



UNIVERSIDADE ESTADUAL DA REGIÃO TOCANTINA DO MARANHÃO  
CURSO DE PÓS-GRADUAÇÃO *LATO SENSU* EM CIÊNCIAS AMBIENTAIS

GABRIELLA SILVA SOUSA

**PROSPECÇÃO DE BACTÉRIAS RIZOSFERICAS PRODUTORAS DE  
BIOSURFACTANTES DE SOLO CONTAMINADO COM GLIFOSATO**

IMPERATRIZ  
2023

GABRIELLA SILVA SOUSA

**PROSPECÇÃO DE BACTÉRIAS RIZOSFERICAS PRODUTORAS DE  
BIOSURFACTANTES DE SOLO CONTAMINADO COM GLIFOSATO**

Trabalho de conclusão de curso apresentada ao curso de Pós-graduação *Lato Sensu* em Ciências Ambientais da Universidade Estadual da Região Tocantina do Maranhão - UEMASUL, como requisito para obtenção do grau de Especialista em Ciências Ambientais.

Orientador: Prof. DSc. José Fábio França Orlanda

S725p

Sousa, Gabriella Silva

Prospecção de bactérias rizosféricas produtoras de biossurfactantes de solo contaminado com glifosato / Gabriella Silva Sousa – Imperatriz, MA, 2024.

31 f. il.

Trabalho de conclusão de curso (Especialização em Ciências Ambientais) – Universidade Estadual da Região Tocantina do Maranhão – UEMASUL, Imperatriz, MA, 2024.

1. Bactérias. 2. Solo. 3. Agrotóxicos. I. Título.

CDU 573

**CRB- MA 13/729**

## RESUMO

Os agrotóxicos podem ser nomeados de diversas formas, atualmente vem se utilizando principalmente a nomenclatura de defensivos agrícolas, para referenciar a um produto apenas benéfico. Com o crescimento populacional e o aumento na demanda de alimento, os biocidas passaram a ser cada vez mais presente nas lavouras, porém seu uso frequente e indiscriminado, causa desequilíbrio no solo, ar e água. Os biocidas a base de glifosato (N-(fosfometil)glicina), são herbicidas organofosforado não seletivo de uso pós-emergente e amplo espectro, por essas características é um dos ingredientes ativos mais vendidos no mundo. Porém, tantos benefícios em longo prazo resulta na mudança do ciclo biogeoquímico, afetando principalmente a microbiota do solo e organismo não alvo. Por isso, viu-se a importância de selecionar bactérias capazes de produzir biossurfactante na presença de glifosato. Serão coletadas amostras de solos contaminados com glifosato dos municípios de Balsas, Carolina e Imperatriz-MA, posteriormente peneiradas, armazenadas (a 4°C) e analisadas no laboratório de Biotecnologia Ambiental, localizada na Universidade Estadual da Região Tocantina do Maranhão. As amostras serão inoculadas e passadas pelo processo de cultura (mista e pura) com meio PCA, para selecionar linhagens bacterianas capazes de produzir biossurfactante será realizado o testes de atividade hemolítica. Em seguida as mesmas serão inoculadas em meio base com o mínimo de nutrientes e 1% de glifosato provocando o estado “stress” para gerar sua ação surfactante. Os biossurfactantes serão selecionados pelos seus valores de índice de emulsificação, colapso de gota e concentração micelar crítica. Para classificação serão produzidas lâminas das colônias selecionadas utilizando o método de coloração de Gram e observadas em microscópio óptico.

**Palavras-chave:** Bactérias; Biossurfactantes; Glifosato; Solo;

## ABSTRACT

Pesticides can be named in different ways, currently mainly the nomenclature of agricultural pesticides is being used, to refer to only a beneficial product. With population growth and the increase in food demand, biocides have become increasingly present in crops, but their frequent and indiscriminate use causes imbalance in the soil, air and water. Glyphosate-based biocides (N-(phosphonomethyl)glycine), are a non-selective organophosphate herbicide with broad spectrum post-emergence use, due to these characteristics, it is one of the most sold active ingredients in the world. However, so many long-term benefits result in a change in the biogeochemical cycle, mainly affecting the soil's microbiota and non-target organism. Therefore, the importance of selecting bacteria capable of producing biosurfactant in the presence of glyphosate was seen. Samples of soils contaminated with glyphosate were collected from the municipalities of Balsas, Carolina and Imperatriz - MA, subsequently sieved, stored (at 4°C) and analyzed in the Environmental Biotechnology laboratory, located at the State University of the Tocantina do Maranhão region. The samples will be inoculated and passed through the culture process (mixed and pure) with PCA medium, to select bacterial strains capable of producing biosurfactant, the hemolytic activity tests were performed. Then, they will be inoculated in a base medium with minimal nutrients and 1% glyphosate, causing the "stress" state to generate its surfactant action. Biosurfactants will be selected by their emulsification index and drop collapse values and critical micelle concentration. For classification, slides of selected colonies will be produced using the Gram stain method and observed under an optical microscope.

**Key words:**Bacteria; Biosurfactants; Glyphosate; Ground;

## LISTA DE FIGURAS

|  |    |
|--|----|
| Figura 01 - Formula estrutural do glifosato .....                          | 14 |
| Figura 02 - Esquema dos mecanismos envolvidos na sorção do glifosato ..... | 15 |

## **LISTA DE TABELAS**

|   |    |
|---|----|
| Tabela 01 -Classificação toxicológica dos agrotóxicos .....     | 12 |
| Tabela 02 - Classificação ecotoxicológica dos agrotóxicos ..... | 13 |

## **LISTA DE SIGLAS**

AMPA - ácido aminometilfosfônico

ANVISA - Agência Nacional de Vigilância Sanitária

CCENT - Centro de Ciências Exatas, Naturais e Tecnológicas

IBAMA - Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e dos Recursos Naturais Renováveis

IE24 - índices de emulsificação

INCA - Instituto Nacional de Câncer

LABITEC - Laboratório de Biotecnologia Ambiental

LIA - ágar lisina ferro

MAPA - Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento

PCA - ágar padrão para contagem

TSIA - ágar três açúcar e ferro

UEMASUL - Universidade Estadual da Região Tocantina do Maranhão

VM - vermelho de metila

VP - Voges-Proskauer

## SUMÁRIO

|  |           |
|--|-----------|
| 1 INTRODUÇÃO.....  | 9         |
| 2 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA .....  | 11        |
| <b>2.1 Agrotóxicos.....</b>  | <b>11</b> |
| <b>2.2 Herbicidas .....</b>  | <b>13</b> |
| <b>2.3 Glifosato.....</b>  | <b>13</b> |
| <b>4.4 Biorremediação.....</b>   | <b>16</b> |
| 3 OBJETIVOS.....   | 19        |
| <b>3.1</b> Objetivo geral .....  | <b>19</b> |
| <b>3.2</b> Objetivos específicos .....   | <b>19</b> |
| 4 METODOLOGIA.....   | 20        |
| <b>4.1</b> Herbicida .....   | <b>20</b> |
| <b>4.2</b> Isolamento e caracterização das bactérias produtoras de biossurfactantes..... | <b>20</b> |
| <b>4.3</b> Manutenção das bactérias produtoras .....                                     | <b>20</b> |
| <b>4.4</b> Identificação das bactérias.....  | <b>20</b> |
| <b>4.5</b> Produção dos biossurfactantes .....   | <b>21</b> |
| 4.5.1 Microrganismos .....   | 21        |
| 4.5.2 Meio base.....   | 21        |
| 4.5.3 Meio de produção .....   | 21        |
| <b>4.6</b> Determinação da presença de biossurfactantes.....                             | <b>21</b> |
| 4.6.1 Teste do colapso da gota.....  | 22        |
| 4.6.2 Índice de emulsificação .....  | 22        |
| 4.6.3 Determinação da atividade emulsificante.....                                       | 22        |
| 4.6.4 Concentração Micelar Crítica (CMC) .....   | 22        |
| 5 REFERÊNCIAS .....  | 23        |

## 1 INTRODUÇÃO

Segundo a Agência Nacional de Vigilância Sanitária – ANVISA (2010), os defensivos agrícolas podem ser definidos como quaisquer produtos de origem biológica, física ou química que têm a função de eliminar pragas ou doenças que prejudiquem as culturas agrícolas.

