

Biodegradação do inseticida carbofuran por *Syncephalastrum racemosum*
Biodegradation of the carbofuran insecticide by *Syncephalastrum racemosum*
Biodegradación del insecticida carbofurano por *Syncephalastrum racemosum*

Recebido: 26/05/2020 | Revisado: 28/05/2020 | Aceito: 30/05/2020 | Publicado: 16/06/2020

Regiane Kessias de Sousa Lira

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-6559-2022>

Universidade Federal do Rio de Janeiro, Brasil

E-mail: regiane_kessias@hotmail.com

José Fábio França Orlanda

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-6402-6192>

Universidade Estadual da Região Tocantina do Maranhão, Brasil

E-mail: fabiorlanda@yahoo.com.br

Resumo

O carbofuran (2,3-di-hidro-2,2-dimetil-benzofuranil-N-metilcarbamato) é um inseticida pertencente ao grupo dos carbamatos, amplamente utilizado no controle de pragas em culturas de grande valor comercial, bioacumulável e extremamente tóxico ao meio ambiente. Uma alternativa para a remediação de áreas contaminadas com agrotóxicos é a biorremediação, que consiste na utilização de microrganismos ou suas enzimas para remover compostos químicos persistentes. Com isso, o objetivo deste estudo foi determinar a biodegradação do carbofuran, empregando o fungo *Syncephalastrum racemosum*, por meio da avaliação da tolerância fúngica, atividade enzimática e quantificação dos resíduos por espectrofotometria UV-Visível. Os resultados obtidos demonstraram que o *S. racemosum* apresentou melhor capacidade de biodegradação na concentração de 15 µg mL⁻¹ de carbofuran (93,02%), com os valores de IVCm de 21,95 cm dia⁻¹, lacase (0,712 U mL⁻¹) e lignina peroxidase (0,005 U mL⁻¹), durante 168 h de incubação. Assim, a taxa de degradação no intervalo de 25 a 100 µg mL⁻¹ apresentou valores de 12,66 a 75,58%, respectivamente. Com base nestes resultados, o fungo apresenta grande potencial para ser utilizado na biorremediação, minimizando os impactos deste agrotóxico no meio ambiente.

Palavras-chave: Agrotóxicos; Biodegradação; Carbofuran.

Abstract

Carbofuran (2.3-dihydro-2.2-dimethyl-benzofuranyl-N-methylcarbamate) is an insecticide belonging to the group of carbamates, widely used in pest control in crops with great commercial value, bioaccumulative and extremely toxic to the environment. An alternative to treat areas contaminated with pesticides is bioremediation, which consists of using microorganisms or their enzymes to remove persistent chemical compounds. Thus, the objective of this study was to determine the biodegradation of carbofuran, using the fungus *Syncephalastrum racemosum*, by evaluating fungal tolerance, enzymatic activity and quantifying residues by UV-Visible spectrophotometry. The results obtained showed that *S. racemosum* presented best biodegradation capacity at 15 $\mu\text{g mL}^{-1}$ carbofuran concentration (93.02%), with IVC values of 21.95 cm day^{-1} , laccase (0.712 U mL^{-1}) and lignin peroxidase (0.005 U mL^{-1}), after 168 h incubation. Thus, the degradation rate in the 25 to 100 $\mu\text{g mL}^{-1}$ range showed values of 12.66 to 75.58%, respectively. Based on these results, the fungus has great potential for use in the bioremediation, minimizing the impacts of this pesticide on the environment.

Keywords: Biodegradation; Carbofuran; Pesticides.

Resumen

El carbofurano (2,3-dihidro-2,2-dimetil-benzofuranil-N-metilcarbamato) es un insecticida que pertenece al grupo de los carbamatos, ampliamente utilizado en el control de plagas en cultivos de gran valor comercial, bioacumulativo y extremadamente tóxico para medio ambiente. Una alternativa para la remediación de áreas contaminadas con pesticidas es la biorremediación, que consiste en usar microorganismos o sus enzimas para eliminar compuestos químicos persistentes. Por lo tanto, el objetivo de este estudio fue determinar la biodegradación del carbofurano, utilizando el hongo *Syncephalastrum racemosum*, a través de la evaluación de la tolerancia a los hongos, la actividad enzimática y la cuantificación de residuos por espectrofotometría UV-Visible. Los resultados obtenidos mostraron que *S. racemosum* mostró una mejor capacidad de biodegradación a una concentración de 15 $\mu\text{g mL}^{-1}$ de carbofurano (93.02%), con valores IVC de 21.95 cm dia^{-1} , lacasa (0.712 U mL^{-1}) y lignina peroxidasa (0,005 U mL^{-1}), durante 168 h de incubación. Por lo tanto, la tasa de degradación en el rango de 25 a 100 $\mu\text{g mL}^{-1}$ mostró valores de 12.66 a 75.58%, respectivamente. En base a estos resultados, el hongo tiene un gran potencial para su uso en biorremediación, minimizando los impactos de este pesticida en el medio ambiente.

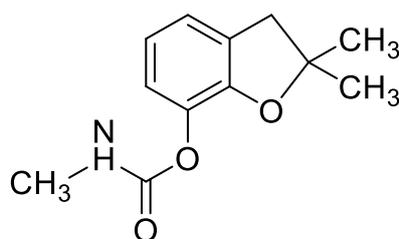
Palabras clave: Biodegradación; Carbofurano; Pesticidas.

1. Introdução

Na agricultura moderna, os agrotóxicos ocupam uma posição de destaque, com a função aumentar a produtividade agrícola e melhorar a relação custo-benefício. No entanto, a aplicação indiscriminada por longos períodos pode levar à disposição, contaminação e acúmulo de poluentes potencialmente tóxicos no meio ambiente, resultando em graves efeitos indesejáveis ao ecossistema e a saúde pública (Nie et al., 2019).

O carbofuran (2,3-di-hidro-2,2-dimetil-benzofuranil-N-metilcarbamato) é um agrotóxico pertencente ao grupo dos carbamatos (Figura 01), de ampla utilização na agricultura, classificado como inseticida, acaricida, cupincida e nematicida (Ibrahim & Solpan, 2018). É aplicado ao solo para controle de pragas nas culturas de arroz, algodão, café, cana-de-açúcar, feijão e milho. O principal mecanismo de ação é por meio da inibição da enzima acetilcolinesterase (AChE), provocando o acúmulo da acetilcolina, um mediador químico da transmissão dos impulsos nervosos em vertebrados e invertebrados (Castro-Gutierrez et al., 2017; Popovska-Gorevski et al., 2017; Ruíz-Hidalgo et al., 2016).

Figura 01. Estrutura molecular do carbofuran ($C_{12}H_{15}NO_3$).



Fonte: Agrofit (2020)

Devido aos efeitos deletérios e à natureza perigosa do carbofuran, o seu uso foi proibido em diversos países da União Européia, Canadá, EUA e Índia. Entretanto no Brasil, o consumo ainda é autorizado pelos órgãos ambientais e a sua presença no ambiente deve ser reduzido a níveis aceitáveis de segurança desejável, no ponto de vista ambiental e agrícola (Katembo et al., 2019).

Atualmente existem vários métodos de despoluição ambiental do carbofuran, como oxidação com ozônio, fotodegradação, processos oxidativos avançados (POAs), filtração por

membrana e adsorção. Mas, esses métodos são caros, poucos eficientes e difíceis de serem executados em condições ambientais (Abdelhaleem & Chu, 2019).

Entre as estratégias alternativas para a remoção de agrotóxicos de áreas impactadas, têm-se o uso de microrganismos que possuem a habilidade de modificar ou decompor determinados poluentes até a mineralização, obtendo como produto final biomassa, dióxido de carbono (CO₂) e água pela via aeróbica (Dangi et al., 2019). As investigações relacionadas ao uso de fungos e seus metabólitos nos processos de biorremediação estão crescendo a cada ano, devido ao alto potencial de mecanismos degradativos, biossorbitivos e de resistência microbiana (Singh et al., 2020).

Com isso, o estudo tem como objetivo avaliar a biodegradação do carbofuran, empregando o fungo *Syncephalastrum racemosum*, em condições laboratoriais.

2. Metodologia

2.1 Reagentes químicos

O padrão analítico de carbofuran (2,3-di-hidro-2,2-dimetil-benzofuranil-N-metilcarbamato, > 99% de pureza) e solventes orgânicos (cromatografia líquida de alta eficiência - classe HPLC) foram adquiridos da Sigma – Aldrich. Todos os reagentes empregados foram de grau analítico e todas as soluções foram preparadas usando água ultrapura, obtida pelo sistema milli-Q da Millipore.

2.2 Microrganismo, condições de cultivo e inóculo fúngico

O fungo filamentososo utilizado no estudo foi *Syncephalastrum racemosum* isolado de solo rizosférico, com cultivo de soja e histórico de aplicação de agrotóxicos nos últimos anos. A cepa pertence a Micoteca do Laboratório de Biotecnologia Ambiental - LABITEC, mantida em ágar batata-dextrose (PDA) e 1% de glicerina a $4 \pm 0,1$ °C para manter a viabilidade.

Nos experimentos de biodegradação do carbofuran foram utilizados o meio mínimo proposto por Ma et al. (2017), com modificações, contendo por litro: K₂HPO₄, 0,5 g; NaNO₃, 0,5 g; MgSO₄.7H₂O, 0,0125 g; CaCl₂.2H₂O, 0,005 g; solução de traço 10 mL (ZnSO₄.7H₂O, 0,01 g; MnCl₂.2H₂O, 0,003 g; H₃BO₃, 0,03 g; CoCl₂.6H₂O, 0,02 g; CuCl₂.2H₂O, 0,001; NiCl₂.6H₂O, 0,002; NaMoO₄.H₂O, 0,003 g; água deionizada, 1 L). O pH foi ajustado para $7,0 \pm 0,1$ e esterilizados em autoclave a $121 \pm 0,1$ °C, durante 20 minutos.

O inóculo fúngico foi preparado a partir de cultura pura de *S. racemosum*, com transferência de discos individuais do micélio (7 mm de diâmetro) para placas de Petri contendo ágar batata-dextrose e incubadas a $28 \pm 0,1$ °C, por 21 dias.

Após o período de incubação, foi realizado o processo de remoção dos esporos com 10 mL de meio mineral estéril, contendo por litro: $K_2HPO_4 \cdot 3H_2O$, 18,34 g; KH_2PO_4 , 6,0 g; $MgSO_4 \cdot 7H_2O$, 0,2g; $(NH_4)_2SO_4$, 4,0 g; água deionizada, pH 7,0. A suspensão foi transferida para erlenmeyeres de 250 mL e agitados por 5 minutos, em agitador horizontal (SPLabor, Modelo SP-160). Um mililitro de cada suspensão foi transferido para um tubo de centrifuga (falcon) estéril, contendo 2 mL de solução de Tween 80 0,05%, seguido de agitação por 5 minutos. Com o auxílio de contagem em câmara de NeuBauer e microscópio (Marca Zeiss Axiostar Plus), foi preparada uma suspensão de esporos na concentração de 1×10^6 esporos mL^{-1} .

2.3 Ensaio de tolerância fúngica

Os experimentos de crescimento micelial foram realizados em placas de Petri (90 mm), contendo batata dextrose ágar (BDA) suplementado com concentrações diferentes de carbofuran (0, 15, 25, 50, 75 e 100 $\mu g mL^{-1}$), como única fonte de carbono. Após a adição de 0,1 mL da suspensão de esporos fúngicos ($1 \times 10^6 mL^{-1}$), as placas foram incubadas a $28 \pm 0,1$ °C durante 7 dias, até esporulação abundante. Os ensaios foram realizados em triplicatas e para cada concentração um controle.

A avaliação do crescimento foi realizada pela medição, a cada 24 horas, registrando-se o diâmetro em milímetros (mm) das colônias, em posição ortogonal, durante sete dias, a partir do momento em que foram colocados os discos de micélio fúngico. Os resultados foram expressos em Índice de Velocidade de Crescimento Micelial (IVCM), conforme a fórmula descrita por Gomes & Pena (2016):

$$IVCM = \sum \frac{(D - D_a)}{N}$$

Sendo: IVCM = índice de velocidade de crescimento micelial ($cm dia^{-1}$); D = diâmetro médio atual da colônia; D_a = diâmetro médio da colônia do dia anterior; N = número de dias após a inoculação.

2.4 Experimentos de biodegradação

Os experimentos de biodegradação do carbofuran foram realizados em erlenmeyer de 250 mL, contendo 69,9 mL de meio Ma et al. (2017) com modificações, 20,0 mL de carbofuran com concentração final de 15 a 100 $\mu\text{g mL}^{-1}$, 10,0 mL de inóculo fúngico e 0,1 mL de solução traço, sob condições aeróbias. Os frascos foram incubados em agitador orbital a $25 \pm 0,1$ °C (SPLabor, Modelo SP223), 150 xg, durante 7 dias. As amostras foram retiradas diariamente, centrifugadas a 8.000 xg por 10 min. (Fanem, Modelo 206BL), analisadas quanto a atividade enzimática e resíduos de carbofuran por espectrofotometria UV-Visível.

2.4.1 Atividade enzimática

A atividade da enzima Manganês Peroxidase (MnP) foi determinada pela avaliação da oxidação do vermelho de fenol, na presença de manganês e peróxido de hidrogênio (Kuwahara et al., 1984). A reação foi realizada com 0,5 mL do sobrenadante (obtido através da centrifugação do filtrado - 3.000 xg por 10 min), 0,1 mL de $\text{C}_3\text{H}_5\text{NaO}_3$ 0,25 mol L^{-1} , 0,05 mL de MnSO_4 , 0,2 mL de albumina bovina 0,5%, 0,1 mL de $\text{C}_{19}\text{H}_{14}\text{O}_5\text{S}$ 0,1%, 0,05 mL de H_2O_2 em tampão succinato de sódio 0,2 mol L^{-1} (pH 4,5). A reação foi interrompida pela adição de 0,04 mL de NaOH 2,0 mol L^{-1} . O monitoramento foi realizado em espectrofotômetro Femto 800 XI, no comprimento de onda de 610 nm, durante 10 minutos.

A atividade da enzima Lacase (Lac.) foi determinada com siringaldazina, como substrato enzimático (Szklarz et al., 1989). A mistura da reação foi composta de 0,6 mL de sobrenadante; 0,2 mL de tampão citrato-fosfato 0,05 mol L^{-1} (pH 5,0), 0,1 mL de siringaldazina 0,1% em etanol e 0,1 mL de água deionizada. A oxidação da siringaldazina até quinona foi acompanhada por 10 minutos a 525 nm (espectrofotômetro Femto 800 XI)

A atividade de Lignina Peroxidase (LiP) foi determinada pelo método modificado de Tien & Kirk (1984), através da oxidação do álcool veratrílico. A mistura reacional foi composta por 250 μL de solução de álcool veratrílico (álcool veratrílico 0,008 mol L^{-1} em tampão de tartarato 0,1 mol L^{-1} a pH 3,0), 200 μL de H_2O_2 0,002 mol L^{-1} e 0,5 mL do sobrenadante. O monitoramento foi realizado em espectrofotômetro Femto 800 XI, no comprimento de onda de 310 nm, durante 10 minutos.

Todos os resultados de atividade enzimática foram calculados a partir da fórmula:

$$\textit{Atividade Enzimática (U)} = \frac{\Delta \textit{Absorbância} \times 10^6}{\epsilon \times R \times t}$$

Em que: Δ Absorbância = Absorbância final – Absorbância inicial; ϵ = coeficiente de absorção molar; R = volume (mL); 10^6 = conversão da medida para litro; t = tempo de reação (min.).

2.4.2 Extração e quantificação espectrofotométrica do carbofuran

Alíquotas de 50 mL do meio de cultura foram retiradas a cada 24 horas e submetidas a centrifugação (8.000 xg, 10 min). As células (*pellet*) e o sobrenadante resultantes foram separados e submetidos à extração líquido-líquido (ELL) com três alíquotas de 50 mL de clorofórmio. Os extratos orgânicos foram combinados, secos com sulfato de sódio anidro e evaporado a $40 \pm 1,0$ °C, em evaporador rotativo a vácuo (Solab, Modelo SL-126). O resíduo foi reconstituído em 1 mL de metanol (grau HPLC) e a concentração de carbofuran determinada por espectrofotometria UV-Visível, segundo metodologia de Tamrakar et al. (2007).

O rendimento foi calculado como a porcentagem da quantidade da biodegradação após 7 dias de incubação ($\mu\text{g mL}^{-1}$), em razão da concentração inicial. Todos os experimentos foram conduzidos em triplicatas.

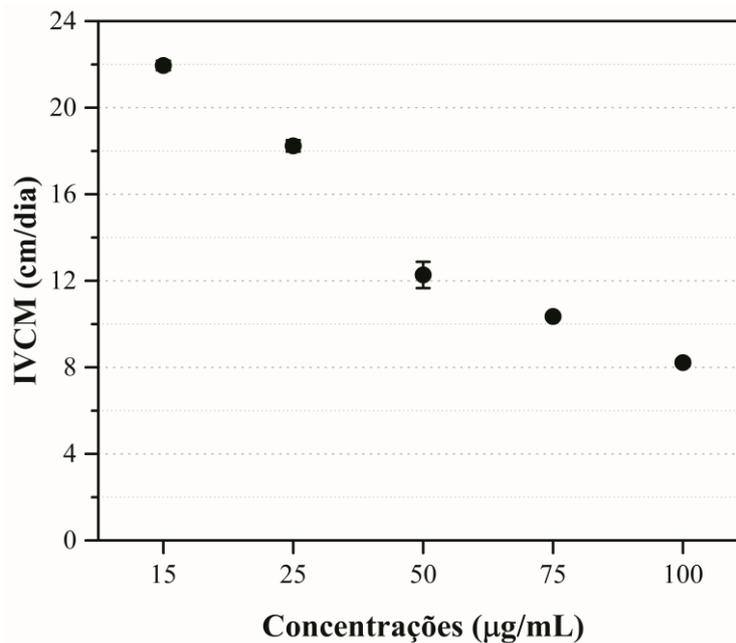
2.5 Análise estatística

Os dados foram tratados estatisticamente através de análise de variância e teste de Tukey ($p < 0,05$), utilizando o software Statistica versão 7.0 (Statsoft).

3. Resultados e Discussão

O potencial de tolerância do fungo *S. racemosum* ao carbofuran foi avaliado pelo Índice da Velocidade de Crescimento Micelial, durante sete dias de incubação, são mostrados na Figura 02.

Figura 02. IVCM em função da concentração de carbofuran (15 a 100 $\mu\text{g mL}^{-1}$).



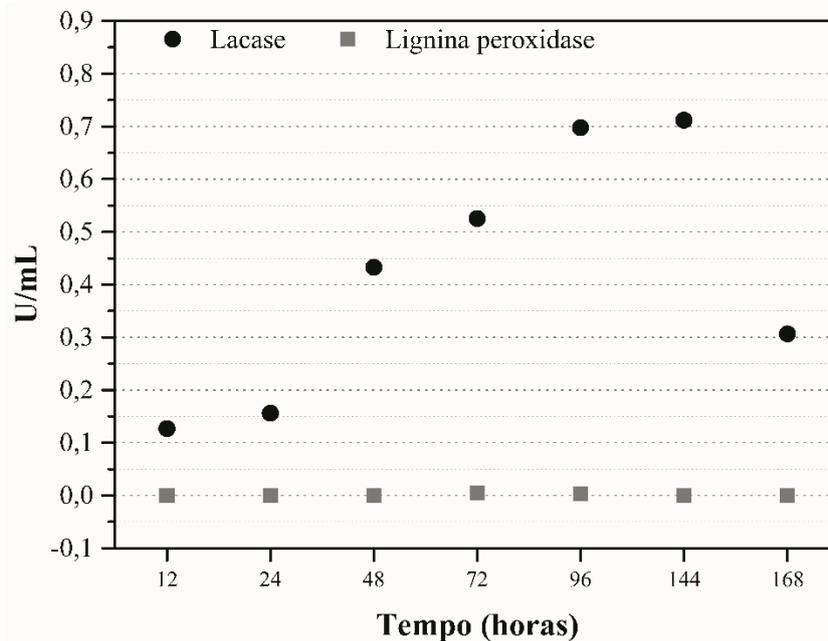
Fonte: Autor (2020).

O fungo *S. racemosum*, obteve uma média de velocidade de crescimento entre 8,25 a 21,95 cm dia^{-1} ($p < 0,05$), dependendo da concentração de carbofuran no meio reacional (Figura 02). No entanto, após os sete dias de avaliação foi verificado que concentrações superiores a 15 $\mu\text{g mL}^{-1}$, tendem a promover a diminuição dos valores de IVCM. Provavelmente, este fungo não esteja adaptado ao agrotóxico em estudo, e a sua presença pode ocasionar distúrbios nos processos energéticos, biossíntese, divisão mitótica ou baixa secreção de enzimas durante o desenvolvimento celular (Przystaś et al., 2018).

O estudo das taxas de crescimento de fungos é muito importante para avaliar a capacidade de colonização dos microrganismos. Uma vez que proporciona boa indicação da velocidade, com a qual o fungo, é capaz de colonizar um meio, quando submetido a condições de contaminação ambiental (Nyakundi et al., 2012).

Além das observações quanto as alterações no crescimento fúngico causada pelo carbofuran, também foi avaliado a presença de enzimas extracelulares oxidativas envolvidas na biorremediação. Nesta etapa experimental, os ensaios foram realizados na faixa de concentração que apresentou maior valor de IVCM, quanto a produção de lacase, lignina peroxidase e manganês peroxidase (Figura 03).

Figura 03. Produção de lacase e lignina peroxidase durante o processo de degradação biológica do carbofuran ($15 \mu\text{g mL}^{-1}$).



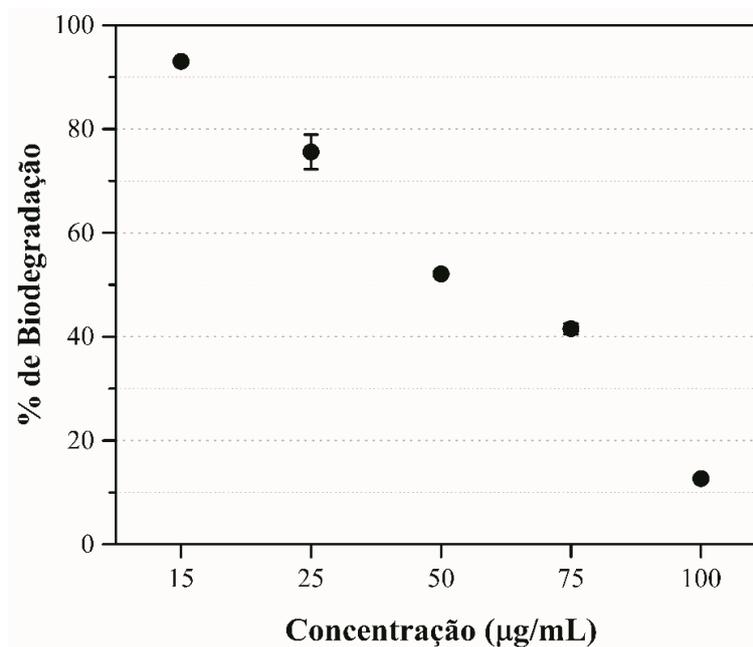
Fonte: Autor (2020).

Como pode ser observado no Gráfico 02, o *S. racemosum* apresentou produção das enzimas Lac. e LiP na presença de $15 \mu\text{g mL}^{-1}$ de carbofuran, com valor máximo de 0,712 e $0,005 \text{ U mL}^{-1}$, no período de 144 e 168 h, respectivamente. Desse modo, pode-se observar que o mecanismo enzimático apresentou comportamento não-linear, em função do tempo de incubação, atingindo produção máxima e acentuado decréscimo ao longo do tempo. A atividade MnP não foi detectado nas condições testadas, provavelmente pela possível inativação enzimática, modificações fisiológicas, tipo de substrato ou não fazer parte da manutenção do sistema fúngico.

De modo geral, a presença da Lac. em maior atividade no pool enzimático é bastante relevante, devido à baixa especificidade do substrato, catalisando a oxidação de compostos recalcitrantes, com a redução concomitante de oxigênio para a água como único subproduto, confirmando as potencialidades do fungo em processos de biorremediação (Singh et al., 2020).

Os resultados obtidos para taxa de biodegradação do carbofuran foram submetidos à análise de variância e comparação de médias utilizando o Teste de Tukey ($p < 0,05$), como mostra a Figura 04.

Figura 04. Porcentagem de biodegradação (%) em diferentes concentrações de carbofuran.



Fonte: Autor (2020).

A maior taxa de remoção foi obtida para o experimento utilizando $15 \mu\text{g mL}^{-1}$ de carbofuran, o qual apresentou redução de 93,02% da concentração inicial, em 7 dias de incubação (Figura 04). Corroborando com os resultados de IVCM, que consideraram esta concentração com a melhor adaptabilidade para o crescimento fúngico.

No entanto, com o aumento da concentração de carbofuran de 25 a $100 \mu\text{g mL}^{-1}$, a taxa de biodegradação apresentou redução de 12,66 a 75,58%, provavelmente por estar se aproximando do limite de tolerância máxima ao contaminante e aumento da inibição do seu crescimento.

A degradação do carbofuran por *S. racemosum* pode ser considerada como eficiente, principalmente ao comparar os resultados obtidos por Salama (1998) e Kaur & Balomajumder (2019). No primeiro estudo, o fungo *Aspergillus niger* apresentou 84,44 % de degradação, após 21 dias de tratamento. No segundo, o *Ascochyta* sp. foi capaz de metabolizar 44,57 % de carbofuran, na concentração de $70 \mu\text{g mL}^{-1}$, em 20 dias de incubação.

Desse modo, a capacidade de biorremediação do fungo *S. racemosum* pode ainda ser melhorada em novos estudos visando a indução de novas enzimas oxidativas e elucidação dos mecanismos de degradação do carbofuran.

4. Considerações Finais

A maior eficiência de biodegradação foi obtida no experimento contendo $15 \mu\text{g mL}^{-1}$ de carbofuran, IVCM de $21,95 \text{ cm dia}^{-1}$, lacase ($0,712 \text{ U mL}^{-1}$) e lignina peroxidase ($0,005 \text{ U mL}^{-1}$), em sete dias de tratamento. Estes resultados obtidos no estudo, sugerem que o *S. racemosum* apresenta características promissoras para o desenvolvimento de processos de biorremediação de áreas contaminadas com carbofuran.

Agradecimentos

Os autores agradecem à Universidade Estadual da Região Tocantina do Maranhão (UEMASUL) e a Fundação de Amparo à Pesquisa e ao Desenvolvimento Científico e Tecnológico do Maranhão (FAPEMA) pelo suporte financeiro.

Referências

Abdelhaleem, A., & Chu, W. (2019). Prediction of carbofuran degradation based on the hydroxyl radical's generation using the Fe (III) impregnated N doped-TiO₂/H₂O₂/Visible LED photo-fenton-like process. *Chemical Engineering Journal*, 382, 122930.

Agrofit. (2020). Sistema de consulta a agrotóxicos registrados no Brasil. Acesso em 22 maio, em http://agrofit.agricultura.gov.br/agrofit_cons/principal_agrofit_cons.

Castro-Gutierrez, V., Masís-Mora, M., Diez, M. C., Tortella, G. R., & Rodríguez-Rodríguez, C. E. (2017). Aging of biomixtures: effects on carbofuran removal and microbial community structure. *Chemosphere*, 168, 418-425.

Dangi, A. K., Sharma, B., Hill, R. T., & Shukla, P. (2019). Bioremediation through microbes: systems biology and metabolic engineering approach. *Critical Reviews in Biotechnology*, 39(1), 79-98.

Gomes, E. M. C. & Pena, R. da C. M. (2016). Isolamento, caracterização morfológica e avaliação do crescimento micelial e esporulação em diferentes meios de cultura de cepas do fungo *Quambalaria* sp. *Biota Amazônia*, 6(4), 59-63.

- Ibrahim, K. E. A., & Şolpan, D. (2018). Removal of carbofuran in aqueous solution by using UV-irradiation/hydrogen peroxide. *Journal of Environmental Chemical Engineering*, 7(1), 102820.
- Katembo, N., Witkowski, E. T., & Byrne, M. J. (2019). Effects of carbofuran on *Lantana camara* and its biocontrol agent, *Teleonemia scrupulosa*. *Biocontrol Science and Technology*, 29(8), 746-756.
- Kaur, P., Balomajumder, C. (2019). Simultaneous biodegradation of mixture of carbamates by newly isolated *Ascochyta sp.* CBS 237.37. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 169, 590-599.
- Kuwahara, M., Glenn, J. K., Morgan, M. A., & Gold, M. H. (1984). Separation and characterisation of two extracellular H₂O₂ dependent oxidases from ligninolytic cultures of *Phanerochaete chrysosporium*. *FEBS Letters*, 169, 247-250.
- Ma, L., Chen, S., Yuan, J., Yang, P., Liu, Y., & Stewart, K. (2017). Rapid biodegradation of atrazine by *Ensifer sp.* strain and its degradation genes. *International Biodeterioration & Biodegradation*, 116, 133-140.
- Nie, J., Sun, Y., Zhou, Y., