter energia, o segundo são compostas por proteínas MFC (Major Facilitator Superfamily) que obtém energia por um

gradiente de concentração de prótons presentes em membranas biológicas (CANNON *et al.*, 2009).

Castelo-Branco *et al.* (2020) ao avaliar a resistência aos azóis (fluconazol e intraconazol) mediante o envolvimento de bombas de efluxo em *Candida* spp, e ao comparar os valores de corte epidemiológicos antifúngicos (ECVs) contra *C. albicans* e *C. tropicalis* de humanos e animais, concluíram que os mecanismos mediados por efluxo estão envolvidos na resistência aos azóis em *Candida* spp. Ressaltou também que os ECVs em animais eram maiores que as de humanos, apontando assim a existencia também de condutores ambientais de resistência em resposta da exposição de contaminantes em seus habitats.

4 MATERIAL E MÉTODOS

4.1 Revisão Sistemática da Literatura - RSL

Foi utilizado o *Methodi Ordinatio* para a realização da revisão sistemática. É um método de busca e coletas de artigos científicos que auxilia na elaboração de um portfólio. O *Methodi Ordinatio* seleciona artigos de acordo com sua relevância científica, avalia três critérios importantes em um artigo: o fator de impacto da revista em que o artigo foi publicado, o número de citações até a execução da pesquisa e o ano de publicação. Essa ordenação é feita por meio da aplicação do *Index Ordinatio (InOrdinatio)*. É considerado um método prático e eficaz, apresenta nove fases (PAGANI; KOVALESKI; RESENDE, 2015).

Neste estudo foram aplicadas todas as etapas do *Methodi Ordinatio*, tornando esta pesquisa mais criteriosa e completa. Mesmo com a aplicação do *InOrdinatio* para a obtenção de uma classificação científica, foi lido o resumo de todos os artigos para a seleção e análises de todos relacionados ao tema.

4.2 Aplicação do Methodi Ordinatio no presente estudo

Neste tópico são apresentadas as nove etapas da aplicação do *Methodi Ordinatio* na prática:

ETAPA 1 – Intenção da Pesquisa

O intuito do estudo é investigar o uso de leveduras na biodegradação de agrotóxicos

bem como sua aplicação em processos de biorremediação, em uma escala temporal de 10 anos.

ETAPA 2 – Pesquisa preliminar

De início as pesquisas foram realizadas com palavras chaves individuais e também com várias palavras-chave ao mesmo tempo, com a presença de pelo menos uma delas no título. Mas com o intuito de especificá-la, optou-se que em cada busca fosse utilizado duas a três palavras-chaves com comandos booleanos *and* e *aspas*, contendo todas obrigatoriamente no título. As buscas foram afinadas, do mais abrangente ao mais específico, para assim obter uma pesquisa mais precisa.

A palavra-chave “yeasts” foi colocada em todas as buscas, visto que apesar de outros microrganismos serem utilizadas em processos de biodegradação de agrotóxicos, o foco do trabalho é observar apenas as leveduras.

ETAPA 3 – Definição das palavras-chaves e base de dados

Ficou delimitado que as palavras-chave seriam de acordo com as conclusões da etapa 2, apresentadas no Quadro 3. Foram utilizadas as seguintes bases de dados: Science Direct, Scopus, Web of Science, Google Academic e Scielo. Estas bases foram selecionadas devido à sua importância no meio científico e por serem bastante empregadas no Brasil e no mundo.

Quadro 3 — Palavras-chave para a busca de artigos

“yeasts” and “pesticides”
“yeasts” and “bioremediation”
“yeasts” and “biodegradation”
“yeasts” and “contaminated soil”
“yeasts” and “bioremediation” and “contaminated soil”
“yeasts” and “pesticides” and “biodegradation”
“yeasts” and “bioremediation” and “contaminated soil” and “pesticides”

Elaborada pela autora (2021)

Etapa 4- Pesquisa definitiva:

Após a definição das palavras-chave e bases de dados, foi realizada uma busca avançada para a seleção dos artigos, com restrição de 10 anos (2011 a 2020), com todas as palavras-chave contidas obrigatoriamente no título.

Etapa 5 – Filtragem:

Todos os artigos foram exportados para o programa *Mendeley* e posteriormente para o programa *JabRef*, em que foram identificados e excluídos os artigos duplicados. Após a definição dos artigos para análise, foram transportados para uma planilha do Microsoft Excel.

ETAPA 6 – Identificação do fator de impacto e das citações

O Fator de Impacto (FI) é a medida bibliométrica mais conhecida e usada, indica a relevância científica de uma revista, geralmente periódica, com base na relação entre a média das suas citações dos artigos pela quantidade de artigos que ela publica, num determinado período de tempo, geralmente dois anos. Desse modo, o FI de uma revista científica de 2019, por exemplo, é calculado a partir da soma de citações dos artigos publicados nos dois últimos anos (2017 e 2018) que foram citados durante 2019, dividido pelo número de artigos publicados pela revista nos anos 2017 e 2018 (ROQUE, 2012).

O FI mais utilizado é o JCR, desenvolvido pela *Web of Science* mantido pela *Clarivate Analytics*. Existe também o *CiteScore* e *SJR*, métricas elaboradas pela *Scopus*, presente na base de dados da *Elsevier*, que são calculadas anualmente pelo número médio de citações recebidas durante o ano, dividido pelos artigos publicados na revista nos três anos anteriores (AL-HOORIE; VITTA, 2018; ROQUE, 2012).

O Fator de impacto usado no presente estudo teve como prioridade o *Journal Citation Reports* (JCR), do ano de 2019 que é o mais recente. Para os periódicos sem a presença do JCR foi usado o fator de impacto *CiteScore* e *SJR* (Scimago), respectivamente. E as citações dos artigos foram levantadas por meio da ferramenta Google Acadêmico.

ETAPA 7 – Ordenação dos artigos por meio da equação *InOrdinatio*

O *InOrdinatio* é considerado um método multicriterioso capaz de avaliar a relevância

dos artigos cientificamente, por meio do fator de Impacto, ano de publicação e número de citações, ordenando do maior para o menor. Este cálculo é feito para todos os artigos coletados, de acordo com a Eq. 1:

$$InOrdinatio = (FI / 1000) + (\alpha \times (10 - (AnoPesquisa - AnoPublicação))) + (CI)$$

Sendo:

FI: Fator de impacto mais recente do periódico onde foi publicado;

1000: Valor já apresentado na equação. É utilizado para normalizar e diminuir o valor do *FI* para que não ultrapasse de 5 dígitos. Essa divisão ocasiona pouca interferência na equação.

α : Fator de ponderação do ano de publicação do artigo encontrado para a pesquisa. Pode variar de 0 a 10, quanto maior o valor, maior a importância da atualidade do artigo. Neste estudo foi utilizado o número 10, pois o tema é considerado atual e a busca foi realizada em uma escala temporal dos últimos 10 anos (2011 a 2020), atribuindo relevância ao ano de publicação dos artigos.

10: Valor que já é dado na equação. É atualidade do artigo, 10 anos é o recorte ideal para se trabalhar em uma pesquisa;

AnoPesquisa: Ano em que está sendo realizada a pesquisa dos trabalhos nas bases de dados. No nosso estudo foi utilizado 2021;

AnoPublicação: Ano de publicação do artigo selecionado;

CI: Número total de citações que o artigo obteve até o momento da pesquisa.

Esta equação foi aplicada para todos os artigos presentes na planilha do Excel, onde foram ordenados do maior para o menor valor de relevância.

ETAPA 8 e 9 – Localização dos artigos em formato integral, leitura e análises.

Todos os artigos foram encontrados na íntegra. Inicialmente, foi realizada uma triagem com a leitura dos resumos coletados, com o intuito de verificar os artigos que tem relação com o tema “Biodegradação de agrotóxicos por leveduras”. Os artigos que apresentavam estudos distintos do tema em questão foram excluídos, e os relacionados ao tema foram lidos na íntegra.

4.3 Estudo de Prospecção

A pesquisa de patentes foi realizada pelo *Orbit Intelligence*, utilizando as mesmas palavras-chave e o mesmo período temporal da busca de artigos nas bases de dados.

A plataforma *Orbit Intelligence* permite a busca e análise de informações contidas em patentes, com a opção de geração de gráficos, mapas e diagramas. Esta ferramenta promove a otimização da classificação e integração de produtos, importação e verificação de dados para formação de portfólio, atualizações bibliográficas, inventores e outras informações (OLIVEIRA, 2017).

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 Revisão Sistemática pelo *Methodi Ordinatio*

Na pesquisa preliminar, as buscas realizadas com palavras-chave individuais e com várias palavras-chave ao mesmo tempo, foi possível perceber que em ambas surgiram muitos artigos sem nenhuma relação com o tema. Também foi observado poucos estudos envolvendo “Biodegradação de agrotóxicos por leveduras”. Foram coletados 232 artigos. O Quadro 4 apresenta o quantitativo de artigos encontrados nas bases de dados.

Quadro 4 —Resultado dos artigos encontrados nas bases de dados

Base de Dados	Artigos encontrados
Science Direct	18
Scopus	102
Web of Science	89
Google Academic	23
Scielo	0
Total	232

Elaborada pela autora (2021)

Dos 232 artigos, 136 foram identificados como duplicatas, restando 96 para serem analisados. Foram lidos os resumos dos 96 artigos afim de verificar os que tinham relação com o tema. A partir desta análise, resultaram 11 artigos que por sua vez foram lidos na íntegra. O Quadro 5 apresenta os 11 artigos selecionados na ordem de relevância de acordo com a classificação do método *In Ordinatio*.

Quadro 5 — Apresentação dos artigos analisados e suas respectivas informações já com a classificação do *InOrdinatio* (continua)

Nº	Author	Title	Fi	Ci	Year	Journal	<i>In Ordinatio</i>
22	Bempelou, E.D. et al.	Biodegradation of chlorpyrifos and 3,5,6-trichloro-2-pyridinol by the epiphytic yeasts <i>Rhodotorula glutinis</i> and <i>Rhodotorula rubra</i>	2,535	11	2018	Ecotoxicology	81,003
35	Chen, S. et al.	Microbial detoxification of bifenthrin by a novel yeast and its potential for contaminated soils treatment	2,740	62	2012	PLoS One	72,003
37	Salam, J.A. et al.	Biodegradation of lindane using a novel yeast strain, <i>Rhodotorula</i> sp VITJzN03 isolated from agricultural soil	2,477	51	2013	World Journal of Microbiology and Biotechnology	71,002
56	Salam, J.A; Das, N.	Lindane degradation by <i>Candida</i> VITJzN04, a newly isolated yeast strain from contaminated soil: Kinetic study, enzyme analysis and biodegradation pathway	2,477	24	2014	World Journal of Microbiology and Biotechnology	54,002
59	Chen, F. et al.	Enhanced biodegradation of polychlorinated biphenyls by defined bacteria-yeast consortium	1,528	14	2015	Annals of Microbiology	54,002
67	Dordevi&c acute;, T.M., et al.	Stability of the pyrethroid pesticide bifenthrin in milled wheat during thermal processing, yeast and lactic acid fermentation, and storage	2,614	24	2013	Journal of the Science of Food and Agriculture	44,003
74	Abigail, E.A.; Abdul Salam, J.; Das, N.	Atrazine degradation in liquid culture and soil by a novel yeast <i>Pichia kudriavzevii</i> strain Atz-EN-01 and its potential application for bioremediation	1,400	16	2013	Journal of Applied Pharmaceutical Science	36,001

Quadro 5 — Apresentação dos artigos analisados e suas respectivas informações já com a classificação do *InOrdinatio* (conclusão)

76	Zaharia, M. et al.	Yeast biodegradation of some pesticide dinitrophenols	0,765	14	2013	Romanian Biotechnological Letters	34,001
77	Salam, J.A.; Das, N.	Enhanced biodegradation of lindane using oil-in-water bio-microemulsion stabilized by biosurfactant produced by a new yeast strain, <i>Pseudozyma VITJzN01</i>	1,992	12	2013	Journal of Microbiology and Biotechnology	32,002
81	Zaharia, M. et al	Biodegradation of pesticides DINOCA and DNOC by yeast suspensions in a batch system	1,755	8	2013	Revista de Chimie	28,002
84	Bempelou, E.D. et al.	Biodegradation of diazinon by the epiphytic yeasts <i>Rhodotorula glutinis</i> and <i>Rhodotorula rubra</i>	1,200	5	2013	Hellenic Plant Protection Journal	25,001

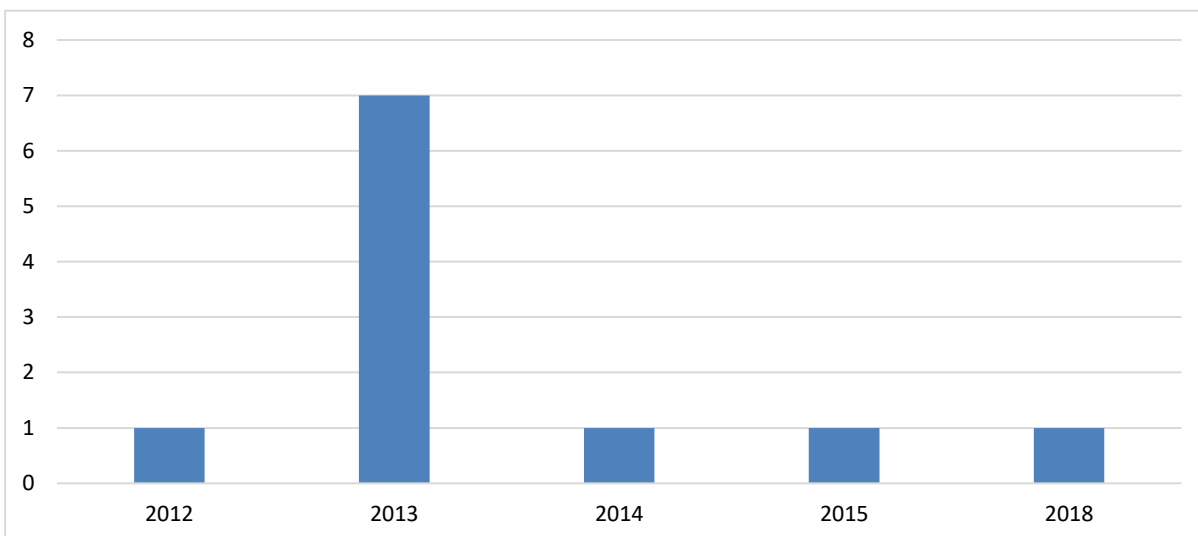
Elaborada pela autora (2021)

A numeração presente na coluna 1 do Quadro 5 refere-se a colocação dos artigos dentre os 96 que foram analisados para a escolha dos mais relevantes para o estudo. Observa-se que mesmo ordenados pelo *InOrdinatio*, é preciso examinar todos os artigos coletados, visto que as primeiras colocações podem não estar especificamente relacionado com o tema que está sendo investigado. Neste estudo houve tanto buscas mais abrangentes como específicas.

Percebe-se que os artigos escolhidos não estão nas primeiras colocações. Provavelmente os que apresentaram maior peso quanto a Fi e Ci não apresentaram todas as palavras-chave necessárias. Porém, os artigos que citam a degradação de agrotóxicos por leveduras apresentados no Quadro 5, ainda possuem bons Fi, como a revista *Ecotoxicology*, *PLoS One*, *World Journal of Microbiology and Biotechnology* e *Journal of the Science of Food and Agriculture*, reconhecidas em todo o mundo no ramo da biotecnologia e na busca de soluções de problemas ambientais globais.

O ano que teve maior número de publicações foi em 2013, com 7 artigos. Os demais anos tiveram apenas uma publicação (Figura 1).

Figura 1 — Ano de publicação dos artigos coletados

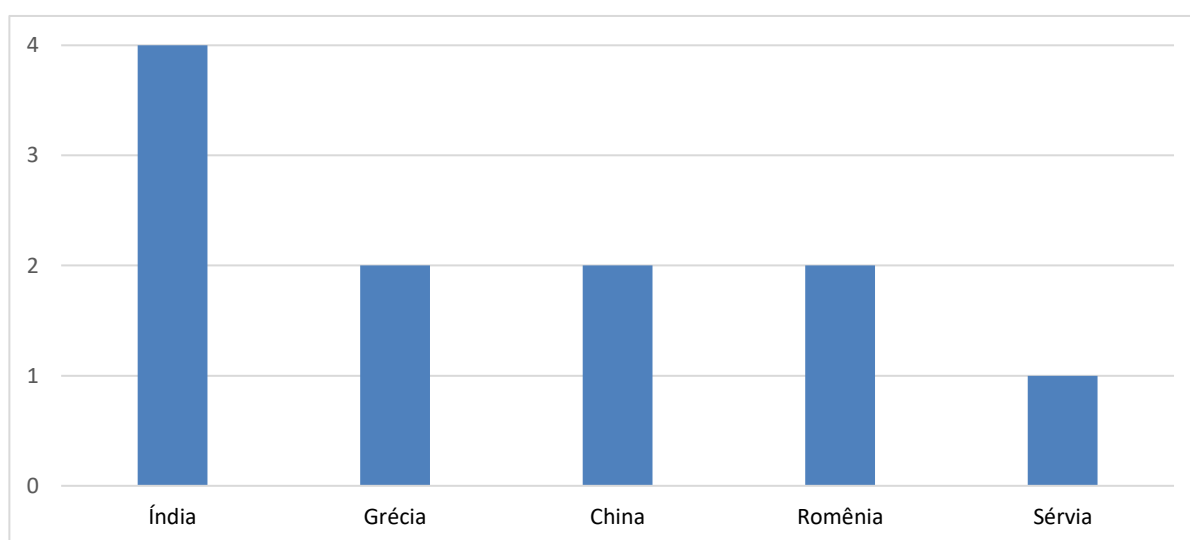


Elaborada pela autora (2021)

A partir dos resultados apresentados no Gráfico 1, pode-se perceber um decréscimo de publicações nos últimos anos. Mas como esta metodologia é baseada em palavras-chave, alguns estudos podem ter ficado de fora por não as apresentar explícitas no título.

Com relação aos países onde foram realizados os estudos, a Índia se sobressaiu com 4 artigos, seguido da Grécia, China e Romênia com 2 artigos. Sérvia apresentou apenas um estudo (Figura 2).

Figura 2—Países de publicação dos artigos coletados



Elaborada pela autora (2021)

A Índia é considerada como um dos principais contribuintes de distribuição de

agrotóxicos persistentes orgânicos do mundo. Com o aumento de fabricantes de agrotóxicos na Índia, houve redução de 50% do preço, tornando uma opção economicamente viável, e promovendo consequentemente o aumento do uso pelos agricultores. A Índia é considerada a quarta maior produtora mundial, depois dos EUA, Japão e China. Em contrapartida, foi observado um aumento de resíduos presentes no solo e na água. Uma série de pesquisadores em torno do mundo relataram que agrotóxicos persistentes originários da Índia afetam negativamente até os países vizinhos. Com isso, constantemente o governo da Índia está em busca de controlar o uso indiscriminado dos agrotóxicos, além do monitoramento e restauração de ambientes contaminados (YADAV *et al.*, 2015). Isso explica o maior quantitativo de artigos realizados na Índia (4 artigos) no período em que os estudos foram efetuados (2013).

As leveduras utilizadas nos processos de degradação dos agrotóxicos nos artigos coletados foram: *Saccharomyces cerevisiae* (3 estudos), *Rhodotorula glutinis* (2), *Rhodotorula rubra* (nomenclatura atual: *Rhodotorula mucilaginosa*) (2), *Rhodotorula* sp., (1), *Candida pelliculosa* (teleomorfo *Pichia anomala*), *Candida* sp. (1), *Debaryomyces maramus* (1), *Pseudozyma* sp. (1) e *Pichia kudriavzevii* (anamorfo *Candida krusei*) (1).

Os estudos encontrados apresentam a degradação dos agrotóxicos apresentados no quadro 6.

Quadro 6 — Relação dos agrotóxicos analisados nos artigos coletados

Agrotóxico	Nº de artigos	Autores
Lindano	3	Salam <i>et al.</i> (2013); Salam; Das, (2014a); Salam; Das, (2013a)
Bifentrina	2	Chen <i>et al.</i> (2012); Dordevic <i>et al.</i> (2013)
Dinitrofenóis	2	Zaharia <i>et al.</i> (2013a); Zaharia <i>et al.</i> (2013b)
Clorpirifós	1	Bempelou <i>et al.</i> (2013)
Diazinon	1	Bempelou <i>et al.</i> (2018)
Atrazina	1	Abigail, Salam e Das (2013)
Bifenilos Policlorados	1	Chen <i>et al.</i> (2012)

Elaborada pela autora (2021)

5.2.1 Lindano

O Lindano é uma mistura de vários isômeros de hexa-clorociclohexano (HCH) que é produzido industrialmente pela cloração fotoquímica do benzeno sob uma luz ultravioleta (OKEKEET *et al.*, 2002). É um agrotóxico organoclorado amplamente utilizado na agricultura, saúde humana e veterinária, sendo um poluente altamente tóxico e persistente. Seus resíduos apresentam um sério risco à saúde humana e ao meio ambiente (SAEZ *et al.*, 2015).

Salam *et al.* (2013) isolaram *Rhodotorula* VITJzN03 de um campo de cultivo de sorgo com aplicações de agrotóxicos há mais de 15 anos, sendo capaz de usar o lindano como fonte de carbono e energia em condições aeróbicas. A mineralização completa do lindano foi observada a uma concentração inicial de 600 mg/L em um período de 10 dias. Salam e Das (2014a) também isolaram uma cepa de *Candida* sp. em um cultivo de cana-de-açúcar, onde foi capaz de degradar eficientemente 600 mg/L de lindano dentro de 6 dias, como única fonte de carbono em meio mineral.

Esses estudos assemelham-se aos de Salam, Hatha e Das (2017) e Salam e Das (2014b) que também obtiveram resultados positivos com *Candida* sp. O primeiro estudo bioaumentou a levedura na rizosfera da planta *Saccharum* por inoculação radicular, essa bioaugmentação ocorreu de duas formas, sendo aplicada tanto na forma planctônica como em células imobilizadas no bagaço da cana-de-açúcar, proporcionando a degradação do lindano (100 mg/kg) em 87% e 95%, respectivamente. *Candida* sp. melhorou também o crescimento da planta e na atividade microbiana do solo por ser um eficiente solubilizante de fosfato. O segundo estudo avaliou a incorporação de *Candida* sp. em um sistema usando nano-óxido de zinco (n-ZnO), sendo mais eficaz em comparação com as leveduras individuais, resultando na remoção completa do agrotóxico em 3 dias em uma concentração de 600 mg/L. Essa rápida degradação ocorreu devido ao aumento da porosidade e permeabilidade na membrana celular da levedura, facilitando a entrada do lindano no citoplasma e na decloração mediada por n-ZnO.

Salam e Das (2013a) publicaram outro estudo sobre a biodegradação do lindano, isolando a levedura *Pseudozyma* VITJzN01 de um campo de milho contaminado com o agrotóxico. Foi avaliada sua capacidade de produzir biossurfactantes e utilizar o lindano como única fonte de carbono e energia. A levedura produziu um biossurfactante glicolípido MEL, e as bio-microemulsões de azeitona óleo-em-água (O/W) melhoraram efetivamente a degradação do lindano em alta concentração por *Pseudozyma*, propiciando o aumento da solubilidade e biodisponibilidade. A degradação de lindano (700 mg/L) por *Pseudozyma* em meio líquido aumentou 36% em 2 dias, em comparação com a degradação em 12 dias na ausência de bio-

microemulsões. No experimento na lama de solo enriquecida com lindano também mostrou aumento 20-40% de degradação melhorada em comparação ao tratamento com glicolipídeos ou a levedura sozinha.

O estudo anterior corrobora com Salam e Das (2013b), em que uma cepa *Rhodotorula* sp. VITJzN03 produziu um biossurfactante glicolipídico identificado como soforolipídeo por meio da adição de azeite de oliva nas culturas da levedura. A produção induzida de soforolipídeos pela levedura mostrou atividade de emulsificação extracelular e redução da tensão superficial durante o crescimento em meio mineral, resultando na degradação do lindano (600 mg/L) aumentada em 20%, sendo completamente mineralizado ao final do 5º dia. Biossurfactantes são compostos provenientes de microrganismos como bactérias, fungos ou leveduras, possuem moléculas anfipáticas constituídas de uma porção hidrofóbica e uma porção hidrofílica. Apresentam propriedades como redução da tensão superficial, potencial de emulsificação, além de serem considerados biodegradáveis e de baixa toxicidade, comparado ao surfactante químico. Dessa forma, têm sido úteis em processos de degradação de poluentes (TEIXEIRA *et al.*, 2020; PRADO *et al.*, 2015).

5.2.2 Bifentrina

A bifentrina (2-metil-1, 1-bi-fenil-3-y1) -metil-3- (2-cloro-3, 3, 3-trifluoro-1-propenil) -2, 2-dimetil ciclopropano carboxilato) é um inseticida piretróide bastante usado em cereais, algodão, milho, alfafa, plantas ornamentais, vegetais e em algumas frutas contra insetos e ácaros. Ainda são usados no controle de pragas residenciais. Sua utilização exacerbada e consequentemente maior produção de resíduos, apresenta uma ameaça à saúde humana e ambiental. Além de sua toxicidade, pode ser bioacumulado ou biomagnificado em diferentes níveis tróficos da cadeia alimentar em uma biota, prejudicando todo o ecossistema. A partir desse pressuposto, há uma necessidade de desenvolver estratégias eficientes para remover esses resíduos, bem como identificar microrganismos biodegradadores deste agrotóxico (AHMED *et al.*, 2015; PANDEY; PANT; SIBI, 2014).

Chen *et al.* (2012) isolaram uma levedura identificada como *Candida pelliculosa* de lodo ativado adquirido de um sistema de tratamento de águas residuais de fabricação de piretróides aeróbicos. Foi realizado experimentos em meio líquido sob condições controladas e em amostras de solo esterelizado e não esterilizado, ambos foram adicionados a bifentrina e o inóculo da levedura. Todos os experimentos obtiveram resultados positivos na biodegradação do agrotóxico pela levedura, em diferentes amostras de solos contaminados introduzidos com

a levedura, 75% do agrotóxico foi eliminado no solo não esterilizado e 65 % no solo esterilizado, no período de 10 dias. As condições ótimas de degradação foram determinadas em temperatura 32,3°C, pH 7,2 e concentração de bifentrina 50 mg/Kg. Zhang *et al.* (2018) também investigaram a degradação da bifentrina em cepa isolada de lodo ativado, mas nesse caso foi isolado uma bactéria do gênero *Pseudomonas*. Após 5 dias de incubação, 80,2% de bifentrina foi degradada. Neste estudo também foi analisado a biodegradação clorpirifós, onde o mesmo foi degradado 74,6%. Foi avaliado a biodegradação simultânea dos agrotóxicos, resultando na diminuição de biodegradação, 71,7% de bifentrina e 69,1% de clorpirifós. E as condições ideais mais favoráveis foram: temperatura de incubação a 30°C, pH 7,0, OD 600nm e concentração dos agrotóxicos a 100 mg/L.

Chen *et al.* (2012) observaram também uma taxa de degradação significativamente maior (p. 0,05) no solo não esterilizado do que no solo esterilizado, indicando que os microrganismos autóctones do solo também auxiliaram na biodegradação da bifentrina na presença da levedura. Sharma e Singh (2012) ao compararem a remoção da bifentrina em solo estéril e não estéril, constatou que o declínio dos resíduos de bifentrina no solo não estéril foi aproximadamente o triplo do que o solo estéril no dia 20 e 30º dia. Vale ressaltar que neste estudo estava presente apenas microrganismos autóctones nas amostras (presente no solo não estéril), sem a presença de leveduras ou qualquer outro microrganismo alóctone.

Dordevic *et al.* (2013) investigaram a utilização da levedura *Saccharomyces cerevisiae* e da bactéria *Lactobacillus plantarum* em processos de fermentação na presença de bifentrina no trigo moído, onde o experimento foi realizado com os microrganismos individualmente. O trigo foi esterizado afim de evitar a contaminação microrganismos selvagens. Durante a fermentação láctica promovida pela bactéria, na concentração 0,5 mg/kg de bifentrina houve redução foi de 42% do agrotóxico e em amostras mais concentradas (2,5 mg/kg), no máximo de 18%. Em contraste, na fermentação alcoólica propiciada pela levedura não houve redução brusca de bifentrina, apresentando cerca de 19,7% de redução em concentração 0,5 mg/kg e 18,9% em amostras mais concentradas (2,5 mg/kg) do agrotóxico.

Dordevic *et al.* (2016) encontraram resultados diferentes, ao aumentar os limites de LMR até 10 mg/kg os microrganismos ainda resistiram. Não houve diminuição significativa da fermentação por *Lactobacillus*, diferente da fermentação por *Saccharomyces* que apresentou maior degradação da bifentrina 11,6 a 17%, comparado com 5,4 a 16% da bactéria, a uma concentração de 7,5 mg/kg. Analisando os dois estudos, pode-se concluir que tanto a fermentação láctica como alcoólica na presença de bifentrina acima do LMR de bifentrina em trigo, que é 0,7 mg/kg (ANVISA, 2021), torna-se ineficiente na remoção do agrotóxico, e o

excesso do agrotóxico nos alimentos ocasiona sérios riscos a saúde humana e o meio ambiente. Pode-se observar também que apenas a esterilização e armazenamento dos alimentos não reduz os níveis de agrotóxico, especificamente para a binefrina, sendo considerada estável durante o processamento térmico por 15 min até 120°C.

5.2.3 Dinitrofenóis

Os nitrofenóis são usados como intermediários na produção de medicamentos, corantes, agrotóxicos, preservativos de madeira e explosivos (HERRERA *et al.*, 2017). Zaharia *et al.* (2013a) e Zaharia *et al.* (2013b), ao realizarem ensaios de biodegradação de agrotóxicos dinitrofenóis DNOC, Dinocarp e DNG por *Saccharomyces cerevisiae*, observaram que a levedura apresentava potencial de degradá-los em concentrações variando de 10^{-4} M a $5 \cdot 10^{-3}$ M. Os sobrenadantes resultantes foram usados para tratar sementes de trigo em experimentos de germinação, sendo observado padrões de toxicidade. Esta última informação será melhor discutida no tópico de “metabólitos”.

Alexieva *et al.* (2008) e Aleksieva *et al.* (2002) também estudaram a degradação de dinitrofenóis por *Trichosporon cutaneum*, em que constataram a degradação completa de 0,7 g/L de 2,6-dinitrofenol após 24 h e 27 h, respectivamente.

5.2.4 Clorpirifós e Diazinon

Clorpirifós (O, O-dietil O- (3,5,6-tricloro-2-piridil) fosp-horotioato) é um dos inseticidas organofosforados que possui uma grande demanda no setor agrícola, sendo utilizados mundialmente (BOSE; KUMAR; VO, 2021). Pode ser maléfico quando tocado na pele, inalado ou ingerido, levando a uma síndrome colinérgica aguda. É também muito tóxico para muitas espécies de pássaros, como pombos, e moderadamente para outras, como patos. O clorpirifós possui certa hidrofobicidade, e consequentemente baixa solubilidade em água, aumentando o tempo de meia vida no solo (SILVA, 2019).

Já o diazinon (O, O-dietil O-2-isopropil-6-metilpirimidin-4-il fosforotioato) também é um inseticida organofosforado, contribui no controle de vários insetos prejudiciais na agricultura e ainda é utilizado como nematicida no solo. É altamente tóxico para mamíferos e outros organismos não visados presente nos ecossistemas contaminados, sendo necessário tratar seus resíduos, de forma que diminua os malefícios causados ao meio ambiente e a saúde humana (KURADE *et al.*, 2016; HAMAD, 2020). Por ser um composto volátil, quando está solubilizado

em corpos d'água, pode volatilizar-se para a atmosfera ou sorver-se no solo e sedimentos (RODRIGUES, 2009). Segundo Alcântara *et al.* (2019), ambos foram os agrotóxicos organofosforados mais estudados e usados mundialmente de 2008 a 2018.

Bempelou *et al.* (2018) e Bempelou *et al.* (2013) realizaram experimentos tanto *in vitro*, como *in vivo* (em superfícies do fruto tomate), utilizando *Rhodotorula glutinis* e *Rhodotorula mucilaginosa*. Ambas as cepas foram isoladas de colonização epifítica presente em plantas cultivadas: *Rhodotorula glutinis* de tomateiros enquanto *R. Mucilaginosa* de morangueiros. O que diferenciam esses trabalhos são os tipos de agrotóxicos que foram investigados, Bempelou *et al.* (2018) avaliaram a biodegradação do clorpirifós enquanto Bempelou *et al.* (2013) o diazinon, ambos são inseticidas e pertencem a classe dos organofosforados.

Nos ensaios de Bempelou *et al.* (2018), ambas as leveduras degradaram totalmente 25 µg/mL de clorpirifós em 10 dias no experimento *in vitro*. Em frutos de tomate, a concentração de clorpirifós foi diminuída em até 78,4% na presença de *R. glutinis* e até 92,2% com a *R. mucilaginosa*, no período de 30 dias. Nos experimentos *in vitro* de Bempelou *et al.* (2013) ambas as leveduras degradaram totalmente 25 µg/mL de diazinon em 12 a 14 dias. E em frutos de tomate a concentração inicial de diazinon diminuiu em até 88% ao adicionar *R. glutinis* e até 94% na presença de *R. mucilaginosa*, no período de 20 dias.

Os estudos citados anteriormente são similares aos de Kambiranda *et al.* (2009) em que os dois compostos organofosforados foram biodegradados por enzimas produzidas também por levedura, sendo de outra espécie: *Pichia pastori*, onde degradou o clorpirifós completamente e 80% do diazinon em 12h à uma concentração de 100 mg/L. Outros agrotóxicos também foram biodegradados: Cadusafós, coumafós, dyfonate, etoprofós, fenamifós, metilparation e paration a um percentual de até 68, 60, 80, 40, 45, 60, 95 e 100%, respectivamente.

Briceno *et al.* (2016a) analisaram o potencial de culturas mistas *Streptomyces* sp. também na degradação do clorpirifós, onde 4 cepas AC5, AC9, GA11e ISP13 mostraram a maior remoção de clorpirifós (66 a 76%) a 50mg/L. O Diazinon foi degradado em até 62% também por culturas mistas de *Streptomyces* sp (BRICENO *et al.*, 2016b).

5.2.5 Atrazina

O herbicida Atrazina (2-cloro-4-etilamino-6-isopropilamino-1,3,5-triazina) é amplamente utilizado para controlar ervas daninhas na agricultura, em culturas de milho, goma, cana-de-açúcar, abacaxi, coníferas, nozes e outros (FERNANDES *et al.*, 2018). Estudos apontam que a atrazina tem efeitos tóxicos em algas, plantas aquáticas, insetos aquáticos,

peixes e mamíferos. A toxicidade e persistência da atrazina no ambiente propicia na crescente busca de linhagens microbianas capazes de degradá-la, e assim promover a descontaminação de solos e recursos hídricos (SENE *et al.*, 2010).

Em pesquisas realizadas por Abigail, Salam e Das (2013) a levedura *Pichia kudriavzevii* isolada de um solo cultivado com cana-de-açúcar que foi exposto ao herbicida atrazina por vários anos, foi eficaz na degradação de atrazina como única fonte de carbono e energia para o crescimento. A levedura degradou o agrotóxico completamente dentro de 7 dias a uma concentração inicial de 500 mg/ L de atrazina em meio líquido, enquanto no solo fresco a atrazina foi degradada entre 3 e 5 dias em concentrações de 50 e 100 mg/kg. Este estudo corrobora com Bhardwaj *et al.* (2015) ao isolarem *Pseudomonas* sp de solos de campo agrícola cultivando com cana-de-açúcar em uso de atrazina há 3 anos, a cepa degradou 98,3% da atrazina dentro 87 h, a uma concentração 100 mg/L de atrazina em meio BS. No estudo de Fernandes *et al.* (2015), *Pseudomonas* sp. também foi capaz de degradar 99% da atrazina *in vitro* após 24 h de incubação, a uma concentração 100 µg/mL de atrazina.

Alami *et al.* (2020) apresentaram resultados similares aos estudos acima, onde isolou 3 cepas de leveduras pertencentes ao gênero *Candida* com potencial de degradar atrazina. Os isolados TB1, UF5 e UF7 degradaram o herbicida em até 94,26%, 64,01% e 52,51% respectivamente, no 10º dia de incubação, em uma concentração de 120 µg/L de atrazina. Nos estudos de Cabrera-Orozco *et al.* (2016) foi mostrado a eficiência da remoção da atrazina (48 mg/L) em um reator de biofilme de leito fixo multicanal (MC-PBR), removendo quase 95% do agrotóxico após 30 h quando levedura *Candida tropicalis* foi adicionada a comunidade original microbiana. WU *et al.* (2018) também encontraram resultados positivos ao degradar a atrazina em soluções aquosas por meio de um bionanomaterial com *Saccharomyces cerevisiae* e nanopartículas de Fe₃O₄ encapsuladas em alginato de sódio-álcool polivinílico (SA-PVA). Os resultados mostraram a remoção máxima de 100% em uma concentração de atrazina de 2,0 mg/L, e remoção superior a 95,53% ainda em 50 mg/L.

5.2.6 Bifenilos policlorados (PCBs)

Bifenilos policlorados (PCBs) são misturas de compostos clorados, que consistem em um anel bifenil substituído por um ou mais átomos de cloro com 209 combinações possíveis, que diferem no número de átomos de cloro e sua posição no anel bifenil (GERMAIN *et al.*, 2020). São considerados como uns dos contaminantes mais prevalentes, altamente tóxicos e persistentes no meio ambiente (SHUAI *et al.*, 2016).

Chen *et al.* (2015) estudaram a aplicação de um consórcio de levedura-bactéria *Debaryomyces maramus* CW36 e *Pseudomonas* sp. MO2A, na promoção da degradação e desintoxicação de bifenilos policlorados (0,05 mg/mL) em meio líquido. O consórcio levedura-bactéria degradou 69,6% do PCBs em 14 dias sob condições aeróbias. Nas mesmas condições, *Debaryomyces maramus* CW36 e *Pseudomonas* sp. MO2A individualmente mostrou apenas 27,8 e 57% de degradação, respectivamente. Os microrganismos foram isolados de estudos anteriores (resultados não publicados). Pode-se perceber que o consórcio foi eficiente, mas individualmente a levedura *Debaryomyces maramus* CW36 não apresentou alta eficácia para o bifenil policlorado, diferente de *Pseudomonas* sp. que ainda degradou mais de 50%. Este estudo corrobora com Shuai *et al.* (2016) onde foi isolado sete cepas de *Pseudomonas* sp. e todas biodegradaram o bifenil. O maior percentual de degradação chegou a quase 96,0% e o menor 63,7%, as demais foram aproximadamente 80,0%. Neste último estudo as cepas de *Pseudomonas* degradaram os PCBs em uma concentração maior de (50 mg/mL).

5.3 Análise da concentração de agrotóxicos e identificação de metabólitos após a biodegradação

A partir dos estudos coletados as técnicas mais utilizadas para identificação de resíduos e metabólitos de agrotóxicos foram: técnicas cromatográficas GC-MS (empregado em 6 estudos), espectroscopia FTIR (4), LC-MS/MS (2), HPLC (1) e ressonância magnética nuclear (NMR) (1), alguns estudos foi aplicado mais de um método. Técnicas cromatográficas e espectrometria de massa tem o intuito de determinar resíduos de agrotóxicos e os percentuais de degradação, sendo utilizadas em avaliações de qualidade de alimentos e em testes de eficácia na degradação dos agrotóxicos (GOMES *et al.*, 2020).

Uma metodologia bastante empregada em análises de degradação de compostos, separação e identificação de subprodutos é a cromatografia, sendo destaque em análise de substâncias presentes em matrizes complexas, tais como fluidos biológicos, produtos naturais e sedimentos de rio (LANÇAS, 2009). Na separação de misturas existem duas fases: estacionária (fixa, sendo um material poroso como um filtro) e móvel (como um líquido ou um gás, que ajuda na separação da mistura). A partir da fase móvel pode dividir em dois tipos: Cromatografia Gasosa (GC) e Cromatografia Líquida (LC). Ambas são utilizadas de extração de resíduos de agrotóxicos (OSHITA; JARDIM, 2015).

Tanto a GC como a LC pode estar associada à uma técnica de identificação de substâncias por meio da Espectrometria de Massa (MS) determinado pela relação entre massa/

carga dos íons, sendo capaz de detectar e quantificar componentes químicos. GC-MS e LC-MS possibilita mais especificidade e capacidade de lidar com misturas complexas e em diferentes matrizes (CHAUHAN; GOYAL; CHAUHAN, 2014; ALCÂNTARA *et al.*, 2019). A GC-MS limita-se à análise de compostos voláteis e semivoláteis, de baixa polaridade e baixa massa molecular, enquanto a LC-MS é indicada para compostos de menor volatilidade, maior massa molecular e/ou maior polaridade, como compostos orgânicos solúveis (ALCÂNTARA *et al.*, 2019).

A Técnica GC-MS é considerada uma ferramenta altamente recomendada para monitoramento e rastreamento de poluentes orgânicos no meio ambiente, como determinação de clorofenóis na água e no solo, hidrocarbonetos aromáticos policíclicos (PAH), agrotóxicos organocolorados, herbicidas, fenóis, agrotóxicos halogenados, gases inorgânicos, dentre outros. Também pode ser utilizado para detecções de drogas, doenças metabólicas, toxinas e resíduos de agrotóxicos na urina e no sangue (CHAUHAN; GOYAL; CHAUHAN, 2014; YILMAZ; AKBA; CAVUS, 2017). Salam *et al.* (2013); Salam e Das (2014a), Dordevic *et al.* (2013), Abigail, Salam e Das, (2013), Zaharia *et al.* (2013a) e Zaharia *et al.* (2013b) aplicaram esta técnica para avaliar o nível de biodegradação do lindano, bifenetina, atrazina, dinitrofenóis e seus respectivos subprodutos, mostrando ser um método eficaz em estudos de monitoramento ambiental e tratamento de resíduos contaminante. Este método corrobora com os estudos de Hamad (2020) e Kurade *et al.* (2016) na biodegradação do diazinon, SAEZ *et al.* (2015), Salam e Das (2014b), na detecção dos metabólitos resultantes da degradação do lindano.

Correlacionada com a GC-MS também é aplicada a espectroscopia de infravermelho por transformada de *Fourier* (FTIR), onde foram aplicadas por Abigail, Salam e Das (2013), Zaharia *et al.* (2013a), Salam e Das, (2013a), Abigail, Salam e Das (2013), corroborando com a metodologia Alami *et al.* (2020) ao utilizar a FTIR para medir a porcentagem de degradação da atrazina.

A espectrometria de massa por cromatografia líquida (LC-MS) também são bastante empregadas em análises de compostos como agrotóxicos, toxinas, metabólitos. Para Pitt (2009) e Oshita e Jardim (2015) a LC-MS é geralmente mais aplicável do que GC-MS devido à faixa mais ampla gama de moléculas biológicas que podem ser analisadas, como aminoácidos, vitaminas, hormônios e a grande variedade de compostos presentes em diversos tipos de amostras, independente de volatilidade, estabilidade térmica e polaridade.

A cromatografia líquida pode estar acoplada em dois espectrômetros de massas, também chamado de cromatografia líquida acoplada à espectrometria de massas sequencial (LC-MS/MS). Está sendo cada vez mais utilizada na área química, principalmente em análises de

resíduos de agrotóxicos em alimentos (OSHITA; JARDIM, 2015). Um dos MS é usado para isolar o íon de interesse, enquanto o outro é aplicado para estabelecer uma relação entre o íon de interesse isolado e outros íons que foram gerados a partir da sua decomposição induzida. Uma das principais vantagens de se acoplar a cromatografia à MS/MS é a identificação de compostos com alto grau de confiança e maior seletividade e sensibilidade (ALCÂNTARA *et al.*, 2019). O alto custo do equipamento empregado é uma limitação para muitos laboratórios, porém, devido à concorrência de mercado, o valor já se encontra menor. Espectrômetros como o “iontrap” apresentam possibilidade de ajustes para operar nos dois modos, MS e MS/MS, evitando maiores investimentos (CHIARADIA, 2008).

Bempelouet *al.* (2018) e Bempelou *et al.* (2013) detectaram e quantificação o inseticida clorpirifós e seu metabólito 3,5,6-tricloro-2-piridinol (TCP) e o diazinon e seu subproduto de degradação 2-isopropio-6-metil-4-pirimidinol (IMP) com a técnica LC-MS/MS. Esses estudos corroboram com outros autores como Fernandes *et al.* (2015) na identificação dos metabólitos resultantes da degradação da atrazina e Aswathi, Pandey e Sukumaranb (2019) na detecção de clorpirifós e seu produto de degradação TCP. Este último usou a técnica LC-MS/MS associada a UHPLC.

Com o avanço tecnológico surgiu a cromatografia líquida de alto desempenho (HPLC), que é uma forma avançada de cromatografia líquida, com o intuito de reconhecer melhor o papel das moléculas individuais, possui alta especificidade e precisão. Um dos detectores amplamente utilizados em HPLC é um detector de UV que é capaz de monitorar vários comprimentos de onda simultaneamente, por meio de um programa de varredura de múltiplos comprimentos de onda (SIDDIQUI; ALOTHMAN; RAHMAN, 2017). Sua alta velocidade, sensibilidade e reprodutibilidade tornam o HPLC como um dos principais métodos analíticos em laboratórios de todo o mundo, principalmente em indústrias farmacêuticas, agrícolas, alimentícias, pesquisas de produtos naturais, agroprodutos químicos e de análise de poluentes (CAVAZZINI *et al.*, 2011). Mas esta técnica possui algumas limitações, como elevado preço das colunas, solventes e uma falta de reprodutibilidade a longo prazo devido à natureza privada do empacotamento em coluna (SIDDIQUI; ALOTHMAN; RAHMAN, 2017).

Chen *et al.* (2012) usaram a HPLC para medir a concentração de bifentrina durante o processo de biodegradação, corroborando com Shuai *et al.* (2016) e Bhardwaj *et al.* (2015) ao medir o nível de degradação do bifenil e atrazina, respectivamente. O mesmo nos testes de Briceno *et al.* (2016b) na determinação do diazinon residual e seu metabólito IMP, Briceno *et al.* (2016a), Anwar *et al.* (2009) e Kambiranda *et al.* (2009) na concentração do clorpirifós residual e seu metabólito TCP. Este último usou também a cromatografia de camada fina (TLC).

Salam e Das (2013a) ainda utilizaram a ressonância magnética nuclear (NMR) para a caracterização do biossurfactante produzido por *Pseudozyma VITJzN0*. NMR é uma das técnicas mais aplicadas na determinação da estrutura de moléculas orgânicas, capaz de caracterizar pequenos compostos como poucos carbonos e prótons, até macromoléculas como proteínas, lipídios ou carboidratos. A NMR oferece informações sobre o número de átomos magneticamente distintos do isótopo estudado em uma molécula, mas é necessário que o isótopo tenha a propriedade de *spin*, possuam movimentos angulares orbitais dentro do núcleo (LEITE, 2013).

5.4 Enzimas associadas a processos de degradação de agrotóxicos

Enzimas são proteínas globulares que atuam como catalisadores biológicos conduzindo as reações bioquímicas nas células dos organismos vivos, sendo importante em muitos processos. São amplamente utilizadas para a degradação de compostos químicos (PEREIRA, 2011; SARKER *et al.*, 2021). As enzimas presente nas leveduras são bastante empregadas na biotecnologia, como na indústria farmacêutica, alimentícia, produção de papel, detergentes, dentre outros. Com o crescente aumento de poluição, vem crescendo também a busca de encontrar microrganismos que apresentam enzimas com potencial de biodegradar poluentes, e dessa forma serem utilizadas em processos de biorremediação em ambientes contaminados.

As principais enzimas responsáveis pela degradação de agrotóxicos pertencem as seguintes classes: hidrolases, oxidorreduções, peroxidase/oxidases, transferases e translocases (BOSE *et al.*, 2021). Um estudo realizado Bokade, Purohit e Bajaj (2021) cita que as enzimas fúngicas extracelulares que mais se destacam em processos de biotransformação e biodegradação de compostos, dentre eles os agrotóxicos, são as peroxidases, lacases, esterases, desalogenases e monooxigenases.

Bempelouet *al.* (2018) estudaram a ação de esterases e glutathione-S-transferases (GSTs) no processo de biodegradação do clorpirifós. Nos ensaios de degradação foram aplicados os sinergistas trifetil fosfato (inibidor de esterases), butóxido de piperonila (inibidor de monooxigenases e esterases) e maleato dietílico (inibidor de monooxigenases e glutathione-S-transferases), nas concentrações 1, 5, 10 e 15 µg/mL. Após 10 dias de incubação em 10 µg/mL dos inibidores, maleato dietílico não afetou a biodegradação de clorpirifós por *R. glutinis* e *R. Mucilaginosa*, e resultados semelhantes foram produzidos após a adição de butóxido de piperonila. Em contrapartida, trifetil fosfato inibiu substancialmente a taxa de biodegradação de clorpirifós, em que 97,5 e 97,2% da concentração inicial do agrotóxico foi recuperado

respectivamente para cada levedura. Esses resultados demonstram que a ação ativa das esterases estão contribuindo na biodegradação do clorpirifós pelas duas leveduras, e sua ausência pode afetar essa degradação.

Bempelou *et al.* (2013) analisaram as mesmas enzimas e seus respectivos inibidores na biodegradação do diazinon. Neste caso ocorreu o contrário, trifetil fosfato e butóxido de piperonila não afetaram significativamente a biodegradação do diazinon pela *R. glutinis* e *R. mucilaginosa*, mas o maleato dietílico inibiu substancialmente a taxa de biodegradação do diazinon, onde 92,2% da concentração inicial do agrotóxico foi recuperada, concluindo que GSTs contribuem para a biodegradação do Diazinon. Pode-se observar o envolvimento das enzimas esterases e glutatona-S-transferases (GSTs) na biodegradação destes dois agrotóxicos organofosforados.

Os estudos acima corroboram com Kambiranda *et al.* (2009) que comprovaram a eficiência da esterase na degradação do diazinon e clorpirifós por *Pichia pastori*. Isto conclui que na presença de algumas leveduras a GSTs se sobressai, mas em outras a esterases também são importantes na biodegradação de ambos agrotóxicos.

A glutatona S-transferase é considerada uma enzima de desintoxicação, responsável por metabolizar grande variedade de compostos xenobióticos, transformando em substâncias de baixa toxicidade (CATANEO *et al.*, 2003). Esterases e glutatona-S-transferases (GSTs) são consideradas enzimas que propiciam resistência metabólica a certos agrotóxicos, por meio da detoxificação dos mesmos (PAIVA, 2006).

Nos ensaios enzimáticos de Salam e Das (2014a), foi observado envolvimento das enzimas *viz.* desclorinase, dehalogenase, dicloro-hidrocloridrato redutora de quinona, lignina peroxidase e manganês peroxidase durante a degradação do lindano por *Candida* sp. As atividades enzimáticas foram observadas no segundo, quarto e sexto dia de degradação. Na fase inicial, o lindano desclorinase teve maior atividade no sobrenadante e no lisado celular, enquanto a tendência inversa foi observada para outras enzimas estudadas, embora todas tiveram uma menor atividade no sexto dia. A atividade enzimática foi maior no sobrenadante do que no lisado celular, devido a natureza extracelular dessas enzimas. Em contraste, a lacase não apresentou atividade na degradação do lindano. A presença das enzimas são confirmadas também por Salam e Das (2014b), onde encontrou a influência das enzimas lindano desclorinase, lindano dehalogenase e lignina peroxidase.

Abigail, Salam e Das (2013) avaliaram atividades das enzimas *viz.* Atrazina clorohidrolase, hidroxiatrazina etilaminohidrolase e N-isopropilammelida isopropilaminohidrolase. Os ensaios enzimáticos confirmaram o envolvimento das três enzimas

durante degradação da atrazina por *P. kudriavzevii*. Bhardwaj *et al.* (2015) observaram apenas duas enzimas envolvidas na degradação: atrazina clorohidrolase (atzA) e Hidroxiatrazina (atzB).

5.5 Metabólitos

Após a degradação de agrotóxicos, seja ela intencional ou por processos naturais, podem ser liberados ao meio ambiente produtos e metabólitos, que possuem maior ou menor toxicidade que o composto original. Metabólitos são intermediários químicos resultantes de processos metabólicos, enquanto produtos de degradação são compostos gerados por efeitos ambientais, como temperatura, pH dentre outros (ALCÂNTARA *et al.*, 2019).

Bempelouet *et al.* (2018) detectaram o metabólito 3,5,6-tricloro-2-piridinol (TCP), sendo produzido como um produto de degradação de clorpirifós em ambas as leveduras, *R. glutinis* e *R. mucilaginosa*. Sua concentração máxima foi atingida do quinto ao sétimo dia, chegando em torno de 7,9 µg/mL, depois começou a diminuir, fato que indicava sua possível degradação pelas leveduras. Vale ressaltar, que a concentração TCP foi diminuída ao longo dos testes de degradação dos agrotóxicos, mas não foi esgotada ao final dos ensaios.

Briceno *et al.* (2016a) e Anwar *et al.* (2009) também obtiveram o TCP ao biodegradar o clorpirifós em culturas de *Streptomyces* sp. e *Bacillus pumilus*, respectivamente. Ambos estudos utilizaram as mesmas culturas para remover o TCP, propiciando nessa ordem 50% e 90% de degradação. O TCP é considerado mais tóxico do que o composto original, devido suas propriedades antimicrobianas tornando-o persistente, além de ser um desregulador endócrino (BRICENO *et al.*, 2016a; BOSE; KUMAR; VO, 2021). Ainda possui maior solubilidade em água, podendo causar contaminação generalizada nos solos e nas águas aquáticas (ANWAR *et al.*, 2009).

Bempelouet *et al.* (2013) ao analisarem as mesmas leveduras dos estudos de Bempelou *et al.* (2018) na biodegradação do diazinon, observou que a degradação resultou no metabólito 2-isopropil-6-metil-4--pirimidinol (IMP), produzido pelas ambas leveduras em níveis crescentes até o esgotamento do composto original. Os níveis de IMP permaneceram quase estáveis e não houve diminuição até o final do experimento, indicando que leveduras não conseguiram mineralizar este composto. O mesmo aconteceu nas análises de Briceno *et al.* (2016b) e Kurade *et al.* (2016) em que a concentração de IMP aumentou a medida que a degradação do diazinon aumentava. No primeiro estudo foi utilizada cepas mistas de *Streptomyces* sp. para a remoção do diazinon na concentração de 50 mg/L, onde ocasionou remoção máxima de 62%. As mesmas

culturas mistas também removeram aproximadamente 30 a 50% do IMP, com a maior remoção no meio líquido sem adição de glicose. No segundo estudo foi observado uma eficaz remoção (94%) do diazinon (20 mg/L) por *C. Vulgaris* também em meio líquido, o metabolismo do diazinon gerou dois subprodutos: IMP e dietil tiofosfato (DETP), considerados menos tóxicos que o diazinon.

Nos estudos de Chen *et al.* (2012) foi encontrado cinco produtos durante a degradação da bifentrina pela *Candida pelliculosa*, apesar de todos os produtos desaparecerem completamente após 8 dias. Os cinco compostos foram: ácido ciclopropanocarboxílico autêntico, 2-metil-3-bifenilil metanol, 4-trifluorometoxifenol, 2-cloro-6-fluoro benzilálcool e 3,5-dimetoxifenol. Com base nos produtos formados, foi proposto a via de degradação para bifentrina pela levedura: bifentrina [A] foi metabolizado pela primeira vez por hidrólise da ligação éster carboxílico para produzir ácido ciclopropanocarboxílico [B] e 2-metil-3-bifenililmetanol [C]. Posteriormente, 2-metil-3-bifenilil metanol [C] foi ainda transformado por clivagem de bifenil, resultando na formação de 4-trifluorometoxifenol [D], Álcool 2-cloro-6-fluoro benzílico [E] e 3,5-dimetoxifenol [F]. Finalmente, todos esses metabólitos não foram detectados no meio de cultura após 8 dias de incubação, demonstrando biodegradação completa do agrotóxico e nenhum produto persistente acumulativo. Resultados semelhantes foram apresentados por Zhang *et al.* (2018), onde a via metabólica por *Pseudomonas* foi semelhante à degradação inicial de bifentrina por *C. pelliculosa*, na qual a bifentrina foi convertida em ciclopropanocarboxílico e 2-metil-3-bifenililmetanol por hidrólise.

A co-cultura de *Debaryomyces maramus* e *Pseudomonas* sp. avaliados por Chen *et al.* (2015) mostrou maior biodegradação e descloração dos PCB, do que as cepas individualmente. No processo de descloração da co-cultura foi capaz de degradar metabólitos clorados intermediários, promovendo a diminuição da toxicidade, corroborando com Chelaliche *et al.* (2021) que também avaliou o nível de toxicidade dos subprodutos da degradação dos PCBs, com o intuito de observar se os compostos finais eram menos tóxicos que o composto original.

Na última pesquisa, foi observado o efeito das condições de cultivo no alongamento da raiz de sementes de *L. Sativa* por meio de um experimento *in vitro*. Os resultados apresentaram um aumento do alongamento radicular nas culturas enriquecidas com PCBs e *P. pulmonarius*, diferente do controle que possuía apenas PCBs, mostrando uma redução de toxicidade de 46,47% no meio tratado, em uma concentração de 4,000 µg/g do total de PCB por frasco. Esta cepa atingiu um pico de remoção de PCBs de $65,50 \pm 8,09\%$ após 21 dias. Neste estudo foi observado também a presença de enzimas como cerato-platanina, oxalato descarboxilase, metallopeptidase e uma lipase fúngica apenas na presença de PCBs, e que possivelmente

contribuíram no processo de remoção.

Salam *et al.* (2013) também caracterizaram 7 metabólitos durante degradação do lindano por GC-MS, mas ao final dos ensaios o agrotóxico foi degradado completamente por *Rhodotorula* sp. em 10 dias. A partir dos resultados adquiridos, o autor propôs a seguinte degradação aeróbia do lindano por *Rhodotorula* sp. VITJzN03: A degradação do lindano foi iniciada com decloração, formando pentaclorociclohexano, a partir da qual 1,3,4,6-tetracloro-1,4-ciclohexadieno foi formado. Por meio de uma série de reações de desidrocloração, foram formados os metabólitos *viz.* 1,2,4-triclorobenzeno e 1,4-diclorobenzeno. Clorobenzenos foram oxidados para formar cloro-*cis*-1,2-dihidroxíciclohexadieno que foi novamente convertido em 3-clorocatecol. O metabólito final formado foi o maleilacetato que posteriormente foi mineralizado. SAEZ *et al.* (2015) ao degradar o lindano por um consórcio de *Streptomyces*, foi identificado de três metabólitos intermediários: 1,2-diclorobenzeno, 1,4-diclorobenzeno e pentaclorociclohexano, os dois últimos corroboram com o estudo acima.

Salam e Das (2014a) identificou seis possíveis metabólitos durante a degradação do lindano por *Candida* sp., obtendo a seguinte via de degradação: o lindano foi desclorado para formar pentacloro e posteriormente derivado tetracloro. Além disso, pela redução de várias etapas e descloração, 2,5-Diclorohidroquinona é formado e depois é reduzido para 2-clorohidroquinona. O anel fechado é então aberto e hidrolisado para produzir 2-hidroximuconicemialdeído (HMSA). HMSA é oxidado para formar acetato de maleila (MA) que foi incorporado diretamente no ciclo celular do ácido tricarboxílico para geração de energia, onde obteve degradação completa do lindano.

Nenhum produto acumulativo persistente foi detectado pela análise de GC-MS, sendo encontrado apenas metabólitos transitórios, como 2,5-diclorociclohexa-2,5-dieno-1,4-diol e hidroquinona, que supostamente acumularam-se em quantidades vestigiais e foi transformado espontaneamente. Observa-se resultados diferentes no estudo de Bajaj *et al.* (2017), em que a degradação do lindano por *Chromohalobacter* sp. resultou em alguns metabólitos como 1,2,4-triclorobenzeno e 2,5-diclorofenol, que apareceram após o segundo dia de degradação e não foram degradados pela cepa.

Abigail, Salam e Das (2013a) ao realizarem ensaios de degradação da atrazina pela levedura *Pichia kudriavzevii*, identificou a formação de 3 intermediários *viz.*: hidroxiatrazina, N-isopropilammelida e ácido cianúrico, respectivamente. Todos os metabólitos desapareceram completamente após 7 dias de incubação. Esses resultados são semelhantes com os de Fernandes *et al.* (2015), onde foi detectado os mesmos 3 metabólitos intermediários na degradação por *Pseudomonas* sp. Bhardwaj *et al.* (2015) citaram uma via de degradação por

meio da análise de 6 genes de também de *Pseudomonas* sp., onde estão inclusos os 3 intermediários do estudo acima. Os resultados indicaram que a atrazina foi degradada completamente através da rota da clorohidrolase com os genes: atzA Atrazina clorohidrolase / atzB Hidroxiatrazina etilaminohidrolase / atzC N-isopropilammelida isopropilaminohidrolase / atzD Ácido cianúrico amidohidrolase / atzE Biureto amidohidrolase / atzF Alofanato hidrolase.

Zaharia *et al.* (2013a) e Zaharia *et al.* (2013b), ao realizar ensaios de biodegradação de agrotóxicos dinitrofenóis DNOC, Dinocarp e DNG por *Saccharomyces cerevisiae*, observou que a levedura apresentava potencial de degradá-los em concentrações variando de 10^{-4} M a $5 \cdot 10^{-3}$ M. O processo de biodegradação durou 7 dias a 25 °C, posteriormente as suspensões de levedura foram centrifugadas a 6000 rpm, e os sobrenadantes resultantes do processo de degradação foram usados em medições espectroscópicas e em experimentos de germinação. Foi observado o surgimento de metabólitos tóxicos que não foram degradados, onde não houve identificação desses metabólitos, sendo a toxicidade detectada em experimentos com sementes de trigo.

Na presença da levedura, o DNOC não foi nocivo para as sementes de trigo. Mas o Dinocap e DNG na concentração de 10^{-4} M a 10^{-2} M foram tóxicos no experimento de germinação do trigo, ocasionaram diminuição no peso da plântula e raiz (no caso do Dinocap) e toxicidade para as sementes de trigo (DNG). Durante a degradação do Dinocap e DNG houve diminuição da absorção, e devido à sua hidrofiliidade, seus resíduos passaram através da membrana das células das leveduras para os sobrenadantes e tornou-se tóxico para as sementes de trigo. O efeito dos resultados sobrenadantes da degradação dos agrotóxicos provaram ser mais grave do que o sem tratamento.

Os resultados de Zaharia *et al.* (2013a) e Zaharia *et al.* (2013b) corroboram com She *et al.* (2012) onde onde foi observado alta toxicidade do dinitrofenol 2,6-DNP como única fonte de carbono, sendo muito tóxico para ser degradado. O teste de degradação de 2,6-DNP foi realizado em quatro concentrações diferentes: 10, 20, 40, 50 mg/L, sendo ajustados à equação de Haldane. A taxa de degradação específica máxima (K max), atingiu seu valor de pico em apenas 0,019 mg a 20 mg/L de 2,6-DNP. Já o 2,4-DNP o teste seria realizado de 50 a 500 mg/L, mas a 60 mg/L causou grande efeito de inibição na atividade de biomassa e o teste foi considerado falho. O 2,4-Dinitrofenol (2,4-DNP) é um composto persistente e tóxico considerado poluente prioritário pela Agência de Proteção Ambiental dos Estados Unidos (EPA) (HERRERA *et al.*, 2017).

Os experimentos realizados demonstram que alguns dinitrofenóis podem ser bastante tóxicos, e também da importância de investigar os metabólitos durante os processos de

degradação, para não correr o risco de ser liberado na natureza outro componente com a mesma toxicidade ou até superior, piorando a situação do ambiente contaminado. Segundo Alcântara *et al.* (2019) apesar de alguns agrotóxicos não serem persistentes no meio ambiente, seus metabólitos podem ser tão tóxicos ou mais tóxicos do que os agrotóxicos originais dos quais foram derivados.

5.6 Otimização das condições de degradação dos agrotóxicos

Umas das grandes vantagens das técnicas de biorremediação *in-situ* é controlar condições que favoreçam a biodegradação dos compostos, como mudanças de temperatura, pH, adição de glicose, dentre outros.

Nos artigos coletados o pH ideal que favorece a biodegradação dos agrotóxicos por leveduras é em torno de 6 a 7, próximo ao neutro, observadas por Chen *et al.* (2012), Salam *et al.* (2013), Salam e Das (2014), Abigail, Salam e Das (2013) e Chen *et al.* (2015). Esses estudos corroboram com Vijayalakshmi e Usha (2012) na degradação do clorpirifós por *Pseudomonas putida*, Zhang *et al.* (2018) do clorpirifós e bifentrina por *Pseudomonas* sp., Ahmed *et al.* (2015) da bifentrina por *Bacillus* sp., Hamad (2015) do diazinon por *Aspergillus niger*, Wu *et al.* (2018) e Zhu *et al.* (2018) na degradação da atrazina *Saccharomyces cerevisiae*, em que todos tiveram maiores índices de degradação com pH 7.

Já a temperatura ideal para a degradação dos agrotóxicos pelas leveduras estudadas é de 30°C, verificado por Chen *et al.* (2012), Salam *et al.* (2013), Salam e Das (2014), Abigail, Salam e Das (2013) e Chen *et al.* (2015), corroborando com Hamad (2015) e Zhang *et al.* (2018). No estudo de Wu *et al.* (2018) a temperatura ideal foi 28°C, próximo dos citados nos estudos acima. Para Bempelou *et al.* (2013) as melhores taxas de biodegradação do clorpirifós e diazinon ocorreram a 25°C, igualmente no estudo de Ahmed *et al.* (2015) na degradação da bifentrina.

Em processos de biorremediação onde se utilizam microrganismos, também é necessário identificar qual a melhor dosagem do microrganismo capaz de otimizar a biodegradação. A concentração do inóculo da levedura presente nos processos de biodegradação dos agrotóxicos foram diferentes entre os estudos coletados. Chen *et al.* (2012) fizeram o cálculo do inóculo por um espectrofotômetro, a partir da densidade óptica (OD). Avaliou a OD 600 de 0,1 a 0,5 e concluiu que a mais favorável para os ensaios de degradação de acordo com a metodologia de superfície de resposta (RSM) é OD 600 nm = 0,3, Zhanget *al.* (2018) concluíram que sob as condições ideais a OD 600nm foi 0,5, sendo a OD próxima do estudo acima.

Para Salam *et al.* (2013) a dosagem mais eficiente do inóculo a uma concentração inicial de 600 mg/L de lindano é de 70 mg/L, os experimentos de Salam e Das (2014a) apresentaram dosagens semelhantes (60 mg/L⁻¹). Nos experimentos de Abigail, Salam e Das (2013), mostrou-se rápida degradação da atrazina (500 mg/L) em um inóculo de 3% (v/v), equivalente a 30 mg/L, diferindo de Alami *et al.* (2020), em que a suspensão foi considerada como 10% (v/v) equivalente a 10 ml/L em uma concentração 120 µg/L de atrazina, Vijayalakshmi e Usha (2012) também consideraram o inóculo ideal em 10 ml/L. Ahmed *et al.* (2015) observaram a remoção de bifentrina por *Bacillus* sp. sob condições ótimas com 500 µL do inóculo. Pode-se observar que as concentrações dos inóculos variam de acordo com o tipo e concentração do agrotóxico.

De acordo com os artigos coletados, pode-se inferir que em alguns processos a adição de glicose aumenta os índices de degradação, mas em outros pode não ter interferência ou até afetar negativamente a biodegradação. Dos artigos coletados, 4 apresentaram resultados positivos com a adição de glicose: Bempelou *et al.* (2018), Bempelou *et al.* (2013), Chen *et al.* (2012), Chen *et al.* (2015), enquanto 4 artigos mostraram melhores resultados sem a presença do açúcar: Bempelou *et al.* (2018), Bempelou *et al.* (2013), Zaharia *et al.* (2013a) Zaharia *et al.* (2013b). Os demais artigos não avaliaram a presença ou não de glicose nos experimentos.

Bempelou *et al.* (2018) e Bempelou *et al.* (2013) observaram duas situações distintas de acordo com a levedura utilizada na degradação do diazinon e o clorpirifós. A presença de glicose em meio nutriente mineral, como fonte extra de carbono atrasou a biodegradação diazinon e clorpirifós por *Rhodotorula glutinis*. Na degradação do diazinon, 25 µg/mL foi degradado completamente em 14 dias sem a glicose, já com a adição de glicose em 14 dias ainda possuía resíduo de aproximadamente 10 µg/mL do agrotóxico. Nos testes com o clorpirifós (10 µg/mL) foi degradado completamente em 6 dias sem a glicose, com resultados positivos desde o primeiro dia do teste. Já na presença de glicose a remoção completa foi em 7 dias, iniciando apenas no 5º dia.

Em contrapartida os mesmos autores observaram que *Rhodotorula mucilaginosa* mostrou-se mais ativa na presença de glicose. Na degradação do diazinon, 25 µg/mL foi degradado completamente em 12 dias com a presença de glicose, enquanto sem a glicose o agrotóxico foi degradado em 14 dias. Nos experimentos com o clorpirifós ambos os meios começaram a degradá-lo desde o início dos testes, mas na presença de glicose foi apresentado uma maior taxa de degradação já no primeiro dia, com 2,1 µg/mL/dia em comparação com 1,38 µg.

Os resultados dos estudos acima são semelhantes com os Briceno *et al.* (2016b) na remoção do diazinon por *Streptomyces* sp., onde esteve associada a uma diminuição no pH do

meio e aumento da biomassa, e consequentemente benéfica na hidrólise do diazinon para o subproduto IMP, embora a adição de glicose não tenha contribuído na remoção de IMP. Já em Briceno *et al.* (2016a) a glicose favoreceu tanto na remoção do clorpirifós como do seu metabólito TCP.

Nos estudos de Chen *et al.* (2012) a adição de fonte de carbono aumentou a degradação de bifentrina. Sem a adição da glicose, 92,5% dos 50 mg/L bifentrina inicialmente adicionando ao meio foi degradado pela *Candida pelliculosa*, enquanto a taxa de desaparecimento de bifentrina em meio HSH suplementado com 1% de glicose foi significativamente maior (p. 0,05) e atingiu 98,9%. Chen *et al.* (2015) ao adicionarem glicose em 10, 20 e 50 mg/L, as eficiências de degradação de PCB (0,05 mg/mL) foram 62,6, 74,3 e 64,5% em cultura pura da bactéria *Pseudomonas* sp., 30,2, 38,8 e 33,4% em cultura pura da levedura *Debaryomyces maramus*, 76,2, 85,5 e 72,3% na co-cultura, respectivamente. Percebe-se que neste caso a quantidade ideal de glicose para tornar a degradação eficiente é de 20 mg. Embora o crescimento microbiano tenha sido proporcional ao nível de pico de glicose, ou seja, o índice mais elevado 50 mg, indicando que nem sempre o crescimento microbiano significa eficácia de degradação.

Vijayalakshmi e Usha (2012) apresentaram resultados semelhantes, foi avaliado a presença de glicose nas seguintes concentrações: 100 mg/L a 500 mg/L. O açúcar promoveu degradação máxima em 200 mg/L, porém em 500 mg/L de glicose o percentual de degradação diminuiu. Isso justifica que é necessário avaliar as condições ideais de glicose em um determinado ensaio de degradação, pois mesmo que sua presença seja favorável ainda dependerá de outros fatores como concentração do agrotóxico e do inóculo do microrganismo.

Anwar *et al.* (2009) também obtiveram resultados positivos com a adição de glicose. Ao isolarem cepas de *Bacillus pumilus* em solo dos campos de algodão contaminados com agrotóxicos, observaram que as cepas tiveram potencial de degradar 82% de clorpirifós em 5 dias. Ao suplementar glicose no meio mínimo (MSM), o agrotóxico foi degradado completamente (100%).

Nos experimentos realizados por Zaharia *et al.* (2013a) e Zaharia *et al.* (2013b) as suspensões de leveduras contendo glicose provaram ser menos eficazes na diminuição da toxicidade do dinitrofenol do que aqueles sem glicose, eles tiveram um efeito menos estimulante na ação em mudas de trigo. A degradação do agrotóxico na presença de levedura e glicose pode ter gerado alguns subprodutos que tiveram efeito tóxico no experimento de germinação trigo. Comparando com os resultados dos testes de She *et al.* (2012), na presença de glicose (760mg/L) a 300 mg/L de 3-NP e glicose (320 e 660mg/L) a 360 mg/L de 3-NP

acelerou a taxa de degradação de 3-NP, enquanto a glicose (1320 e 2000 mg/L) a 360 mg/L de 3-NP inibiu a degradação de 3-NP. Nesse caso a adição de glicose melhorou efetivamente o biodegradabilidade do nitrofenóis, mas a alta concentração do açúcar provocou o efeito reverso. Tanto DNOC como 3-NP pertencem ao grupo dos dinitrofenóis.

5.7 Estudo prospectivo de busca de patentes

O Quadro 7 apresenta os resultados encontrados no banco de dados de patentes do *Orbit Intelligence*. Ao ser feito o afunilamento das palavras-chaves, observou-se que até o momento não existem patentes sobre o tema em questão. Foi analisado também todas as patentes encontradas, e não foi encontrado nenhum produto patenteado produzido por leveduras e suas enzimas capazes de degradar agrotóxicos. Não se sabe se ainda não houve investimento por ser um método que precisa de muitos recursos ou que ele de fato seja um tema novo e promissor.

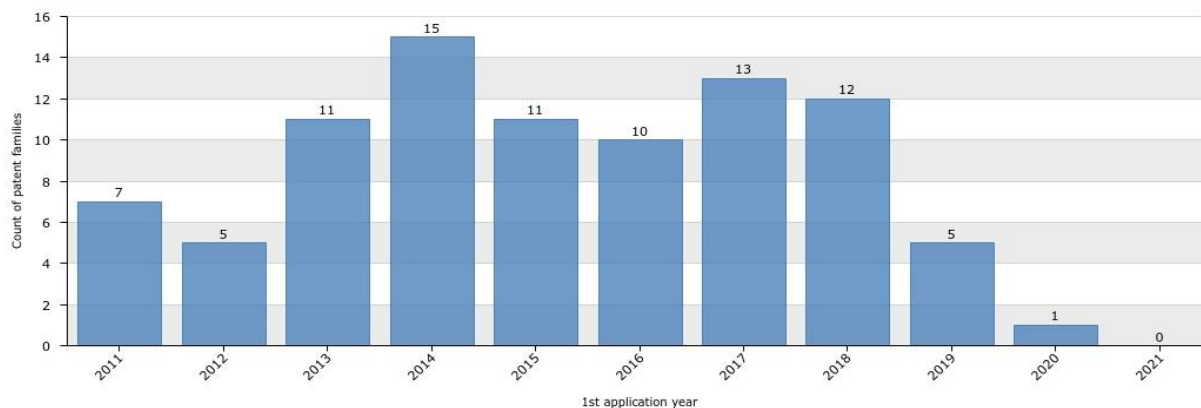
Quadro 7 — Busca de patentes pelo *Orbit Intelligence*

Palavras Chaves	Resultados
Yeasts and pesticides	163
Yeasts and bioremediation	29
Yeasts and contaminated soil	22
Yeasts and biodegradation	0
Yeasts and bioremediation and contaminated soil	4
Yeasts and pesticides and biodegradation	2
Yeasts and bioremediation and contaminated soil and pesticides	0

Elaborada pela autora (2021)

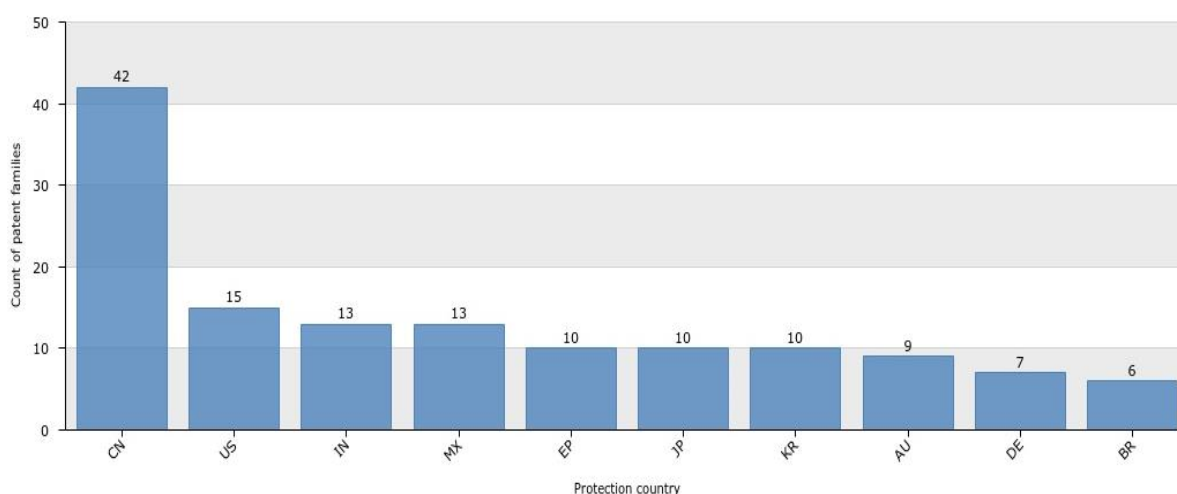
Em relação aos termos “Yeasts and pesticides” foram encontradas 163 patentes relacionadas ao tema, mostrado na Figura 3, onde apresenta a tendência de investimentos tecnológicos nos últimos 10 anos por estas palavras-chaves. Pode-se aferir um aumento crescente nos últimos anos, ocorrendo um decréscimo nos anos 2020. Provavelmente os estudos atuais estão voltados à pandemia, momento no qual o presente estudo foi desenvolvido. Na Figura 4 logo abaixo, é mostrado os 10 países que mais depositaram patentes a partir dos termos “Yeasts and pesticides” nos últimos 10 anos. Nesse caso o país que mais se destacou foi a China, seguido dos Estados Unidos, Índia e México. O Brasil está presente na quinta posição.

Figura 3 —Tendência de investimentos tecnológicos nos últimos 10 anos a partir dos termos “Yeasts and pesticides”



Fonte: Orbit quest (2021)

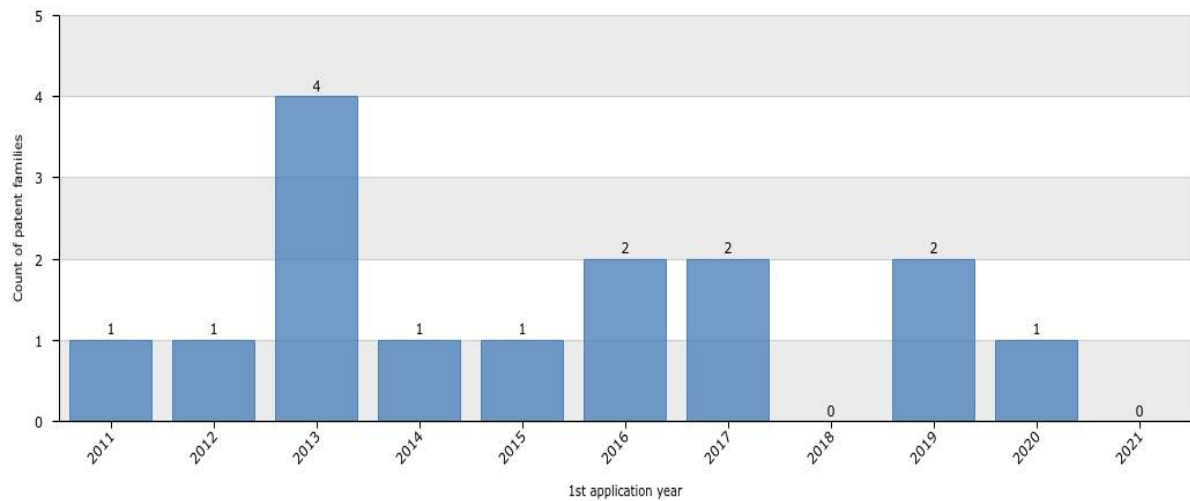
Figura 4 — Relação dos países que mais depositam patentes nos termos “Yeasts and pesticides” nos últimos 10 anos



Fonte: Orbit quest (2021)

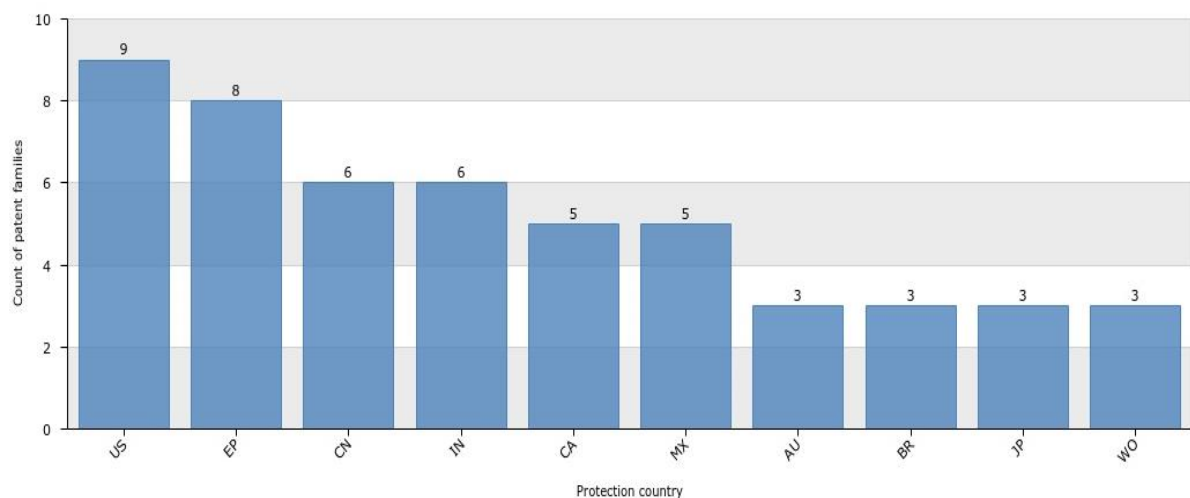
Ao analisar os termos “Yeasts and bioremediation”, foi encontrado 29 patentes similares ao tema. Na Figura 5 é mostrada a tendência de investimentos tecnológicos nos últimos 10 anos. Pode-se observar um aumento em 2013, correspondente ao ano em que foi encontrado mais artigos nos estudos coletados. Na Figura 6, é mostrado os 10 países que mais depositaram patentes relacionada aos termos em questão nos últimos 10 anos. Os que mais se destacaram foram os Estados Unidos, Organização Europeia de Patentes (OPE/EP), seguido de Índia, China, Canadá e México. O Brasil encontra-se neles, pertencendo ao grupo na quinta posição.

Figura 5 —Tendência de investimentos tecnológicos nos últimos 10 anos a partir dos termos “Yeasts and bioremediation”



Fonte: Orbit quest (2021)

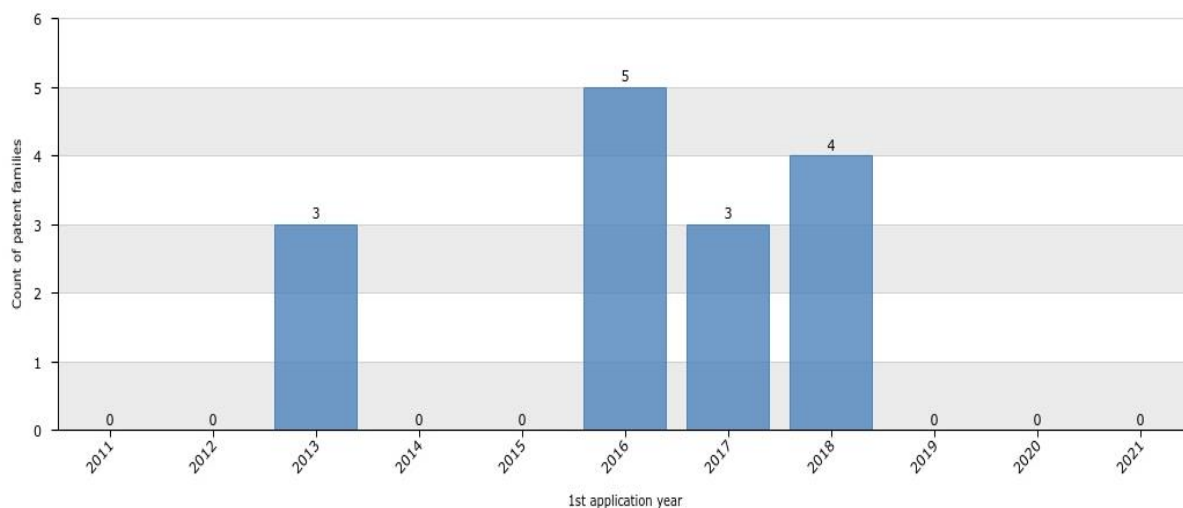
Figura 6 —Relação dos países que mais depositam patentes nos termos “Yeasts and bioremediation” nos últimos 10 anos



Fonte: Orbit quest (2021)

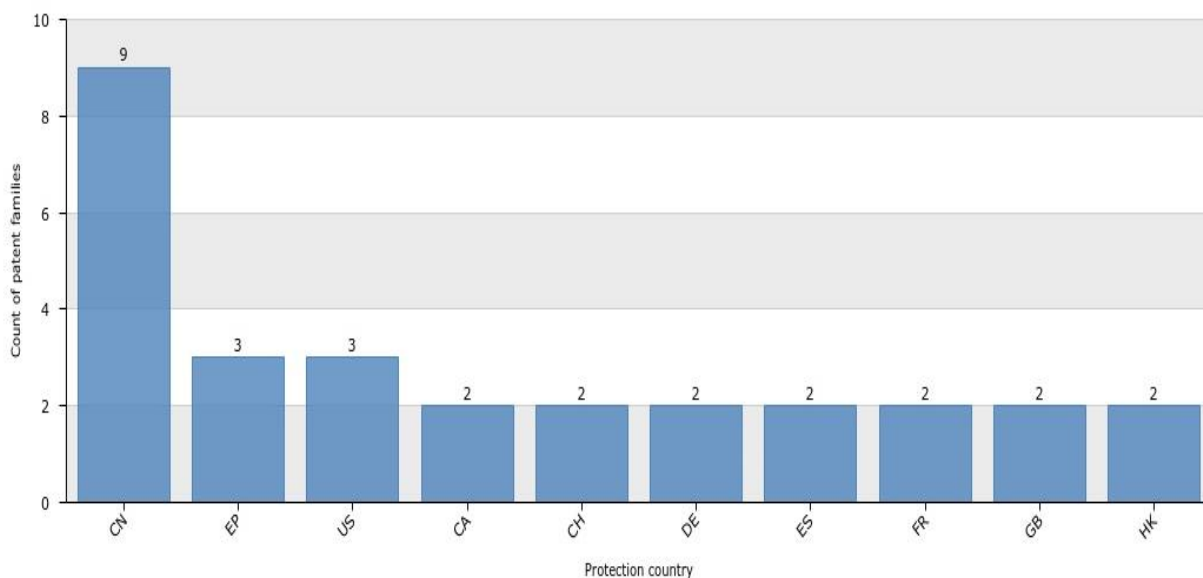
Foram encontradas 22 patentes relacionadas ao termo “Yeasts and contaminated soil”. Na Figura 7 é mostrada a tendência de investimentos tecnológicos nos últimos 10 anos. Pode-se observar um aumento nos anos 2013, 2016, 2017 e 2018. Na Figura 8, é mostrado os 10 países que mais depositaram patentes relacionadas aos termos nos últimos 10 anos, e os que mais se destacaram foram a China, Estados Unidos e Organização Europeia de Patentes (OPE/EPO). Nesse caso o Brasil não se encontra em destaque.

Figura 7 —Tendência de investimentos tecnológicos nos últimos 10 anos a partir dos termos “Yeasts and contaminated soil”



Fonte: Orbit quest (2021)

Figura 8 —Relação dos países que mais depositam patentes nos termos “Yeasts and contaminated soil” nos últimos 10 anos



Fonte: Orbit quest (2021)

De acordo com as figuras 4, 6 e 8 pode-se observar que Estados Unidos e China se destacaram. Ambos os países são considerados duas potências mundiais que investem bastante na tecnologia e inovação. Por muito tempo os Estados Unidos lideraram os pedidos de patentes, mas desde 2019 a China se tornou a principal depositária de pedidos internacionais de

patentes, ultrapassando os Estados Unidos, mantendo-se neste posição até os dias atuais (G1, 2021; ANDAKU, 2021).

A Organização Europeia de Patentes (OPE/EP) também apresenta destaque, é uma organização intergovernamental criada em 7 de outubro de 1977 com base na Convenção Europeia de Patentes (EPC) assinada em Munique em 1973. Tem o intuito de realizar pesquisas, exames de pedidos de patentes e a concessão de patentes europeias, bem como fornecer patentes de alta qualidade e serviços eficientes que fomentam a inovação, a competitividade e o crescimento econômico e social (EPO, 2021).

De acordo com o Instituto Nacional da Propriedade Industrial (INPI), no Brasil, entre janeiro-dezembro de 2020, foram depositados 27.091 pedidos de patentes: 24.339 de patentes de invenção, 2.663 de modelos de utilidade e 89 de certificados de adição. Entre os países que mais depositaram pedidos de patentes de invenção, estiveram os Estados Unidos (29%), Brasil (22%), Alemanha (7%), Japão (6%), China (5%), França e Suíça (4% cada). Entre os depósitos de modelo de utilidade, 99% dos pedidos foram realizados por depositantes residentes do Brasil (INPI, 2020).

6 CONCLUSÕES

Por meio desta pesquisa foi possível inferir o quanto o uso incorreto e indiscriminado de agrotóxicos pode prejudicar o meio ambiente e o quanto é essencial a descoberta de novas tecnologias e meios de degradação desses resíduos, para a diminuição desses poluentes na natureza. Dessa forma, a utilização de microrganismos em processos de degradação de compostos tóxicos vem se tornando algo promissor.

Esta revisão proporciona um embasamento teórico para possíveis trabalhos futuros, fornecendo conhecimento sobre o processo de degradação de agrotóxicos por leveduras, em que é apresentado agrotóxicos e respectivas leveduras degradadoras, bem como técnicas para identificação do resíduos resultantes e o percentual de degradação, e as condições ideais que favorecem esse processo.

O presente trabalho enfatizou que muitas espécies de leveduras possuem potencial de degradar resíduos de agrotóxicos, onde podem ser úteis na descontaminação de solos e recursos hídricos por meio de técnicas de biorremediação. As leveduras com potencial de degradação pertencem aos gêneros *Rhodotorula*, *Candida*, *Pichia* e *Pseudozyma*. Também foram estudados processos fermentativos e de degradação com *Saccharomyces cerevisiae*. Quanto aos agrotóxicos, foram estudados o Lindano, Bifentrina, Dinitrofenóis, Clorpirifós, Diazinon,

Atrazina e Bifenilos Policlorados.

Foi observado que as técnicas mais utilizadas para identificação de resíduos e metabólitos de agrotóxicos após testes de degradação são: a cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massa (GC-MS), espectroscopia no infravermelho por transformada de *Fourier* (FTIR), cromatografia líquida acoplada à espectrometria de massas sequencial (LC-MS/MS), cromatografia líquida de alto desempenho (HPLC) e ressonância magnética nuclear (NMR). Vale ressaltar também que fatores como pH, temperatura, adição de glicose e concentração do inóculo interferem diretamente nos processos de degradação.

Alguns estudos demonstraram que a degradação de alguns compostos tóxicos pode produzir um metabólito ainda mais tóxico, que ao ser incorporado ao meio ambiente tem o risco provocar danos maiores que o próprio agrotóxico. Por isso é necessário investigar a melhor forma de biodegradá-lo, bem como o microrganismo mais indicado para cada agrotóxico.

Quanto aos estudos prospectivos de patentes, não foi encontrado nenhum produto patentado produzido por leveduras capazes de degradar agrotóxicos. Pode-se observar que Estados Unidos e China são os países que mais depositam patentes relacionado ao tema. Dessa forma, observa-se que o tema do estudo em questão necessita ser mais investigado para a produção de produtos inovadores capazes de auxiliar na degradação de agrotóxicos, que possivelmente serão bastante úteis no âmbito ambiental e tecnológico, visto que a contaminação por agrotóxicos a cada dia se torna mais preocupante.

Diante disso, esta revisão sinaliza para a necessidade de novas pesquisas envolvendo a degradação de agrotóxicos por leveduras e suas enzimas, tanto no que se referem aos artigos científicos como também ao desenvolvimento de produtos patenteados, até o momento.

REFERÊNCIAS

ABIGAIL, E. A.; SALAM, Jaseetha Abdul; DAS, Nilanjana. Atrazine degradation in liquid culture and soil by a novel yeast *Pichia kudriavzevii* strain Atz-EN-01 and its potential application for bioremediation. **Journal of Applied Pharmaceutical Science**, v. 3, n. 6, p. 35, 2013.

AHMED, M. *et al.* Analysis of bifenthrin degrading bacteria from rhizosphere of plants growing at tannery solid waste. **American Journal of Plant Sciences**, v. 6, n. 13, p. 2042, 2015.

ALAMI, N. H. *et al.* The potential of yeast isolated from agricultural soil in atrazine degradation. **Eco. Env. & Cons.** v. 26 p. S51-S56, 2020.

ALBUQUERQUE, T. V. F. **Caracterização de parâmetros influenciadores na qualidade de corpo receptor de efluentes industriais no DAIA**. 57 f. Trabalho de Conclusão (Graduação em Química Tecnológica) –Instituto de Química, Universidade de Brasília, Brasília DF, 2019.

ALCÂNTARA, D. B. *et al.* Diagnostic detection systems and QuEChERS methods for multiclass pesticide analyses in different types of fruits: An overview from the last decade. **Food chemistry**, v. 298, p. 124958, 2019.

ALEXIEVA, Z. *et al.* Monitoring of aromatic pollutants biodegradation. **Biochemical engineering journal**, v. 40, n. 2, p. 233-240, 2008.

ALEKSIEVA, Z. *et al.* Degradation of some phenol derivatives by *Trichosporon cutaneum* R57. **Process Biochemistry**, v. 37, n. 11, p. 1215-1219, 2002.

AL-HOORIE, A. H.; VITTA, J. P. The seven sins of L2 research: A review of 30 journals' statistical quality and their CiteScore, SJR, SNIP, JCR Impact Factors. **Language Teaching Research**, v. 23, n. 6, p. 727-744, 2019.

AL-SHAALAN, Nora Hamad *et al.* High performance removal and simulation studies of diuron pesticide in water on MWCNTs. **Journal of Molecular Liquids**, v. 289, p. 111039, 2019.

ALVES, D. R. *et al.* Atividades antioxidante, anticolinesterasica e citotóxica de metabólitos de fungos endofíticos. **Brazilian Journal of Development**, v. 6, n. 9, p. 73684-73691, 2020.

ALVES, D. R. *et al.* Saúde e Prevenção do Trabalhador: Agricultores e o Uso de Agrotóxicos. **Revista Enfermagem e Saúde Coletiva-REVESC**, v. 4, n. 2, p. 37-44, 2019.

ALVES, S. R.; OLIVEIRA-SILVA, J. J. Avaliação de ambientes contaminados por agrotóxicos. *In.*: Peres, F.; Moreira, J. C. (org.). **É veneno ou é remédio**. Agrotóxicos,

saúde e ambiente. 384p. Rio de Janeiro: Fiocruz, 2003, p. 137-156.

ANDAKU, E. **As marcas e patentes na reprodução do espaço desigual: Estados Unidos e China**. Tese de Doutorado (Faculdade de Filosofia, Letras e Ciências Humanas) – Universidade de São Paulo, departamento de Geografia, São Paulo, 2021.

ANWAR, S. *et al.* Biodegradation of chlorpyrifos and its hydrolysis product 3, 5, 6-trichloro-2-pyridinol by *Bacillus pumilus* strain C2A1. **Journal of Hazardous Materials**, v. 168, n. 1, p. 400-405, 2009.

ARRUDA, A. D.; BERETTA, A. L. R. Z. Micotoxinas e seus efeitos à saúde humana: revisão de literatura. **RBAC**, v. 51, n. 4, p. 286-9, 2019.

AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA. Bifentrina. Brasília, 2021. Disponível em: encurtador.com.br/eBOQZ. Acesso em: 15 set. 2021.

AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA. Programa de análise de resíduos de agrotóxicos em alimentos. **Relatório de amostras realizadas no período de 2017 - 2018**. Brasília, 2019. Disponível em: encurtador.com.br/dgsty. Acesso em: 15 jul. 2021.

AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA. **Resolução- RE Nº 2.080, de 31 de julho de 2019**. Disponível em <http://www.in.gov.br/web/dou/-/resolucao-re-n-2080-de-31-de-julho-de-2019-208203097>. Acesso em: 20 de mai. 2020

AKHTAR, N.; MANNAN, M. A. Mycoremediation: Expunging environmental pollutants. **Biotechnology Reports**, v. 26, p. e00452, 2020.

AMARO, B. B. D. F. *et al.* A Biossegurança no uso de agrotóxicos na percepção de agricultores do Distrito de Cuncas, Barro–Ceará: Saúde Física e Ambiental. **Research, Society and Development**, v. 10, n. 1, p. e15610111644-e15610111644, 2021.

ARAÚJO, A. J. *et al.* Exposição múltipla a agrotóxicos e efeitos à saúde: estudo transversal em amostra de 102 trabalhadores rurais, Nova Friburgo, RJ. **Ciência & Saúde Coletiva**, v. 12, n. 1, p. 115-130, 2007. Disponível em: https://www.scielo.br/scielo.php?pid=S1413-81232007000100015&script=sci_arttext. acesso em: 16 de jun. de 2020.

ASWATHI, A.; PANDEY, A.; SUKUMARAN, R. K. Rapid degradation of the organophosphate pesticide–Chlorpyrifos by a novel strain of *Pseudomonas nitroreducens* AR-3. **Bioresource technology**, v. 292, p. 122025, 2019.

AUGUSTO, L. G. S. Uso dos agrotóxicos no semi-árido brasileiro. *In.*: PERES, F.; MOREIRA, J. C. (org.). **É veneno ou é remédio**. Agrotóxicos, saúde e ambiente. 384p. Rio de Janeiro: Fiocruz, 2003, p. 59-73.

AZUBUIKE, C. C.; CHIKERE, C. B.; OKPOKWASIL, G. C. Bioremediation

techniques—classification based on site of application: principles, advantages, limitations and prospects. **World Journal of Microbiology and Biotechnology**, v. 32, n. 11, p. 180, 2016.

BAJAJ, S. *et al.* Biodegradation of γ -hexachlorocyclohexane (lindane) by halophilic bacterium *Chromohalobacter* sp. LD2 isolated from HCH dumpsite. **International Biodeterioration & Biodegradation**, v. 122, p. 23-28, 2017.

BALSEIRO-ROMERO, M. *et al.* Modelling the ex situ bioremediation of diesel-contaminated soil in a slurry bioreactor using a hydrocarbon-degrading inoculant. **Journal of environmental management**, v. 246, p. 840-848, 2019.

BELCHIOR, D. C. V. *et al.* Impactos de agrotóxicos sobre o meio ambiente e a saúde humana. **Cadernos de Ciência & Tecnologia**, v. 34, n. 1, p. 135-151, 2017.

BEMPELOU, E. D. *et al.* Biodegradation of chlorpyrifos and 3, 5, 6-trichloro-2-pyridinol by the epiphytic yeasts *Rhodotorula glutinis* and *Rhodotorula rubra*. **Ecotoxicology**, v. 27, n. 10, p. 1368-1378, 2018.

BEMPELOU, E. D. *et al.* Biodegradation of diazinon by the epiphytic yeasts *Rhodotorula glutinis* and *Rhodotorula rubra*. **Hellenic Plant Protection J**, v. 6, p. 69-82, 2013.

BERGER, T. M. **Biorremediação de solos contaminados com hidrocarbonetos totais de petróleo**: enfoque na aplicação do processo Terraferm. Tese (Doutorado em Ecologia) – Programa de Pós-graduação em Ecologia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre. 86p. 2005.

Disponível em: <http://www.lume.ufrgs.br/bitstream/handle/10183/10900/000590396.pdf?s.>
Acesso em: 22 jul. 2020.

BERTICELLI, R. *et al.* Compostagem como alternativa de biorremediação de áreas contaminadas. **Revista CIATEC-UPF**, v. 8, n. 1, 2016.

BHARDWAJ, P. *et al.* Mapping atrazine and phenol degradation genes in *Pseudomonas* sp. EGD-AKN5. **Biochemical Engineering Journal**, v. 102, p. 125-134, 2015.

BOKADE, P.; PUROHIT, H. J.; BAJAJ, A. Myco-remediation of chlorinated pesticides: insights into fungal metabolic system. **Indian Journal of Microbiology**, p. 1-13, 2021.

BOSE, Sanchali *et al.* Microbial degradation of recalcitrant pesticides: a review. **Environmental Chemistry Letters**, p. 1-20, 2021.

BOSE, Sanchali; KUMAR, P. Senthil; VO, Dai-Viet N. A review on the microbial degradation of chlorpyrifos and its metabolite TCP. **Chemosphere**, p. 131447, 2021.

BOTHA, A. Yeasts in soil. In: ROSA, C.; GÁBOR, P. Biodiversity and Ecophysiology of Yeasts, 580p. Berlin, **Springer**, p. 371-417, 2006.

BRASIL. Lei nº 7802, de 11 de Julho de 1989. Dispõe sobre a pesquisa, a experimentação, a produção, a embalagem e rotulagem, o transporte, armazenamento, a comercialização, a propaganda comercial, a utilização, a importação, a exportação, o destino final dos resíduos de embalagens, o registro, a classificação, o controle, a inspeção e a fiscalização de agrotóxicos, seus componentes e afins, e dá outras providências.

Diário Oficial da República Federativa do Brasil, Brasília, DF, 1989. Disponível em: https://www.planalto.gov.br/ccivil_03/leis/l7802.htm. Acesso em: 29 de março. 2020.

BRASIL. Projeto de lei Nº 6.299, de 13 de março de 2002. Altera os arts 3º e 9º da Lei nº 7.802, de 11 de julho de 1989, que dispõe sobre a pesquisa, a experimentação, a produção, a embalagem e rotulagem, o transporte, o armazenamento, a comercialização, a propaganda comercial, a utilização, a importação, a exportação, o destino final dos resíduos e embalagens, o registro, a classificação, o controle, a inspeção e a fiscalização de agrotóxicos, seus componentes e afins, e dá outras providências. **Senado Federal**, Brasília, DF, 2002. Disponível em: <https://www.camara.leg.br/proposicoesWeb/fichadetramitacao?idProposicao=46249>. Acesso em: 20 de ago. 2021.

BRASIL. Programa de Análise de Resíduos de Agrotóxicos em Alimentos. **Relatório das análises de amostras monitoradas no período de 2013 a 2015**. Brasília, 2016. 246p. Disponível em: encurtador.com.br/Wkmtz. Acesso em: 03 jun. 2020.

BRICENO, G. *et al.* Increased diazinon hydrolysis to 2-isopropyl-6-methyl-4-pyrimidinol in liquid medium by a specific *Streptomyces* mixed culture. **Chemosphere**, v. 156, p. 195-203, 2016. (b)

BRICENO, G. *et al.* Use of pure and mixed culture of diazinon-degrading *Streptomyces* to remove other organophosphorus pesticides. **International Biodeterioration & Biodegradation**, v. 114, p. 193-201, 2016. (a)

BRILHANTE, R. S. N. *et al.* Surveillance of Azole Resistance Among *Candida* spp. as a Strategy for the Indirect Monitoring of Freshwater Environments. **Water, Air and Soil Pollution**, v. 226, n.3, p.1-12, 2015.

BRITO, L. M. *et al.* Intoxicações por agrotóxicos: Impactos causados pela utilização indiscriminada em comunidades rurais. **Research, Society and Development**, v. 10, n. 8, p. e56710817418-e56710817418, 2021.

BROOKS *et al.* **Microbiologia médica**. 26. ed. Porto Alegre: AMGH, 2014.874f.

BROVINI, E. M. *et al.* Three-bestseller pesticides in Brazil: Freshwater concentrations and potential environmental risks. **Science of The Total Environment**, v. 771, p. 144754, 2021.

BUSATO, M. A. *et al.* Uso e manuseio de agrotóxicos na produção de alimentos da agricultura familiar e sua relação com a saúde e o meio ambiente. **HOLOS**, v. 1, p. 1-9, 2019.

CANNON, R. D. *et al.* Efflux-mediated antifungal drug resistance. **Clinical microbiology reviews**, v. 22, n. 2, p. 291-321, 2009.

CARNEIRO, F. F. *et al.* (Org.). **Dossiê ABRASCO**: um alerta sobre os impactos dos agrotóxicos na saúde. Rio de Janeiro/ São Paulo: EPSJV/ Expressão Popular, 2015. Disponível em: <https://www.arca.fiocruz.br/handle/icict/26221>. Acesso em: 28 jun. 2020

CARNEIRO, D. A.; GARIGLIO, L. P. A biorremediação como ferramenta para a descontaminação de ambientes terrestres e aquáticos. **Tecer**, Belo Horizonte, v. 3, n. 4, p.82-95, 2010. Disponível em: <http://www.bibliotekevirtual.org/revistas/MetodistaIH/RT/v03n04/v03n04a08.pdf>. Acesso em: 28 jun. 2020

CASTELO-BRANCO, D. S. C. M. *et al.* Azole resistance in *Candida* from animals calls for the One Health approach to tackle the emergence of antimicrobial resistance. **Medical Mycology**, 2020.

CASTRO, A. A. *et al.* Organophosphorus degrading enzymes: Molecular basis and perspectives for enzymatic bioremediation of agrochemicals. **Ciencia e Agrotecnologia**, v. 41, n.5, p. 471-482, 2017.

CATANEO, A. C. *et al.* Atividade de glutathione S-transferase na degradação do herbicida glyphosate em plantas de milho (*Zea mays*). **Planta Daninha**, v. 21, p. 307-312, 2003.

CAVAZZINI, Al. *et al.* Recent applications in chiral high performance liquid chromatography: a review. **Analytica Chimica Acta**, v. 706, n. 2, p. 205-222, 2011.

CHAUHAN, A.; GOYAL, M. K.; CHAUHAN P. GC-MS technique and its analytical applications in science and technology. **Journal of Analytical and Bioanalytical Techniques**, v. 5, p. 6-10, 2014.

CHELALICHE A. S. *et al.* Proteomic insight on the polychlorinated biphenyl degrading mechanism of *Pleurotus pulmonarius* LBM 105. **Chemosphere**, v. 265, p. 129093, 2021.

CHEN, B. *et al.* *Candida mengyungiae* sp. nov., a metsulfuron-methyl-resistant yeast. **International journal of systematic and evolutionary microbiology**, v. 59, n. 5, p. 1237-1241, 2009.

CHEN, F. *et al.* Enhanced biodegradation of polychlorinated biphenyls by defined bacteria-yeast consortium. **Annals of microbiology**, v. 65, n. 4, p. 1847-1854, 2015.

CHEN, S. *et al.* Microbial detoxification of bifenthrin by a novel yeast and its potential for contaminated soils treatment. **PloS one**, v. 7, n. 2, p. e30862, 2012.

CHIARADIA, M. C.; COLLINS, C. H.; JARDIM, I. C.S. F. O estado da arte da cromatografia associada à espectrometria de massas acoplada à espectrometria de massas na análise de compostos tóxicos em alimentos. **Química nova**, v. 31, p. 623-636, 2008.

COUTINHO, P. W. R. *et al.* Alternativas de remediação e descontaminação de solos: biorremediação e fitorremediação. **Nucleus**, v. 12, n. 1, p. 59-68, 2015.

CUNHA, P. O. et al. Estudo epidemiológico de intoxicação por agrotóxicos no estado de Rondônia. **Research, Society and Development**, v. 9, n. 11, p. e2429119876-e2429119876, 2020.

DE HOOG, G. S. et al. **Atlas of Clinical Fungi**. The Netherlands: Centraal bureau voor Schimmisl cultures, 2^a ed. Baarn, 2002. 811p.

DORDEVIC, T. M.; ĐUROVIĆ-PEJČEV, R. D. The potency of *Saccharomyces cerevisiae* and *Lactobacillus plantarum* to dissipate organophosphorus pesticides in wheat during fermentation. **Journal of food science and technology**, v. 53, n. 12, p. 4205-4215, 2016.

DORDEVIC, T. M. et al. Stability of the pyrethroid pesticide bifenthrin in milled wheat during thermal processing, yeast and lactic acid fermentation, and storage. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 93, n. 13, p. 3377-3383, 2013.

DUARTE, P. M.; SANTANA, V. T. P.; DALMAS, A. D. Perfil epidemiológico das intoxicações por produtos veterinários no estado do Rio Grande do Sul entre 2007 e 2017. **Connectionline**, n. 21, 2019.

DUTRA, L. S.; FERREIRA, A. P. Associação entre malformações congênitas e a utilização de agrotóxicos em monoculturas no Paraná, Brasil. **Saúde em Debate**, v. 41, p. 241-253, 2017.

EUROPEN PATENT OFFICE (EPO). Disponível em: <https://www.epo.org/about-us.html>. Acesso: em 25 jul. 2021.

FERNANDES, A. F. T. et al. Degradation of atrazine by *Pseudomonas* sp. and *Achromobacter* sp. isolated from Brazilian agricultural soil. **International Biodeterioration & Biodegradation**, v. 130, p. 17-22, 2018.

FRAC, M.; HANNULA, S. E.; BELKA, M.; DRYCZA, M. J. Fungal biodiversity and their role in soil health. **Frontiers in Microbiology**, v. 9, p. 707, 2018. Disponível em: <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fmicb.2018.00707/full>. Acesso em: 2 jun. 2020.

FRIAS, A. R. R.; SANTOS, E. O. Tecnologias comerciais para biorremediação de corpos hídricos. **Episteme Transversalis**, v. 11, n. 3, p.196-221, 2020.

GAYLARDE, C. C.; BELLINASSO, M. L.; MANFIO, G. P. Biorremediação. **Biotecnologia Ciência & Desenvolvimento**, n. 34, p. 36-43, 2005.

GERMAIN, J. et al. Screening and metabolic potential of fungal strains isolated from contaminated soil and sediment in the polychlorinated biphenyl degradation. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 208, p. 111703, 2021.

GOMES, H. O. et al. A socio-environmental perspective on pesticide use and food production. **Ecotoxicology and environmental safety**, v. 197, p. 110627, 2020.

GOMES, H. O. *et al.* Statistical evaluation of analytical curves for quantification of pesticides in bananas. **Food Chemistry**, v. 345, p. 128768, 2021.

GROSSART, Hans-Peter *et al.* Fungi in aquatic ecosystems. **Nature Reviews Microbiology**, v. 17, n. 6, p. 339-354, 2019.

GURGEL, A. M.; GUEDES, C. A.; FRIEDRICH, K. Flexibilização da regulação de agrotóxicos enquanto oportunidade para a (neco) política brasileira: avanços do agronegócio e retrocessos para a saúde e o ambiente. **Desenvolvimento e Meio Ambiente**, v. 57, 2021.

GURGEL, L. S. **Toxicologia de formulações comerciais de inseticidas para as abelhas *Scaptotrigona aff. depilis* e *Apis mellifera* L.** 62 f. Tese de Doutorado (Programa de Pós-Graduação em Zootecnia) – Centro de Ciências Agrárias, Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 2020.

HAGLER, A.N. Yeast as Indicators of Environmental Quality. In: ROSA, C.; GÁBOR, P. **Biodiversity and Ecophysiology of Yeasts**, Berlin: Springer, 2006, p. 514-532.

HAMAD, M. T. M. H. Biodegradation of diazinon by fungal strain *Apergillus niger* MK640786 using response surface methodology. **Environmental Technology & Innovation**, v. 18, p. 100691, 2020.

HAN, Y.*et al.* Degradation of pendimethalin by the yeast YC2 and determination of its two main metabolites. **RSC advances**, v. 9, n. 1, p. 491-497, 2019.

HERRERA, R. Expresión diferencial de proteínas por *rhodobacter capsulatus* b10s en respuesta a la presencia de 2, 4-dinitrofenol. **Revista científica Guacamaya**, v. 1, p. 95-117, 2017.

HUIFANG X. *et al.* Production of a recombinant laccase from *Pichia pastoris* and biodegradation of chlorpyrifos in a laccase/vanillin system. **Journal of microbiology and biotechnology**, v. 23, n. 6, p. 864-871, 2013.

HYDE, K. D. *et al.* The amazing potential of fungi: 50 ways we can exploit fungi industrially. **Fungal Diversity**, v. 97, n. 1, p. 1-136, 2019.

IBAMA - INSTITUTO BRASILEIRO DO MEIO AMBIENTE E DOS RECURSOS NATURAIS RENOVÁVEIS. Portaria normativa IBAMA nº 84, de 15 de outubro de 1996. Brasília, 1996.

ILORI, M. O. *et al.* Extensive biodegradation of Nigerian crude oil (Escravos light) by newly characterized yeast strains. **Petroleum science and technology**, v. 29, n. 21, p. 2191-2208, 2011.

ILYAS, S.; REHMAN, A.; ILYAS, Q. Heavy metals induced oxidative stress in multi-metal tolerant yeast, *Candida* sp. PS33 and its capability to uptake heavy metals from wastewater. **Pakistan Journal of Zoology**, v. 49, n. 3, p. 669-775, 2017.

INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA (IBGE). **Censo agropecuário 2017**: resultados definitivos. Rio de Janeiro, v. 8, p.1-105, 2019. Disponível em: https://biblioteca.ibge.gov.br/visualizacao/periodicos/3096/agro_2017_resultados_definitivos.pdf. Acesso em 15 jul 2021.

INSTITUTO NACIONAL DA PROPRIEDADE INDUSTRIAL (INPI). **Boletim mensal de propriedade industrial**: estatísticas preliminares. Rio de Janeiro, v.5, n. 3, p. 1-20, mar. 2020.
Disponível em: encurtador.com.br/nxIN7. Acesso em: 15 jul. 2021.

ISIA, I. *et al.* Potential use of a pathogenic yeast *Pichia kluyveri* FM012 for degradation of dichlorodiphenyltrichloroethane (DDT). **Water, Air, & Soil Pollution**, v. 230, n. 9, p. 1-11, 2019.

ISMAEL, L. L.; ROCHA, E. M. R. Estimativa de contaminação de águas subterrâneas e superficiais por agrotóxicos em área sucroalcooleira, Santa Rita/PB, Brasil. **Ciência & Saúde Coletiva**, v. 24, n. 12, p. 4665-4676, 2019.

JABALI, Y.; MILLET, M.; EL-HOZ, M. Optimization of a DI-SPME-GC–MS/MS method for multi-residue analysis of pesticides in waters. **Microchemical Journal**, v. 147, p. 83-92, 2019.

JACQUES, R. J. S. *et al.* Biorremediação de solos contaminados com hidrocarbonetos aromáticos policíclicos. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 37, n. 4, p.1192-1201, 2007.
Disponível em: <http://www.scielo.br/pdf/cr/v37n4/a49v37n4.pdf>. Acesso em: 23 jun. 2020.

JIN, X. *et al.* Risk assessment of organochlorine pesticides in drinking water source of the Yangtze River. **Ecotoxicology and environmental safety**, v. 182, p. 109390, 2019.

KAMBIRANDA, D. M. *et al.* Expression of esterase gene in yeast for organophosphates biodegradation. **Pesticide biochemistry and physiology**, v. 94, n. 1, p. 15-20, 2009.

KOUR, D. *et al.* Agriculturally and industrially important fungi: current developments and potential biotechnological applications. In: **Recent advancement in white biotechnology through fungi**. Springer, Cham, 2019. p. 1-64.

KURADE, M. B. *et al.* Insights into microalgae mediated biodegradation of diazinon by *Chlorella vulgaris*: microalgal tolerance to xenobiotic pollutants and metabolism. **Algal research**, v. 20, p. 126-134, 2016.

LACERDA, F.; NAVONI, J.; MARAL, V. **A biorremediação**: educação em saúde e alternativas à poluição ambiental. Natal: IFRN, 2020.

LANÇAS, F. M. *et al.* A Cromatografia Líquida Moderna e a Espectrometria de Massas: finalmente “compatíveis”. **Scientia chromatographica**, v. 1, n. 2, p. 35-61, 2009.

LEAL, D.; LOPES, I. A comunicação dos riscos na logística reversa das embalagens de

agrotóxicos no Brasil. **Saúde e meio ambiente: revista interdisciplinar**, v. 8, p. 148-162, 2019.

LEITE, L. L. B. **Aplicação da espectroscopia de Ressonância Magnética Nuclear quantitativa de Hidrogênio (RMNq-1H) na área farmacêutica e afins**. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Farmácia) - Universidade Federal da Paraíba, João Pessoa, 2013.

LEONEL, L. V. *et al.* Biorremediação do solo. **Revista Terra & Cultura**, v. 26, n. 51, p. 37-52, 2018.

MANDAL, S. K.; SELVI, A.; DAS, N. A novel approach on degradation of Benzo [a] pyrene by yeast consortium isolated from contaminated soil. **Der. Pharmacia Lettre**, v. 8, n. 7, p. 80, 2016.

MARIANO, A. P. **Avaliação do potencial de biorremediação de solos e de águas subterrâneas contaminados com óleo diesel**. 2006. Tese (Doutorado em Geociências e Meio Ambiente) - Programa de Pós-Graduação em Geociências e Meio Ambiente, Universidade Estadual Paulista, Rio Claro, SP, 2006. Disponível em: <https://repositorio.unesp.br/handle/11449/102864>. Acesso em: 23 jun. 2020.

MARIANO, A. P. *et al.* Laboratory study on the bioremediation of diesel oil contaminated soil from a petrol station. **Brazilian Journal of Microbiology**, v. 38, n. 2, p. 346-353, 2007.

MEDEIROS, A. O. *et al.* Diversity and antifungal susceptibility of yeasts from tropical freshwater environments in Southeastern Brazil. **Water Research**, v. 42, n. 14, p. 3921-3929, 2008.

MERTENS, B.; BOON, N.; VERSTRAETE, W. Stereospecific effect of hexachlorocyclohexane on activity and structure of soil methanotrophic communities. **Environmental Microbiology**, v. 7, n. 5, p. 660-669, 2005.

MISHRA, S. *et al.* Insights into the microbial degradation and biochemical mechanisms of carbamates. **Chemosphere**, p. 130500, 2021.

MOJIRI, A. *et al.* Pesticides in aquatic environments and their removal by adsorption methods. **Chemosphere**, v. 253, p. 126646, 2020.

MORAIS FILHO, M. C.; CORIOLANO, A. C. F. Biorremediação, uma alternativa na utilização em áreas degradadas pela indústria petrolífera. **HOLOS**, v. 7, p. 133-150, 2016.

MORAES, A. M. L.; PAES, R. A.; HOLANDA, V. L. Micologia. In: Molinaro, E. M.; CAPUTO, L. F. G.; AMENDOEIRA, M. R. R. **Conceitos e métodos para a formação de profissionais em laboratórios de saúde**. Rio de Janeiro: Escola Politécnica de Saúde Joaquim Venâncio/Fundação Oswaldo Cruz, 2009, p. 399-496.
Disponível em: <https://www.arca.fiocruz.br/handle/icict/8661>
Acesso em: 28 jun. 2020.

MOREIRA, F.; SIQUEIRA, J. O. **Microbiologia e Bioquímica do Solo**. 2.ed. Lavras: UFLA, 2006.

MOREIRA, G. A. M. **Diversidade e ecologia de leveduras em solos brasileiros**. 222 f. Tese de doutorado (Programa de Pós-Graduação de Biologia Microbiana) – Instituto de Ciências Biológicas, Universidade de Brasília, Brasília - DF, 2019.

MOREIRA, I. T. A.; MARQUES, I. M. Biorremediação de áreas costeiras impactadas por petróleo. In: SEMINÁRIO ESTUDANTIL DE PRODUÇÃO ACADÊMICA, v. 18, 2019, Salvador. **Anais eletrônicos...** Salvador: UNIFACS, 2019.

Disponível em: <<https://revistas.unifacs.br/index.php/sepa/article/view/5884/4136>>. Acesso em: 22 ago. 2021.

MUDHOO, A. *et al.* Endosulfan removal through bioremediation, photocatalytic degradation, adsorption and membrane separation processes: a review. **Chemical Engineering Journal**, v. 360, p. 912-928, 2019.

MÜLLER, F. M. C. *et al.* Cross-resistance to medical and agricultural azole drugs in yeasts from the oropharynx of human immunodeficiency virus patients and from environmental bavarian vine grapes. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, v. 51, n.8, p. 3014-3016, 2007.

MURRAY, P.; ROSENTHAL, K. S.; PFALLER, M. A. **Microbiología médica**. 6. ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2015. 4393 p.

MUTECA, F. L. L.; **Biorremediação de solo contaminado com óleo cru proveniente de Angola**. 2012. Dissertação (Mestrado em Tecnologia de Processos Químicos e Bioquímicos) – Programa de Pós-graduação em Tecnologia de Processos Químicos e Bioquímicos, Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2012. Disponível em: <http://tpqb.eq.ufrj.br/download/biorremediacao-de-solocontaminado-com-oleo-cru.pdf>. Acesso em: 03 jun. 2020.

NISHIMURA, K. *et al.* Biodegradation of triazine herbicides on polyvinylalcohol gel plates by the soil yeast *Lipomyces starkeyi*. **Applied microbiology and biotechnology**, v. 58, n. 6, p. 848-852, 2002.

NOGUEIRA, L.; MELVILE, C. C. Insetos e ácaros: resistência a pesticidas e estratégias de manejo insects and mites: pesticides resistance and management strategies. **Revista Agrotecnologia**, Ipameri, v.11, n.1, p.68-74, 2020

OKEKE, B. C. *et al.* Biodegradation of γ -hexachlorocyclohexane (lindane) and α -hexachlorocyclohexane in water and a soil slurry by a *Pandora* species. **Journal of agricultural and food chemistry**, v. 50, n. 9, p. 2548-2555, 2002.

OLIVEIRA, G. P. **Indução metabólica de fungos filamentosos pelas técnicas de co-cultivo, osmac e modulação epigenética: produção de metabólitos secundários com atividade neuroprotetora**. 169 f. Tese (Doutorado em Ciências - Química) – Departamento de

Química, Instituto de Ciências Exatas, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 2019.

OLIVEIRA, J. E; FILHO, J. M. B; GREGÓRIO, L. E. Aplicação da cromatografia líquida acoplada a técnicas espectrométricas na análises de produtos naturais. In: Souza, G. H. B; MELLO, J. C. P; LOPES, N. P. **Revisões em processos e técnicas avançadas de isolamento e determinação estrutural de ativos de plantas medicinais**. Ouro Preto: UFOP, 2011. 31 p.

OLIVEIRA, M. A. R. **Prospecção tecnológica sobre o uso da cinza de casca de arroz em catalisadores heterogêneos**. 55 f. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Engenharia de Energia) –Universidade de Brasília, Brasília – DF, 2017.

OLIVEIRA, T. M. B. F.*et al.* Current overview and perspectives on carbon-based (bio) sensors for carbamate pesticides electroanalysis. **TrAC Trends in Analytical Chemistry**, v. 124, p. 115779, 2020.

OSHITA, D.; JARDIM, I. C. S. F. Comparação de métodos por cromatografia líquida na determinação de multirresíduos de agrotóxicos em morangos. **Química Nova**, v. 38, p. 1273-1281, 2015.

PAGANI, R. N.; KOVALESKI, J. L.; RESENDE, L. M. Methodi Ordinatio: a proposed methodology to select and rank relevant scientific papers encompassing the impact factor, number of citation, and year of publication. **Scientometrics**, v. 105, n. 3, p. 2109-2135, 2015.

PAIVA, M. A. N.*et al.* Leveduras oriundas de áreas naturais e de cultivo, com e sem agrotóxico: a resistência antifúngica como biomarcador ambiental. **Revista Multidisciplinar de Educação e Meio Ambiente**, v. 1, n. 1, p. 120-120, 2020.

PAIVA, M. H. S.*et al.* **Monitoramento do gene, que codifica a esterase, envolvido na resistência a inseticidas organofosforados em populações naturais de *Aedes aegypti* do Brasil**. Dissertação de Mestrado (Centro de Pesquisas Aggeu Magalhães) – Departamento de Saúde Coletiva, Fundação Oswaldo Cruz, Recife, 2006.

PANDEY, P.; PANT, G.; SIBI, G. Isolation and characterization of bifenthrin catabolizing bacterial strain *Bacillus cibi* from soil for pyrethroids biodegradation. **Online J. Biol. Sci**, v. 14, p. 188, 2014.

PEREIRA, A. R. B.; FREITAS, D. A. F. Uso de micro-organismos para a biorremediação de ambientes impactados. **Revista Eletrônica em Gestão, Educação e Tecnologia Ambiental**, v. 6, n. 6, p. 995-1006, 2012. Disponível em: <https://periodicos.ufsm.br/reget/article/view/4818>. Acesso em: 03 jun. 2020.

PEREIRA, P. M. **Avaliação do potencial de fungos na degradação do herbicida atrazina**. 2011. 77 f. Dissertação (Mestrado em Vigilância Sanitária) - Instituto Nacional de Controle de Qualidade em Saúde, Fundação Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro, 2011. Disponível em: <https://www.arca.fiocruz.br/handle/icict/9702>. Acesso em: 03 jun. 2020.

PERES, F.; MOREIRA J. C.; DUBOIS, G. S. Agrotóxicos, saúde e ambiente: uma

introdução ao tema. In: Peres, F.; Moreira, J. C. (org.). **É veneno ou é remédio?** Agrotóxicos, saúde e ambiente. Rio de Janeiro: Fiocruz, p. 137-156, 2003.

PILEGGI, M.; PILEGGI, S. A.V.; SADOWSKY, M. J. Herbicide bioremediation: from strains to bacterial communities. **Heliyon**, v. 6, n. 12, p. e05767, 2020.

PITT, J. J. Principles and applications of liquid chromatography-mass spectrometry in clinical biochemistry. **The Clinical Biochemist Reviews**, v. 30, n. 1, p. 19, 2009.

PRADO, A. A. O. S. *et al.* Biossurfactantes e resíduos lignocelulósicos. In: SIMPÓSIO DE ENGENHARIA DE PRODUÇÃO DE SERGIPE, 7., 2015, São Cristóvão. **Anais...** São Cristóvão: DEPRO/UFS, 2015, p. 517-525. Disponível em: <http://simprod.ufs.br/pagina/18182>. Acesso em: 28 jul 2018.

PRESSE, F. **China ultrapassa EUA e se torna campeã de pedidos internacionais de patentes**. G1, 2020. Disponível em: encurtador.com.br/ejzN3. Acesso em 28 jul. 2021.

QADIR, G. Yeast a magical microorganism in the wastewater treatment. **Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry**, v. 8, n. 4, p. 1498-1500, 2019.

QUENTAL, R. L.; BELÉM, J. F.; OLIVEIRA, A. L. O uso de produtos agrotóxicos: destinação das embalagens. **Brazilian Journal of Development**, v. 6, n. 6, p. 37292-37308, 2020.

RAFAEL, J. V. **A poluição do solo e o papel dos basidiomicetos no processo de biorremediação**. 2018. Monografia (Conclusão de curso) - Curso de Graduação em Ciências Biológicas, Universidade Federal de Santa Catarina, Araranguá, 2018.

RIZZO, A. C. L. *et al.* **Biorremediação de solos contaminados por petróleo: ênfase no uso de biorreatores**. Rio de Janeiro: CETEM/MCT, 2007. Disponível em: <http://mineralis.cetem.gov.br/bitstream/cetem/332/1/sta-37.pdf> . Acesso em: 03 jun. 2020.

ROBB, J; MOYER, E. Natural attenuation of benzene and MTBE at four midwestern retail gasoline marketing outlets. **Contam. Soil Sed. Water, Spring**, p.67-71, 2001.

RÓDIO, G. R.; ROSSET, I. G.; BRANDALIZE, A. P. C. Exposição a agrotóxicos e suas consequências para a saúde humana. **Research, Society and Development**, v. 10, n. 8, p. e43010817526-e43010817526, 2021.

RODRIGUES, A. C. F. **Estudo de variações bioquímicas e morfológicas induzidas por pesticidas orgnofosforado e carbamato em tilápia (*Oreochromis niloticus*) e cascudo (*Pterygoplichthys anisitsi*), como biomarcadores de contaminação ambiental**. Dissertação de Mestrado (Programa de Pós Graduação em Biologia Animal do Instituto de Biociências, Letras e Ciências Exatas) – Universidade Estadual Paulista Júlio deMesquita Filho, São José do Rio Preto, 2009.

ROQUE, V. Métricas da Informação: O Fator de Impacto na Prática. **Egitania Scientia**, n. 10, p. 177, 2012.

ROUSIS, N. I. *et al.* Wastewater-based epidemiology as a novel tool to evaluate human exposure to pesticides: Triazines and organophosphates as case studies. **Science of The Total Environment**, p. 148618, 2021.

SALAM, J. A. *et al.* Biodegradation of lindane using a novel yeast strain, *Rhodotorula* sp. VITJzN03 isolated from agricultural soil. **World Journal of Microbiology and Biotechnology**, v. 29, n. 3, p. 475-487, 2013. (b)

SALAM, J. A.; DAS, N. Degradation of lindane by a novel embedded bio-nano hybrid system in aqueous environment. **Applied microbiology and biotechnology**, v. 99, n. 5, p. 2351-2360, 2014. (b)

SALAM, J. A.; DAS, N. Enhanced biodegradation of lindane using oil-in-water bio-microemulsion stabilized by biosurfactant produced by a new yeast strain, *Pseudozyma* VITJzN01. **Journal of microbiology and biotechnology**, v. 23, n. 11, p. 1598-1609, 2013. (a)

SALAM, J. A.; DAS, N. Induced biosurfactant production and degradation of lindane by soil basidiomycetes yeast, *Rhodotorula* sp. VITJzN03. **Research Journal of Pharmaceutical, Biological and Chemical Sciences**, v. 4, n. 4, p. 664-670, 2013.

SALAM, J. A.; DAS, N. Lindane degradation by *Candida* VITJzN04, a newly isolated yeast strain from contaminated soil: kinetic study, enzyme analysis and biodegradation pathway. **World Journal of Microbiology and Biotechnology**, v. 30, n. 4, p. 1301-1313, 2014. (a)

SALAM, J. A.; HATHA, M. A. A.; DAS, N. Microbial-enhanced lindane removal by sugarcane (*Saccharum officinarum*) in doped soil-applications in phytoremediation and bioaugmentation. **Journal of environmental management**, v. 193, p. 394-399, 2017.

SANTOS, A. V. Considerações linguísticas sobre as propostas de substituição do termo agrotóxico na legislação brasileira. **Panace**, v. 21, n. 52, p. 107-118, 2020.

SAEZ, J. M. *et al.* Effect of the acclimation of a *Streptomyces* consortium on lindane biodegradation by free and immobilized cells. **Process Biochemistry**, v. 50, n. 11, p. 1923-1933, 2015.

SARLAK, Z. *et al.* Bioremediation of organophosphorus pesticides in contaminated foodstuffs using probiotics. **Food Control**, p. 108006, 2021.

SARKER, A. *et al.* Remediation of chemical pesticides from contaminated sites through potential microorganisms and their functional enzymes: prospects and challenges. **Environmental Technology & Innovation**, p. 101777, 2021.

SCHÜNEMANN, B. L. B.; PALACIO, M.; CARMO, N. R. O desconhecido reino dos fungos. In: ARAÚJO, L. A.L.; VIEIRA, G. C. **Ensino de biologia**. v. 2, Porto Alegre: Instituto de Biociências da UFRGS, 2021. 37p.

SENE, L. *et al.* New aspects on atrazine biodegradation. **Brazilian Archives of Biology and Technology**, v. 53, n. 2, p. 487-496, 2010.

SHARMA, D.; SINGH, S. B. Persistence of bifenthrin in sandy loam soil as affected by microbial community. **Bulletin of environmental contamination and toxicology**, v. 88, n. 6, p. 906-908, 2012.

SHE, Z. *et al.* Study on the aerobic biodegradability and degradation kinetics of 3-NP; 2, 4-DNP and 2, 6-DNP. **Journal of hazardous materials**, v. 241, p. 478-485, 2012.

SHUAI, J. *et al.* Regional analysis of potential polychlorinated biphenyl degrading bacterial strains from China. **brazilian journal of microbiology**, v. 47, p. 536-541, 2016.

SIDDIQUI, M. R.; ALOTHMAN, Z. A.; RAHMAN, N. Analytical techniques in pharmaceutical analysis: A review. **Arabian Journal of chemistry**, v. 10, p. S1409-S1421, 2017.

SIDRIM, J. J. C.; ROCHA, M. F. G. **Micologia médica à luz de autores contemporâneos**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2004.408p.

SILVA, J. C. C. **Desenvolvimento de metodologia analítica para determinação de microcistina-LR e agrotóxicos em águas superficiais, utilizando as técnicas de cromatografia líquida e cromatografia gasosa acopladas a espectrometria de massas**. 2010. Dissertação (Mestrado em Engenharia Ambiental) - Programa de Pós-Graduação em Engenharia Ambiental, Universidade Federal de Ouro Preto, Ouro Preto, 2010.

SILVA, R. R.; COELHO, G. D. **Fungos: Principais grupos e aplicações biotecnológicas**. Instituto de Botânica, Curso de capacitação de monitores e educadores. São Paulo: Instituto de Botânica, 2006. 20p. Disponível em: <https://bit.ly/2FaZpsQ>. Acesso em: 15 jun. 2020.

SILVA, V. P. A. **Avaliação da mobilidade do clorpirifós em solos de região de intensa atividade agrícola-Baixo Jaguaribe-CE**. 144 f. Tese de doutorado (Programa de Pós-graduação em Engenharia Civil) – Centro de Ciências, Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 2019.

SILVA, L. L. M.; GARRIDO, R. G. Organofosforados e organoclorados: toxicologia médica e reflexos ambientais. **Research, Society and Development**, v. 10, n. 10, p. e313101018853, 2021.

SINHA, A. *et al.* Degradation of reactive green dye and textile effluent by *Candida* sp. VITJASS isolated from wetland paddy rhizosphere soil. **Journal of environmental chemical engineering**, v. 6, n. 4, p. 5150-5159, 2018.

SISTEMA NACIONAL DE INFORMAÇÕES TÓXICO-FARMACOLÓGICAS. **Casos registrados de intoxicação humana**. 2020. Disponível em: <https://sinitox.icict.fiocruz.br/dados-nacionais>. Acesso em: 28 de jun. 2020.

SLÁVIKOVÁ, E.; VADKERTIOVÁ, R. Effects of Pesticides on Yeasts Isolated from Agricultural Soil. **Zeitschrift für Naturforschung C**, v. 58,n. 11-12, p. 855-859, 2003.

SOGORB, M. A.; VILANOVA, E.; CARRERA, V. Future applications of phosphotriesterases in the prophylaxis and treatment of organophosphorus insecticide and nerve agent poisonings. **Toxicology letters**, v. 151, n. 1, p. 219-233,2004.

SOUSA, K. C.; SANTOS JÚNIOR, J. E.; SANTOS, V. M. L. Estudo Prospectivo sobre o Uso da Técnica de Biorremediação para a Recuperação de Solos Contaminados por Derivados do Petróleo. **Cadernos de Prospecção**, v. 13, n. 3, p. 795, 2020.

SOUSA, S. F.; SILVA, R. M.; CARNEIRO, E. F. S. Caracterização físico-química e toxicidade de frutos de mariapretinha (*solanum americanum*). In: CONGRESSO INTERNACIONAL DA AGROINDÚSTRIA. 2. 2021, Recife. **Anais eletrônicos...**Recife:Instituto Internacional Despertando Vocações, 2021. Disponível em: <<https://ciagro.institutoidv.org/ciagro2021/uploads/945.pdf>>. Acesso em: 20 ago. 2021.

TEIXEIRA, L. M. *et al.* Utilização de gordura animal como substrato na produção de biossurfactante por *serratia masecens* UCP 1549 com potencial de aplicação na área ambiental. **Brazilian Journal of Development**, v. 6, n. 8, p. 54790-54801, 2020.

THAPA, B.; KC, A. K.; GHIMIRE, A. A review on bioremediation of petroleum hydrocarbon contaminants in soil. **Kathmandu university journal of science, engineering and technology**, v. 8, n. 1, p. 164-170, 2012.

VADKERTIOVÁ, R.; SLÁVIKOVÁ, E. Influence of Pesticides on Yeasts Colonizing Leaves. **Zeitschrift für Naturforschung C**, v. 66, n. 11-12, p. 588-594, 2011.

VELHO, V. F. *et al.* Compostagem da fração orgânica de resíduos alimentares através de dois métodos de aeração natural para a produção de um composto orgânico. **Brazilian Journal of Development**, v. 7, n. 3, p. 22323-22329, 2021.

VIJAYALAKSHMI, P.; USHA, M. S.Optimization of chlorpyrifos degradation by *Pseudomonas putida*. **Journal of Chemical and Pharmaceutical Research**, v. 4, n. 5, p. 2532-2539, 2012.

WANG, X.*et al.* Genetic surface-display of methyl parathion hydrolase on *Yarrowia lipolytica* for removal of methyl parathion in water. **Biodegradation**, v. 23, n. 5, p. 763-774, 2012.

WEBER, B. D.; SANTOS, A. A. Utilização da biorremediação como ferramenta para o controle da degradação ambiental causada pelo petróleo e seus derivados. **Engenharia Ambiental (Online)-Espírito Santo do Pinhal**, v. 10, n. 1, p. 114-133, 2013.

WOŁEJKO, E. *et al.* Soil biological activity as an indicator of soil pollution with pesticides—A review. **Applied Soil Ecology**, v. 147, p. 103356, 2020.

PAIDI, M. K. *et al.* Mitigation of organophosphorus insecticides from environment: Residual detoxification by bioweapon catalytic scavengers. **Environmental Research**, p. 111368, 2021.

PARREIRA, D. F.; EVES, W. S.; ZAMBOLIM, L. Resistência de Fungos a Fungicidas Inibidores de Quinona. **Revista Trópica – Ciências Agrárias e Biológicas**, v. 3, n. 2, p. 24, 2009.

WU, M. *et al.* Effect of bioaugmentation and biostimulation on hydrocarbon degradation and microbial community composition in petroleum-contaminated loessal soil. **Chemosphere**, v. 237, p. 124456, 2019.

WU, X. *et al.* Efficient removal of atrazine from aqueous solutions using magnetic *Saccharomyces cerevisiae* bionanomaterial. **Applied microbiology and biotechnology**, v. 102, n. 17, p. 7597-7610, 2018.

XU, G. *et al.* Mineralization of chlorpyrifos by co-culture of *Serratia* and *Trichosporon* spp. **Biotechnology letters**, v. 29, n. 10, p. 1469-1473, 2007.

YADAV, I. C. *et al.* Current status of persistent organic pesticides residues in air, water, and soil, and their possible effect on neighboring countries: A comprehensive review of India. **Science of the Total Environment**, v. 511, p. 123-137, 2015.

YANG, C.; LIM, W.; SONG, G. Immunotoxicological effects of insecticides in exposed fishes. **Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Toxicology & Pharmacology**, p. 109064, 2021.

YILMAZ, B.; AKBA, V.; CAVUS, M. Development and Validation of GC-MS Method for Cocaine in Human Urine. **J Chromatogr Sep Technol**. 2017; v.1, n.1, p. 114, 2017.

YURKOV, A.M.; KEMLER, M.; BEGEROW, D. Assessment of yeast diversity in soils under different management regimes. **Fungal Ecology**, v. 5, n.1, p. 24-35, 2012.

YURKOV, A. M. Yeasts of the soil—obscure but precious. **Yeast**, v. 35, n. 5, p. 369-378, 2018.

ZAHARIA, M. *et al.* Biodegradation of pesticides DINOCAP and DNOC by yeast suspensions in a batch system. **Rev Chim (Bucharest)**, v. 64, p. 388-392, 2013. (b)

ZAHARIA, M. *et al.* Yeast biodegradation of some pesticide dinitrophenols. **Romanian Biotechnological Letters**, v. 18, n. 2, p. 8144-8151, 2013. (a)

ZHANG, C.; QI, J.; CAO, Y. Synergistic effect of yeast-bacterial co-culture on bioremediation of oil-contaminated soil. **Bioremediation journal**, v. 18, n. 2, p. 136-146, 2014.

ZHANG, H. *et al.* Bioremediation of co-contaminated soil with heavy metals and pesticides: influence factors, mechanisms and evaluation methods. **Chemical Engineering Journal**, v.

398, p. 125657, 2020.

ZHANG, Q. *et al.* Simultaneous biodegradation of bifenthrin and chlorpyrifos by *Pseudomonas* sp. CB2. **Journal of Environmental Science and Health, Part B**, v. 53, n. 5, p. 304-312, 2018.

ZHOU, X.; LIU, H.; ZHAO, X. The potencies of three microorganisms to dissipate four organophosphorus pesticides in three food materials during traditional fermentation. **Journal of Food Science and Technology**, v. 52, n. 11, p. 7353-7360, 2015.

ZHU, C. *et al.* Preparation, performances and mechanisms of magnetic *Saccharomyces cerevisiae* bionanocomposites for atrazine removal. **Chemosphere**, v. 200, p. 380-387, 2018.