Os agrotóxicos, são utilizados desde a antiguidade, começou sendo utilizado de forma empírica através do método de tentativa e erro. Por falta de conhecimento científico foi por várias vezes confundido, a sua verdadeira eficácia com o ciclo de vida da praga. Com o crescimento populacional o homem viu-se com a responsabilidade de aumentar a demanda agrícola, buscando assim aperfeiçoar os métodos utilizados para controle de interferentes na produção (CARVALHO; CARVALHO; CASTRO, 2022).

Com o desenvolvimento acelerado da agricultura, tem aumentado à necessidade do uso de herbicidas. No final do século XX, os herbicidas formulados a base de glifosato (N-(fosfometil)glicina) ganharam mais expressão e importância, em virtude do crescimento na área semeada com culturas geneticamente modificadas. Além disso, por se tratar de um herbicida sistêmico e de amplo espectro de ação, podendo ser aplicado em baixos volumes de calda comparado à herbicidas convencionais (RODRIGUES; ALMEIDA, 2005). No entanto, as pessoas ao terem contato com esses produtos de forma direta, podem ser intoxicadas, especialmente os aplicadores e manipuladores (SANTOS, 2010).

O solo é um sistema aberto e de grande complexidade, constituído por minerais, matéria orgânica, microrganismos, água e ar, sendo que a variação de um desses componentes pode provocar alterações nos demais (TONI et al., 2006). Dentre os principais impactos ao meio ambientes ocasionados pelo uso de agrotóxicos, destacam-se a contaminação de solos e recursos hídricos; redução de espécies “não-alvos”, como animais domésticos, populações de peixes, pássaros, anfíbios, insetos, que são comprometidas pela ingestão de plantas contaminadas, ou têm seus habitats restritos a áreas que possuem águas e solos também afetados (GASPARINI, 2012; CASTREJÓN-GODÍNEZ, et al., 2021).

Com a biorremediação, diferentes seres vivos podem ser utilizados na expectativa de metabolizar determinado contaminante, nesse caso o glifosato, visando sua eliminação do ambiente ou transformação em compostos menos tóxicos (ADAMS et al., 2015). A completa biodegradação ou mineralização envolve a oxidação dos compostos intermediários, que podem ser mais ou menos tóxicos que o composto inicial, em moléculas mais simples como água, CO<sub>2</sub>, entre outras (SPADOTTO et al., 2004).

A biodegradação de agrotóxicos torna-se mais eficiente com a presença de biossurfactantes bacterianos, os quais podem acelerar a biorremediação de solos e águas contaminadas através da diminuição da tensão superficial óleo – água, aumentando a solubilidade e assim a mobilidade de compostos hidrofóbicos, tais como os poluentes orgânicos (TANGO; ISLAM, 2002).

Em vista que, as comunidades microbianas ambientais apresentam uma grande diversidade de espécies e vias metabólicas adaptadas a diferentes nichos ecológicos representando, dessa forma, uma rica fonte de novas biotecnologias (OBERHARDT et al., 2015).

Com isso, o trabalho de conclusão de curso visa realizar isolamento e seleção de bactérias produtoras de biossurfactantes de solo contaminado com glifosato.

## **2 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA**

### **2.1 Agrotóxicos**





Os agrotóxicos, defensivos agrícolas, pesticidas, praguicidas, remédios de planta ou veneno: são inúmeras as denominações relacionadas a um grupo de substâncias químicas utilizadas no controle de pragas e doenças de plantas (PERES; MOREIRA, 2003).

De acordo com o INCA (2021), os agrotóxicos são substâncias químicas sintéticas utilizadas para eliminar insetos, larvas, fungos, carrapatos e outras pragas, com o objetivo de controlar as doenças transmitidas por esses vetores e regular o crescimento da vegetação em ambientes tanto rurais quanto urbanos.

No Brasil, o registro, classificação e controle dos agrotóxicos é realizado por três órgãos federais que trabalham em conjunto. O Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e dos Recursos Naturais Renováveis - IBAMA é responsável pela avaliação dos impactos dessas substâncias no ambiente e nos seres vivos. A Agência Nacional de Vigilância Sanitária - ANVISA estabelece os parâmetros toxicológicos dos ingredientes ativos e a classificação toxicológica dos produtos formulados. Por fim, o Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento - MAPA avalia a eficiência agronômica dos agrotóxicos e aprova seus rótulos. As atribuições de cada órgão são definidas pelo Decreto nº 4.074, de 04 de janeiro de 2002 (BRASIL, 2002).

Na Tabela 01 temos a classificação dos agrotóxicos pela ANVISA, conforme sua toxicidade e efeitos agudos.

Tabela 01 – Classificação toxicológica dos agrotóxicos.

|                               | <b>CATEGORIA 1</b>  | <b>CATEGORIA 2</b>  | <b>CATEGORIA 3</b>  | <b>CATEGORIA 4</b>   | <b>CATEGORIA 5</b>                      | <b>NÃO CLASSIFICADO</b>        |
|-------------------------------|---|---|---|--|---|--------------------------------|
| <b>Pictograma</b>             | Extremamente tóxico   | Altamente tóxico  | Moderadamente tóxico  | Pouco tóxico   | Improvável causar dano agudo            | Não classificado               |
| <b>Palavra de Advertência</b> | <br>Perigo | <br>Perigo | <br>Perigo | <br>Cuidado | Sem símbolo<br>Cuidado                  | Sem símbolo<br>Sem advertência |
| <b>CLASSE DE PERIGO</b>       |   |   |   |  |   |                                |
| <b>Oral</b>                   | Fatal se ingerido   | Fatal se ingerido   | Tóxico se ingerido  | Nocivo se ingerido   | Pode ser perigoso se ingerido           | -                              |
| <b>Dérmica</b>                | Fatal em contato com a pele   | Fatal em contato com a pele   | Tóxico em contato com a pele  | Nocivo em contato com a pele   | Pode ser perigoso em contato com a pele | -                              |
| <b>Inalatória</b>             | Fatal se inalado  | Fatal se inalado  | Tóxico se inalado   | Nocivo se inalado  | Pode ser perigoso se inalado            | -                              |
| <b>Cor da faixa</b>           | <b>VERMELHO</b>   | <b>VERMELHO</b>   | <b>AMARELO</b>  | <b>AZUL</b>  | <b>AZUL</b>                             | <b>VERDE</b>                   |

Fonte: Instituto Nacional de Câncer José Alencar Gomes da Silva, 2019.

Classificado de I a IV pelo IBAMA (2021), conforme sua periculosidade ambiental, baseado em estudos físico-químicos e ecotoxicológicos pré-definidos, são mostrados na Tabela 02.

Tabela 02 - Classificação ecotoxicológica dos agrotóxicos.

| Classes    | Periculosidade Ambiental                           |
|------------|--|
| <b>I</b>   | <b>Produto ALTAMENTE PERIGOSO ao meio ambiente</b> |
| <b>II</b>  | <b>Produto MUITO PERIGOSO ao meio ambiente</b>     |
| <b>III</b> | <b>Produto PERIGOSO ao meio ambiente</b>           |
| <b>IV</b>  | <b>Produto POUCO PERIGOSO ao meio ambiente</b>     |
| <b>I</b>   | <b>Produto ALTAMENTE PERIGOSO ao meio ambiente</b> |

Fonte: IBAMA, 2021.

São classificados em diferentes grupos de acordo com seu organismo alvo e grupo químico, tais como inseticidas, fungicidas, herbicidas, raticidas, acaricidas, nematocidas, fumigantes, etc (KARAM et al., 2015).

## 2.2 Herbicidas

Os herbicidas são um tipo de agrotóxico comumente utilizado para eliminar ervas daninhas sem afetar as plantas desejáveis. Eles também são usados para eliminar plantas indesejáveis nas margens de estradas e ferrovias, bem como para marcar as linhas de trilhas e, às vezes, desfolhar regiões inteiras (BAIRD, 2002).

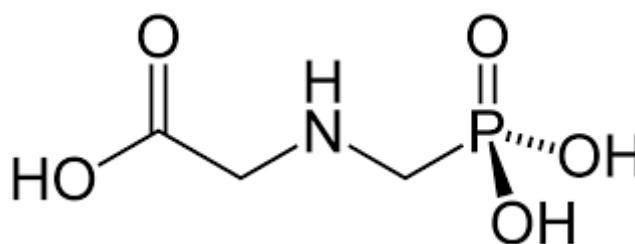
São classificadas como plantas daninhas aquelas que nascem espontaneamente e prejudicam a cultura de alguma espécie vegetal ali presente. Outra definição, porém, mais ampla de planta daninha seria toda planta indesejada, seguindo essa definição qualquer planta é daninha quando esta é indesejada, assim, por exemplo, uma planta de algodão é considerada daninha em um plantio de mamona (RICHETTI, 2000).

## 2.3 Glifosato

O glifosato tem fórmula molecular  $C_3H_8NO_5P$  (m.m. = 169,1 g mol<sup>-1</sup>) e, na forma de sal de isopropilamônio, apresenta-se acrescido do grupo  $(CH_3)_2CHNH^+$

(m.m. = 228,2 g mol<sup>-1</sup>), como mostra a Figura 01. Em condições ambientais, tanto glifosato quanto seus sais são sólidos cristalinos, muito solúveis em água (12 gL<sup>-1</sup> a 25 °C, para glifosato) e quase insolúveis em solventes orgânicos comuns, tais como acetona e etanol, entre outros. Glifosato funde a 200 °C, possui densidade aparente de 0,5 g/cm<sup>3</sup> e se apresenta bastante estável em presença de luz, inclusive em temperaturas superiores a 60 °C. Os valores de pK encontrados na literatura para o glifosato são: pK1 = 0,8; pK2 = 2,16; pK3 = 5,46; pK4 = 10,14. Tais constantes de dissociação indicam o grau de dissociação do herbicida em função do pH (AMARANTE JUNIOR et al., 2002).

Figura 01 - Fórmula estrutural do glifosato.



Fonte: MERCK (2021).

O glifosato, é indicado no controle de ervas daninhas anuais e perenes, monocotiledôneas ou dicotiledôneas, em culturas de arroz irrigado, cana-de-açúcar, café, citros, maçã, milho, pastagens, soja (plantio direto ou indireto), fumo, uva e soqueira em cana-de-açúcar. É indicado, ainda, para as culturas de ameixa, banana, cacau, nectarina, pêra, pêssego, seringueira e plantio direto do algodão (AMARANTE JUNIOR et al., 2002).

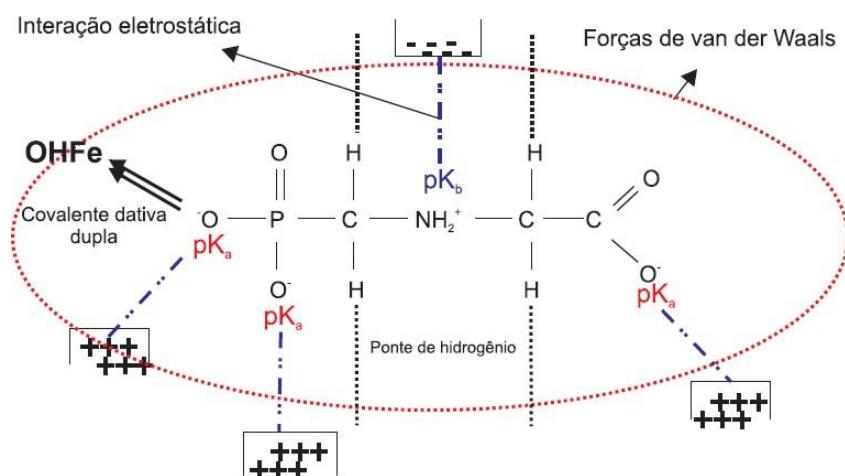
É classificado como uma glicina substituída e também como um herbicida organofosforado, sem, no entanto, afetar o sistema nervoso da mesma maneira que outros organofosforados (em geral inseticidas inibidores da enzima acetilcolinesterase) e, apesar de ser citado como pouco tóxico, há evidência de efeitos deletérios no ambiente após seu uso prolongado, principalmente devido à resistência adquirida por algumas espécies de ervas (NORTOX, 2021). É um herbicida potente de pós-emergência, largo espectro, não seletivo, capaz de controlar efetivamente 76 das 78 plantas invasoras mais agressivas (GRUYS; SIKORSKI, 1999).

De acordo com sua ficha técnica disponibilizada pela ANVISA(2021) e pelo IBAMA(2021), é um herbicida medianamente tóxico (classe III) e perigoso ao meio ambiente (classe III). No solo o glifosato pode ser adsorvido, dessorvido e

degradado, com meia-vida de dissipação entre 14,5 e 25,8 dias e meia-vida de mineralização entre 252,6 e 282,1 dias em Latossolo Vermelho distroférico (YAMADA; CASTRO, 2007).

De acordo com Prata e Lavorenti (2002), a sorção do glifosato no solo ocorre por meio de forças de van der Waals, formação de pontes de hidrogênio com substâncias húmicas, troca iônica (devido à carga positiva e negativa do glifosato) e formação de ligações covalentes com átomos metálicos presentes nos óxidos do solo. Eles destacam que o último mecanismo é o mais importante em solos oxidicos, resultando na formação de resíduos-ligados do glifosato no solo (Figura 02).

Figura 02 - Esquema dos mecanismos envolvidos na sorção do glifosato.



Fonte: PRATA e LAVORENTI (2002).

O ácido aminometilfosfônico (AMPA) e os produtos da biodegradação do glifosato em sistemas naturais antes da mineralização final e a quebra do produto em complexos fosfonados. Alguns trabalhos mostram que a toxicidade do AMPA é igual ou superior ao próprio princípio ativo do glifosato (BARJA; AFONSO, 2005). O metabolismo do glifosato pelos microrganismos é a maior rota de degradação no solo, ocorrendo tanto em condições aeróbicas e anaeróbicas no perfil do solo (VEIGA et al., 2001).

A empresa Monsanto é responsável pela produção do Roundup, marca cujo principal ingrediente ativo é o glifosato, agrotóxico mais vendidos no Brasil (BOMBARDI, 2017). Foi reavaliado pela ANVISA durante os anos de 2008 a 2019, quando a instituição decidiu pela liberação do biocida, pois não apresenta características

mutagênicas, teratogênicas e carcinogênicas, não ser desregulador endócrino e nem tóxico para a reprodução (BROCHARDT, 2020).

A aplicação indiscriminada e abusiva de agroquímicos (herbicidas, inseticidas e fungicidas) é uma poderosa fonte de poluição que pode causar um desequilíbrio em todo o ecossistema, afetando a biodiversidade do solo, do ar e dos recursos hídricos, além do risco toxicológico para a população humana em geral (MESQUITA, 2004).

Os efeitos da atividade residual pelo uso repetido por longo período (9-13 anos) do herbicida glifosato no solo, Busse *et al.* (2001) verificaram mudanças significativas no crescimento e na composição da vegetação espontânea em plantações de pinus, assim como para microorganismos do solo (bactérias e fungos). A presença do herbicida nos solos florestais pode favorecer a microbiota, que consegue degradar o glifosato ou AMPA e, por outro lado, suprimir outros microorganismos, inclusive os benéficos, alterando assim o equilíbrio da microfauna desses ambientes (SANTOS *et al.*, 2005).

Rodrigues (2003) reforça que, o solo pode perder várias das suas funções quando expostos aos compostos químicos, afetando os componentes bióticos de todo o ecossistema, comprometendo sua funcionalidade, sustentabilidade e interferindo na dinâmica de inúmeros seres vivos, incluindo o homem. A maioria dos impactos causados no solo é de difícil reversão, assim como os danos causados ao meio ambiente.

Diversos são os processos de tratamento desenvolvidos para reduzir a concentração de herbicidas no ambiente. As técnicas tradicionais como coagulação, absorção em carvão ativado, osmose reversa e outras podem ser utilizadas para remover esses contaminantes, porém esses métodos possuem um custo elevado para retirar contaminantes no pós-tratamento (ARANHA; RIBEIRO, 2016).

#### **4.4 Biorremediação**

A biorremediação é uma tecnologia amplamente utilizada para remediar solos contaminados, sendo uma opção que promove a destoxificação do local ou a remoção de elementos contaminantes do solo. Essa estratégia consiste em acelerar a biodegradação natural dos poluentes presentes no solo, utilizando processos ou atividades biológicas por meio de organismos vivos, como microorganismos e plantas. Esses organismos possuem a capacidade de modificar ou decompor determinados poluentes, transformando-os em substâncias inertes, o que torna a biorremediação uma alternativa eficiente e sustentável para a remediação de áreas contaminadas (JACQUES, 2010).

Pesquisadores como Fittipaldi e seus colaboradores (2013) vêm estudando a técnica da biorremediação com microrganismos como as bactérias, microalgas, fungos filamentosos e leveduras, onde vem sendo observado o grande desempenho na remoção de poluente em especial nos solos e nos recursos hídricos.

O procedimento para remediação e consequente recuperação dessas áreas é lento e está relacionado à capacidade de restabelecimento do solo, onde se recompõem as características químicas, físicas e biológicas a um nível mínimo, que permita o desenvolvimento de espécies vegetais e da atividade microbiana, tão importante para o estabelecimento e sucessão da microbiota (MENDES FILHO, 2010).

A biorremediação, refere-se à geração de energia por microrganismos a partir de reações de oxirredução (ADAMS et al., 2015). Tais processos podem ocorrer de maneira aeróbia ou anaeróbia (TEIXEIRA, 2007) e podem levar à completa mineralização do poluente, transformando-o em gás carbônico, água e biomassa (MARIANO, 2006). Embora diversos seres vivos possam ser empregados em tratamentos de biorremediação, as bactérias costumam ser o grupo mais estudado e utilizado (DÍAZ, 2004), destacando-se por apresentar velocidades metabólicas mais elevadas que os demais organismos (SELVAKUMAR et al., 2014).

Segundo Alves (2006), restaurar ecossistemas é o que se tem atribuído ao desafio de, por meio de interferências planejadas, reconstruírem a estrutura e criar condições para que se restabeçam os processos ecológicos naturais de cada ecossistema. A biodegradação de hidrocarbonetos é um componente importante dos processos biogeoquímicos e atuam diretamente na renovação da matéria orgânica no ciclo do carbono (HASSANSHAHIAN et al., 2014).

A biorremediação microbiológica, apresenta vantagens econômicas e ecológicas superiores às demais técnicas, dentre as quais destacam-se a possibilidade de sua realização no próprio local contaminado, a geração de poucos distúrbios no ambiente e, principalmente, o potencial para completa eliminação do contaminante (MELO; AZEVEDO, 2008).

A biodegradação de agrotóxicos, torna-se mais eficiente com a presença de biosurfactantes, os quais podem acelerar a biorremediação de solos e águas contaminadas através da diminuição da tensão superficial óleo – água, aumentando a solubilidade e assim a mobilidade de compostos hidrofóbicos, tais como os compostos orgânicos (TANGO; ISLAM, 2002).

A atividade biossurfactante, pode ser determinada através de mudanças nas tensões interfaciais e superficiais de alguns “sistemas”, ou interfaces, como, por exemplo, água/óleo e ar/água e essas mudanças podem ser medidas com auxílio de tensiômetro (DESAI; BANAT, 1997). Devido à sua estrutura anfifílica, as moléculas dos biossurfactantes tendem a se acumulam na interface entre duas substâncias imiscíveis e formar pequenas estruturas como micelas quando adicionados a esses sistemas e, deste modo, reduzem a tensão superficial, aumentam a solubilidade e biodisponibilidade dessas substâncias hidrofóbicas (AL-ARAJI et al., 2007; NG et al., 2022).

Existem vários tipos de biossurfactantes, cada um sendo produzido por um microrganismo específico. Algumas das classes bem estabelecidas são as de alto peso molecular e baixo peso molecular, que incluem algumas subclasses: os glicolipídeos; as lipoproteínas ou lipopeptídeos; fosfolipídeos, ácidos graxos ou lipídeos naturais; biossurfactantes poliméricos; e biossurfactantes particulados. O primeiro grupo inclui moléculas que podem eficientemente reduzir as tensões superficial e interfacial, enquanto que o último é composto por polímeros anfifílicos e polifílicos que usualmente apresentam maior eficiência para o estabelecimento de emulsões (óleo-água), mas não são tão eficientes na redução da tensão interfacial e superficial (VARJANI; UPASANI, 2017; BANAT et al., 2010; SATPUTE et al., 2010).

### **3 OBJETIVOS**

#### **3.1 Objetivo geral**

Realizar bioprospecção de bactérias de solos rizosféricas capazes de produzir biossurfactantes na presença de glifosato.

#### **3.2 Objetivos específicos**

- Isolar, selecionar e caracterizar bactérias produtores de biossurfactantes, a partir de amostras de solos contaminados pelo herbicida glifosato;
- Identificar as linhagens bacterianas produtoras de biossurfactantes;
- Avaliar a produção de biossurfactante dos isolados bacterianos através de análise qualitativa e quantitativa em meio com glifosato;

## **4 METODOLOGIA**

### **4.1 Herbicida**

A concentração de campo utilizada em condições laboratoriais do herbicida glifosato (N-(fosfonometil)glicina) será determinada através da consulta de Manual Técnico: *The Pesticide Manual* (WHOTING, 1991).

### **4.2 Isolamento e caracterização das bactérias produtoras de biossurfactantes**

As amostras de solos não contaminadas e contaminadas com glifosato serão coletadas no município de Balsas, Carolina e Imperatriz (MA), situados no Cerrado Meridional Maranhenses em diferentes locais escolhidos aleatoriamente. As coletas serão feitas na profundidade de 0 a 20 cm (horizonte A), retirando-se a cobertura vegetal, sendo amostras de áreas sem histórico de aplicação de glifosato e outra com histórico de aplicação em diferentes culturas. Após a coleta, os solos serão peneirados em peneira malha de 2 mm, acondicionados em sacos plásticos e mantidos à temperatura de 4 °C em geladeira até o momento das análises (SIX et al., 2000).

O isolamento de bactérias possíveis produtoras de biossurfactantes serão feitas por diluições decimais seriadas em solução salina (0,85%) até  $10^{-15}$  e plaqueadas em ágar padrão para contagem (PCA), seguido de incubação a 30 °C por 24 e 48 horas. As bactérias obtidas serão replaqueadas em ágar-sangue por 24 e 48 horas a 30 °C. A presença de halo de hemólise indica a produção de biossurfactantes.

### **4.3 Manutenção das bactérias produtoras**

As bactérias possíveis produtoras, ou seja, hemolíticas, serão semeadas em tubos inclinados de PCA durante 24 horas a 30 °C e depois serão mantidas sob refrigeração a 4 °C.

### **4.4 Identificação das bactérias**

Os gêneros bacterianos serão identificados através das características morfológicas microscópicas e macroscópicas, além de serem submetidos a testes

bioquímicos de atividade enzimática (amilase, protease, lecitinase, gelatinase, catalase, oxidase, urease), fermentação de açúcares (lactose, sacarose, frutose, maltose, manitol, glicose), fenilalanina, citrato, ágar lisina ferro (LIA), ágar três açúcar e ferro (TSIA), vermelho de metila (VM), Voges-Proskauer (VP), indol, motilidade, nitrato de acordo com Bergey's (1984).

## **4.5 Produção dos biossurfactantes**

### **4.5.1 Microrganismos**

Para a produção dos biossurfactantes microbianos serão utilizadas as bactérias previamente selecionadas e identificadas no item 4.3.

### **4.5.2 Meio base**

O meio base empregado para a fermentação será o proposto por Bicca, Fleck e Ayub (1999) acrescentado da fonte de carbono selecionada. O meio será composto de (g/L):  $MgSO_4 \cdot 7H_2O$  (0,5), KCl (0,1),  $KH_2PO_4$  (0,5),  $CaCl_2$  (0,01),  $K_2HPO_4$  (1,0),  $NaNO_3$  (7,0),  $FeSO_4 \cdot 7H_2O$  (0,01), extrato de levedura (0,1) e glifosato 1,0% (v/v)

### **4.5.3 Meio de produção**

Cada bactéria será inoculada em tubos de ensaio contendo 5mL de caldo nutriente e incubada por 24h. a 30 °C. Após a incubação, serão feitas a suspensão das células de cada tubo e submetida à leitura de densidade óptica a 620nm até 0,05 para padronização do inóculo sendo então transferida para frascos de Erlenmeyer de 250mL contendo 45mL de meio base seguido de incubação a 30 °C e 200 rpm. O caldo de fermentação será centrifugado a 13608g a 4 °C por 20 min. para separação das células.

## **4.6 Determinação da presença de biossurfactantes**

Os caldos fermentados livres de células serão submetidos à análise de tensão superficial, índice de emulsificação e teste do colapso da gota.

#### 4.6.1 Teste do colapso da gota

Após 20 dias de incubação das amostras será realizado o teste do colapso da gota. Para tal, 5,0mL de cada caldo com crescimento bacteriano será colocado em placas de Petri e posteriormente, adiciona-se 0,05ml de glifosato em diferentes concentrações. Os resultados da dispersão da gota de glifosato em cada uma das amostras serão comparados com o caldo sem crescimento bacteriano (controle negativo) e com o meio de cultura contendo 0,5mL de n-laurilsarcosinato de sódio 1ppm (controle positivo).

#### 4.6.2 Índice de emulsificação

Será determinado em tubos de ensaio com tampa de rosca pela adição de 2,0mL de tolueno a 3,5mL do sobrenadante, misturando em agitador de tubo por 2 min. e deixado em repouso por 24 horas. O índice será calculado como porcentagem da altura da camada emulsificada (cm) dividida pela altura total da coluna do líquido (cm) (BICCA; FLECK; AYUB, 1999). O índice (E %) será determinado de acordo com a equação:

$E \% = \text{altura da camada emulsionada (cm)} \times 100 / \text{altura total do líquido (cm)}$ .

Onde: E (%) = índice de emulsificação.

#### 4.6.3 Determinação da atividade emulsificante

A atividade emulsificante será determinada em tubos de ensaio com tampa de rosca misturando em agitador de tubo durante 2 min., 3,5mL da solução do biossurfactante com 2mL de tolueno e realizando-se a leitura da densidade óptica em espectrofotômetro a 610nm (KIM et al., 2000).

#### 4.6.4 Concentração Micelar Crítica (CMC)

A metodologia de análise de CMC será baseada no método proposto por Moraes e Rezende (2004), que consiste na utilização de alíquotas de 2 a 6,5mL do biossurfactante em sistemas de diluição com água destilada, solução tampão de fosfato de sódio pH 7,0 e solução tampão de borato de sódio pH 9,3. Em seguida será feita a leitura de absorbância em espectrofotômetro UV-Vis a 519nm.

## 5 REFERÊNCIAS

ABREU, Gonçalo Fernandes de. **EFEITO DE CORANTES NAS PROPRIEDADES DE MICELIZAÇÃO DE SURFACTANTES IÔNICOS**. Tese de Doutorado. Universidade de Coimbra. 2020.

ABURTO, A.; PEIMBERT, M. Degradation of a benzene-toluene mixture by hydrocarbonadapted bacterial communities. **Annals of Microbiology**, v. 61, p. 553 – 562, 2011.

ADAMS, G. O. et al. Bioremediation, Biostimulation and Bioaugmentation: A Review. **International Journal of Environmental Bioremediation & Biodegradation**, v. 3, n. 1, p. 28 – 39, 2015.

Agência Nacional de Vigilância Sanitária – ANVISA. Toxicologia. 2010. Disponível em: <https://www.anvisa.gov.br/toxicologia>. Acesso em: 22 de ago de 2021

AL-ARAJI, L.; et al. Minireview Microbial Surfactant. **Asia-Pacific Journal of Molecular Biology and Biotechnology**, v. 15, n. 3, p. 99–105, 2007.

ALI, Imran; ALOTHMAN, Z. A.; AL-WARTHAN, Abdulrahman. Sorption, kinetics and thermodynamics studies of atrazine herbicide removal from water using iron nano-composite material. **International journal of environmental science and technology**, v. 13, n. 2, p. 733-742, 2016.

ALVES, M. C. Recuperação dos solos degradados pela agricultura. **encontro nacional sobre educação ambiental na agricultura**, v. 5, 2006.

AMARANTE JUNIOR, Ozelito Possidônio de et al. Glifosato: propriedades, toxicidade, usos e legislação. **Química nova**, v. 25, p. 589-593, 2002.

AMARANTE JÚNIOR, Ozelito Possidônio de et al. Métodos de extração e determinação do herbicida glifosato: breve revisão. **Química Nova**, v. 25, n. 3, p. 420-428, 2002.

AMARO, Bruna Barbosa Dias Ferreira 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.

ANDRIGHETTI, Marília Scopel et al. Biodegradação de glifosato pela microbiota de solos cultivados com macieira. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v. 38, p. 1643-1653, 2014.

ARANHA, C. F.; RIBEIRO, M. A. **Remoção de glifosato utilizando ozonização fotocatalítica com TiO<sub>2</sub>**. Trabalho de Conclusão de Curso (Bacharel em Engenharia Ambiental Sanitária) - Universidade Federal de Goiás. Goiás, 2016.

ARAÚJO, ASF de; MONTEIRO, Regina Teresa Rosim; ABARKELI, R. B. Effect of glyphosate on the microbial activity of two Brazilian soils. **Chemosphere**, v. 52, n. 5, p. 799-804, 2003. 33

ATWOOD, Donald; PAISLEY-JONES, Claire. Pesticides industry sales and usage: 2008–2012 market estimates. **US Environmental Protection Agency, Washington, DC**, v. 20460, 2017.

- BAIRD, C. Química Ambiental. 2ª Edição. Porto Alegre: Bookman, 2002, 622p.
- BANAT, Ibrahim M. et al. Produção, aplicações e potencial futuro de biossurfactantes microbianos. **Microbiologia aplicada e biotecnologia**, v. 87, n. 2, pág. 427-444, 2010.
- BARJA, B. C.; DOS SANTOS AFONSO, M. Aminomethylphosphonic acid and glyphosate adsorption onto goethite: a comparative study. **Environmental science & technology**, v. 39, n. 2, p. 585-592, 2005.
- BENTO, Fatima Menezes et al. Bioremediation of soil contaminated by diesel oil. **Brazilian journal of Microbiology**, v. 34, p. 65-68, 2003.
- BHARALI, Pranjali et al. Biodiesel derived waste glycerol as an economic substrate for biosurfactant production using indigenous *Pseudomonas aeruginosa*. **RSC advances**, v. 4, n. 73, p. 38698-38706, 2014.
- BICCA, Flávio Correa; FLECK, Leonardo Colombo; AYUB, Marco Antônio Záchia. Production of biosurfactant by hydrocarbon degrading *Rhodococcus ruber* and *Rhodococcus erythropolis*. **Revista de Microbiologia**, v. 30, p. 231-236, 1999.
- BOMBARDI, Larissa Mies. **Geografia do uso de agrotóxicos no Brasil e conexões com a União Europeia**. FFLCH-USP, 2017.
- BOOPATHY, R. Factors limiting bioremediation technologies. **Bioresource Technology**, v. 74, p. 63 – 67, 2000.
- BRAIBANTE, Mara Elisa Fortes; ZAPPE, Janessa Aline. A química dos agrotóxicos. **Química nova na escola**, v. 34, n. 1, p. 10-15, 2012.
- BRASIL. Lei nº **7.802, de 11 de julho de 1989**. Dispõe sobre a pesquisa, a experimentação, a produção, a embalagem e rotulagem, o transporte, o armazenamento, [...] fiscalização de agrotóxicos, seus componentes e afins, e dá outras providências. Brasília, DF: Presidência da República, 1989. Disponível em: [http://www.planalto.gov.br/ccivil\\_03/leis/L7802.htm](http://www.planalto.gov.br/ccivil_03/leis/L7802.htm). Acesso em: 06 set. 2021
- BRASIL. **Decreto nº 4.074, de 4 de janeiro de 2002**. Diário Oficial da União. Brasília. DF. 08 jan. 2002. p1. Disponível em: [http://www.planalto.gov.br/ccivil\\_03/decreto/2002/d4074.htm](http://www.planalto.gov.br/ccivil_03/decreto/2002/d4074.htm). Acesso em: 10, out, 2021.
- BRAVIM, Nara Priscila Barbosa; ALVES, Anatércia Ferreira; ORLANDA, José Fábio França. Biodegradation of atrazine, glyphosate and pendimetaline employing fungal consortia. **Research, Society and Development**, v. 9, n. 11, p. e1549119679-e1549119679, 2020.
- BROCHARDT, Viviane dos Santos. Direito à informação sobre agrotóxicos. 2020.
- BUENO, Silvia Messias. Bactérias produtoras de biossurfactantes: isolamento, produção, caracterização e comportamento num sistema modelo. 2008. 34

- BUSSE, Matt D. et al. Glyphosate toxicity and the effects of long-term vegetation control on soil microbial communities. **Soil biology and biochemistry**, v. 33, n. 12-13, p. 1777-1789, 2001.
- CALVO, C. et al. Application of bioemulsifiers in soil oil bioremediation processes. Future prospects. **Science of the total environment**, v. 407, n. 12, p. 3634-3640, 2009.
- CAO, Bin; NAGARAJAN, Karthiga; LOH, Kai-Chee. Biodegradation of aromatic compounds: current status and opportunities for biomolecular approaches. **Applied microbiology and biotechnology**, v. 85, n. 2, p. 207-228, 2009.
- CARNEIRO, Fernando Ferreira et al. **Dossiê ABRASCO: um alerta sobre os impactos dos agrotóxicos na saúde**. EPSJV/Expressão Popular, 2015.
- CARVALHO, A. C.; CARVALHO, D. F. .; CASTRO, A. C. Análise sobre crescimento populacional e transição demográfica: limites e divergências. **Conjecturas**, v. 22, n. 2, p. 845-859, 2022.
- CARVALHO, Lívia Maris Souza et al. Preparação de filmes de quitosana reforçados com nanofibras de celulose: estudo das propriedades físico-químicas na associação com o herbicida glifosato. 2017.
- CASTREJÓN-GODÍNEZ, M L et al. Glyphosate pollution treatment and microbial degradation alternatives, a review. **Microorganisms**, v. 9, p.11, 2021.
- CHAMPION, Jill T. et al. Electron microscopy of rhamnolipid (biosurfactant) morphology: effects of pH, cadmium, and octadecane. **Journal of Colloid and Interface Science**, v. 170, n. 2, p. 569-574, 1995.
- COOPER, David G.; GOLDENBERG, Beena G. Surface-active agents from two *Bacillus* species. **Applied and environmental microbiology**, v. 53, n. 2, p. 224-229, 1987.
- CRAVEIRO, Sebastião Alves et al. Diagnóstico situacional sobre o uso de agrotóxicos por agricultores familiares do campo agrícola Fomento em Codó, Maranhão, Brasil. **Revista Saúde e Meio Ambiente**, v. 9, n. 3, p. 1-14, 2019.
- CUNHA, Roberto César Costa. Recente desempenho da dinâmica produtiva e a difusão territorial da agropecuária maranhense. **ENTRE-LUGAR**, v. 11, n. 21, p. 128-158, 2020.
- DE LARA, Stephanie Sommerfeld et al. A agricultura do agronegócio e sua relação com a intoxicação aguda por agrotóxicos no Brasil. **Hygeia-Revista Brasileira de Geografia Médica e da Saúde**, v. 15, n. 32, p. 1-19, 2019.
- DE MATTOS PADILHA, Tielly et al. Isolamento de linhagens bacterianas degradadoras de hidrocarbonetos BTEX proveniente do setor petroquímico. **Scientia Plena**, v. 13, n. 9, 2017.
- DE MELO, I. S.; DE AZEVEDO, J. L. Estratégias de isolamento de microrganismos envolvidos na degradação de xenobióticos. **Embrapa Meio Ambiente-Capítulo em livro científico (ALICE)**, 2008.
- DELEU, Magali; PAQUOT, Michel. From renewable vegetables resources to microorganisms: new trends in surfactants. **Comptes Rendus Chimie**, v. 7, n. 6-7, p. 641-646, 2004.

- DELLAGNEZZE, Bruna Martins et al. Bioprospecção de genes envolvidos na síntese de biossurfactantes a partir de microbiota de reservatórios de petróleo. 2010. 35
- DESAI, Jitendra D.; BANAT, Ibrahim M. Microbial production of surfactants and their commercial potential. **Microbiology and Molecular biology reviews**, v. 61, n. 1, p. 47-64, 1997.
- DÍAZ, Eduardo. Degradación bacteriana de contaminantes aromáticos: un paradigma de variabilidad metabólica. **International Microbiology**, v. 7, n. 3, p. 173-180, 2004.
- DOS SANTOS, J. M. F. CENÁRIOS DA TECNOLOGIA DE APLICAÇÃO DE AGROTÓXICOS NA AGRICULTURA BRASILEIRA. **Biológico, São Paulo**, v. 72, n. Suplemento 2, p. 15-108, 2010.
- ELARABI, Nagwa I. et al. Bacillus aryabhattai FACU: A promising bacterial strain capable of manipulate the glyphosate herbicide residues. **Saudi Journal of Biological Sciences**, v. 27, n. 9, p. 2207-2214, 2020.
- ELDIN, Ahmed M.; KAMEL, Zeinat; HOSSAM, Nermeen. Isolation and genetic identification of yeast producing biosurfactants, evaluated by different screening methods. **Microchemical Journal**, v. 146, p. 309-314, 2019.
- ENTENDA o que é o glifosato, o agrotóxico mais vendido do mundo. In: CENTRO DE ESTUDOS ESTRATÉGICOS DA FIOCRUZ. Rio de Janeiro, 06 jun. 2019. Disponível em: <https://cee.fiocruz.br/?q=node/987>. Acesso em: 06 jul. 2021
- FERNANDES, Gabriel Bianconi. Agrotóxicos no Brasil – o pop do agro. In: SANTOS, Maureen; GLASS, Verena (org.). *Atlas do agronegócio*: fatos e números sobre as corporações que controlam o que comemos. Rio de Janeiro: Fundação Henrich Böll, 2018.
- FITTIPALDI, Danielli Vazzoller et al. POTENCIAL DE CIANOBACTÉRIAS PROVENIENTES DE PESQUE-PAGUES PARA BIORREMEDIAÇÃO DE ÁGUAS CONTAMINADAS POR ARSÊNIO. **Eclética Química Journal**, v. 38, n. 1, p. 128-135, 2013.
- FRANZ, J. E. The herbicide glyphosate. **Butterworths**, p. 3-17, 1985.
- GALLEGO, José LR et al. Bioremediation of diesel-contaminated soils: evaluation of potential in situ techniques by study of bacterial degradation. **Biodegradation**, v. 12, n. 5, p. 325-335, 2001.
- GARCÍA-REYES, Selene; YAÑEZ-OCAMPO, Gustavo. Microbial biosurfactants: Methods for their isolation and characterization. **Journal of Microbiology, Biotechnology and Food Sciences**, v. 2021, p. 641-648, 2021.
- GASPARINI, Marina Favrim. Trabalho rural, saúde e contextos socioambientais: estudo de caso sobre a percepção dos riscos associados à produção de flores em comunidades rurais do município de Nova Friburgo (RJ). **Fundação Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro**, 2012.
- Glifosato. In: Merck. Disponível em: <https://www.sigmaaldrich.com/BR/pt/search/glyphosate?focus=products&page=1&perPage=30&sort=relevance&term=Glyphosate&type=product>. Acesso em: 05 de set 2021

GRUYS, Kenneth J.; SIKORSLCI, Janus A. Inhibitors of Tryptophan, Phenylalanine, and Tyrosine Biosynthesis as Herbicides. In: **Plant amino acids**. CRC Press, 1998. p. 371-398. 36

HANEY, R. L.; SENSEMAN, S. A.; HONS, F. M. Effect of Roundup Ultra on microbial activity and biomass from selected soils. **Journal of environmental quality**, v. 31, n. 3, p. 730-735, 2002.

HASSANSHAHIAN, Mehdi et al. Bioremediation (bioaugmentation/biostimulation) trials of oil polluted seawater: a mesocosm simulation study. **Marine environmental research**, v. 95, p. 28-38, 2014.

Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e dos Recursos Naturais Renováveis-IBAMA. 2021. Disponível em: <http://www.ibama.gov.br/avaliacao-e-destinacao/quimicos-e-biologicos/avaliacao-ambiental-para-registro-de-agrotoxicos-seus-componentes-e-afins-de-uso-agricola#sobre-a-avaliacao>. Acesso em: 29, out, 2021.

Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e Recursos Naturais Renováveis – IBAMA. Agrotóxico. 2021. Disponível em: <http://www.ibama.gov.br/agrotoxicos/quimicos-biologicos-registros/registro-de-agrotoxicos-de-uso-nao-agricola#listaregistrados>. Acesso em: 02 de set de 2021

INSTITUTO NACIONAL DE CÂNCER JOSÉ ALENCAR GOMES DA SILVA. **Ambiente, trabalho e câncer: aspectos epidemiológicos, toxicológicos e regulatórios** / Instituto Nacional de Câncer José Alencar Gomes da Silva. – Rio de Janeiro: INCA, 2021.

INSTITUTO NACIONAL DE CÂNCER JOSÉ ALENCAR GOMES DA SILVA. Exposição no trabalho e no ambiente. **Agrotóxico**. Rio de Janeiro: INCA, 2019.

JACQUES, Rodrigo Josemar Seminoti et al. Biorremediação de um solo contaminado com antraceno sob diferentes condições físicas e químicas. **Ciência Rural**, v. 40, p. 280-287, 2010.

KAMARAJ, Ramakrishnan et al. Eco-friendly and easily prepared graphene nanosheets for safe drinking water: removal of chlorophenoxyacetic acid herbicides. **ChemistrySelect**, v. 2, n. 1, p. 342-355, 2017.

KARAM, Décio et al. Agrotóxicos. **Embrapa Milho e Sorgo-Documents (INFOTECA-E)**, 2015.

KIM, Soon Han et al. Purification and characterization of biosurfactants from *Nocardia* sp. L-417. **Biotechnology and Applied Biochemistry**, v. 31, n. 3, p. 249-253, 2000.

KREISCHER, Ana Carolina; SILVA, Luciano Procopio. Bioprospecção de bactérias produtoras de biosurfactantes a partir de solo contaminado por agrotóxicos. **Revista Eletrônica Estácio Saúde**, v. 6, n. 1, p. 35-47, 2017.

KRYUCHKOVA, Yelena V. et al. Isolamento e caracterização de uma cepa de rizosfera degradadora de glifosato, *Enterobacter cloacae* K7. **Pesquisa microbiológica**, v. 169, n. 1, pág. 99-105, 2014.

MAIER, Raina M.; GENTRY, Terry J. Microorganisms and organic pollutants. In: **Environmental microbiology**. Academic Press, 2015. p. 377-413.

- MARIANO, Adriano Pinto. Avaliação do potencial de biorremediação de solos e de águas subterrâneas contaminados com óleo diesel. 2006. 37
- MASOTTI, Fiorella et al. Bacterial isolates from Argentine Pampas and their ability to degrade glyphosate. **Science of The Total Environment**, v. 774, p. 145761, 2021.
- MATIAS, Tális Pereira et al. Os agrotóxicos mais vendidos no Brasil: Implicações em meio ambiente e saúde. **Research, Society and Development**, v. 10, n. 8, p. e12110817082-e12110817082, 2021.
- MENDES FILHO, P. F. et al. Evaluating the potential of forest species under “microbial management” for the restoration of degraded mining areas. **Water, Air, and Soil Pollution**, v. 208, n. 1, p. 79-89, 2010.
- MESQUITA, Ana Carla. Uso das técnicas de oxidação química e biodegradação na remoção de alguns compostos recalcitrantes. **Rio de Janeiro: Universidade Federal do Rio de Janeiro**, 2004.
- MOGADATI, Paul S.; LOUIS, Judith B.; ROSEN, Joseph D. Determination of glyphosate and its metabolite, (aminomethyl) phosphonic acid, in river water. **Journal of AOAC International**, v. 79, n. 1, p. 157-162, 1996.
- MORAES, P. V. D.; ROSSI, Patrícia. Comportamento ambiental do glifosato. **Scientia Agraria Paranaensis**, v. 9, n. 3, 2010.
- MORAES, Solange Leite de; REZENDE, Maria Olímpia Oliveira. Determinação da concentração micelar crítica de ácidos húmicos por medidas de condutividade e espectroscopia. **Química Nova**, v. 27, n. 5, p. 701-705, 2004.
- MORI, Letícia. Glifosato: mitos e verdades sobre um dos agrotóxicos mais usados do mundo. In: BBC News Brasil. São Paulo, 23 fev. 2019. Disponível em: <https://www.bbc.com/portuguese/geral-47320332>. Acesso: 05 jul. 2021
- MORIKAWA, Masaaki; HIRATA, Yoshihiko; IMANAKA, Tadayuki. A study on the structure–function relationship of lipopeptide biosurfactants. **Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Molecular and Cell Biology of Lipids**, v. 1488, n. 3, p. 211-218, 2000.
- NG, Y J et al. Recent advances of biosurfactant for waste and pollution bioremediation: Substitutions of petroleum-based surfactants. **Environmental Research**, p. 113126, 2022.
- NITSCHKE, Marcia; PASTORE, Gláucia Maria. Biossurfactantes: propriedades e aplicações. **Química nova**, v. 25, n. 5, p. 772-776, 2002.
- NORTOX. 2021. Disponível em: [http://www.nortox.com.br/arquivos/pdf/pdf\\_bula\\_13.pdf](http://www.nortox.com.br/arquivos/pdf/pdf_bula_13.pdf), acesso em: 15, out, 2021.
- OBERHARDT, Matthew A. et al. Harnessing the landscape of microbial culture media to predict new organism–media pairings. **Nature communications**, v. 6, n. 1, p. 1-14, 2015.
- OBOJSKA, Agnieszka et al. Organophosphonate utilization by the thermophile *Geobacillus caldoxylosilyticus* T20. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 68, n. 4, p. 2081-2084, 2002.

- PEIXOTO, Raquel S. et al. Bioprospecção da diversidade microbiana cultivável e não cultivável. **Microbiologia Ambiental**, v. 2, p. 83-106, 2008. 38
- PELAEZ, Victor; TERRA, Fábio Henrique Bittes; DA SILVA, Letícia Rodrigues. A regulamentação dos agrotóxicos no Brasil: entre o poder de mercado e a defesa da saúde e do meio ambiente. **Revista de Economia**, v. 36, n. 1, 2010.
- PERES, Frederico; MOREIRA, Josino Costa; DUBOIS, Gaetan Serge. Agrotóxicos, saúde e ambiente: uma introdução ao tema. **É veneno ou é remédio**, p. 21-41, 2003.
- PINHEIRO, Sebastião; AURVALLE, Angela; GUAZZELLI, Maria José. **Agropecuária sem veneno**. L & PM, 1985.
- POPULAÇÃO mundial deve atingir 9,6 bilhões em 2050, diz novo relatório da ONU. In: Nações Unidas no Brasil. Distrito Federal, 17 jun. 2019. Disponível em: <https://brasil.un.org/pt-br/83427-populacao-mundial-deve-chegar-97-bilhoes-de-pessoas-em-2050-diz-relatorio-da-onu>. Acesso em : 02 jul. 2021
- PRAKASH, Ajeet et al. Biodegradation potential of petroleum hydrocarbons by bacteria and mixed bacterial consortium isolated from contaminated sites. **Turkish journal of Engineering and Environmental sciences**, v. 38, n. 1, p. 41-50, 2014.
- PRATA, F.; LAVORENTI, A. Retenção e mobilidade de defensivos agrícolas no solo. **Apostila do Simpósio sobre Dinâmica de Defensivos Agrícolas no Solo: aspectos práticos e ambientais**. ESALQ/USP, p. 57-69, 2002.
- QUINN, John P. Interactions of the herbicides glyphosate and glufosinate (phosphinothricin) with the soil microflora. In: **Pesticide interactions in crop production**. CRC Press, 2018. p. 245-265.
- RICHETTI, Alceu; REIS, R. P. **Fronteira de produção e eficiência econômica na cultura da soja no Mato Grosso do Sul**. 2000. Tese de Doutorado. Universidade Federal de Lavras.
- RODRIGUES, B. N.; ALMEIDA, F. S. **Guia de herbicidas**. 5. ed., Londrina, 2005, 592p
- RODRIGUES, Euripedes B.; ABI SAAB, Otavio JG; GANDOLFO, Marco A. Cana-de-açúcar: avaliação da taxa de aplicação e deposição do herbicida glifosato. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, v. 15, p. 90-95, 2011.
- RODRIGUES, S.; DUARTE, A. C. Poluição do solo: revisão generalista dos principais problemas. **O Ambiente e a Saúde**. Lisboa, Instituto Piaget, p. 136-176, 2003.
- ROY, Arpita. Review on the biosurfactants: properties, types and its applications. **J. Fundam. Renew. Energy Appl**, v. 8, p. 1-14, 2017.
- SABATÉ, J.; VINAS, M.; SOLANAS, A. M. Laboratory-scale bioremediation experiments on hydrocarbon-contaminated soils. **International biodeterioration & biodegradation**, v. 54, n. 1, p. 19-25, 2004.
- SANTOS, Sandna Larissa Freitas et al. Desenvolvimento de uma cartilha educativa sobre coloração de gram em microbiologia no ensino superior. **Revista Expressão Católica Saúde**, v. 1, n. 1, 2016.

SATPUTE, Surekha K. et al. Methods for investigating biosurfactants and bioemulsifiers: a review. **Critical reviews in biotechnology**, v. 30, n. 2, p. 127-144, 2010. 39

SELVAKUMAR, S. et al. Rapid screening of crude oil degrading bacteria isolated from oil contaminated areas. **The Scitech Journal**, v. 1, p. 24-27, 2014.

SINGH, Anil Kumar; CAMEOTRA, Swaranjit Singh. Efficiency of lipopeptide biosurfactants in removal of petroleum hydrocarbons and heavy metals from contaminated soil. **Environmental Science and Pollution Research**, v. 20, n. 10, p. 7367-7376, 2013.

SOLA, Marília Cristina et al. Manutenção de microrganismos: conservação e viabilidade. 2012.

SOUZA, Evandro Luiz Corrêa de et al. Impacto ambiental do uso do Glyphosate no controle de aguapé (*Eichhornia crassipes*). 2013.

SPADOTTO, Claudio A. et al. Monitoramento do risco ambiental de agrotóxicos: princípios e recomendações. **Embrapa Meio Ambiente-Documentos (INFOTECA-E)**, 2004.

TAIZ, Lincoln et al. **Fisiologia e desenvolvimento vegetal**. ArtmedEditora, 2017.

TANGO, M. S. A.; ISLAM, M. R. Potential of extremophiles for biotechnological and petroleum applications. **Energy Sources**, v. 24, n. 6, p. 543-559, 2002.

TAVEIRA, Iasmin Cartaxo; GORLACH-LIRA, Krystyna. Triagem de bactérias isoladas de ambiente marinho para produção de biossurfactantes. 2017.

TEIXEIRA, Aline Schneider. Isolamento e caracterização de bactérias degradadoras de gasolina comercial. 2007.

TEJADA, Manuel. Evolution of soil biological properties after addition of glyphosate, diflufenican and glyphosate+ diflufenican herbicides. **Chemosphere**, v. 76, n. 3, p. 365-373, 2009.

TOMLIN, C. D. S. The pesticides manual: a world compendium. **British Crop Protection Council**, v. 14, p. 351, 2006.

TONI, Luís RM; SANTANA, Henrique de; ZAIA, Dimas AM. Adsorção de glifosato sobre solos e minerais. **Química Nova**, v. 29, p. 829-833, 2006.

TORTORA, Gerard J.; CASE, Christine L.; FUNKE, Berdell R. **Microbiologia-12ª Edição**. ArtmedEditora, 2016.

TUFFI SANTOS, L. D. et al. Exsudação radicular do glyphosate por *Brachiaria decumbens* e seus efeitos em plantas de eucalipto e na respiração microbiana do solo. **Planta daninha**, v. 23, p. 143-152, 2005.

VARJANI, Sunita J.; UPASANI, Vivek N. Critical review on biosurfactant analysis, purification and characterization using rhamnolipid as a model biosurfactant. **Bioresource technology**, v. 232, p. 389-397, 2017.

VEIGA, F. et al. Dynamics of glyphosate and aminomethylphosphonic acid in a forest soil in Galicia, north-west Spain. **Science of the Total Environment**, v. 271, n. 1-3, p. 135-144, 2001. 40

WALTER, Vanessa; SYLDATK, Christoph; HAUSMANN, Rudolf. Screening concepts for the isolation of biosurfactant producing microorganisms. **Biosurfactants**, p. 1-13, 2010.

YAMADA, Tsuioshi; CASTRO, PR de C. Efeitos do glifosato nas plantas: implicações fisiológicas e agronômicas. **Informações Agronômicas**, v. 119, p. 1-32, 2007.

ZABALOY, María C.; GARLAND, Jay L.; GOMEZ, Marisa A. An integrated approach to evaluate the impacts of the herbicides glyphosate, 2, 4-D and metsulfuron-methyl on soil microbial communities in the Pampas region, Argentina. **Applied soil ecology**, v. 40, n. 1, p. 1-12, 2008.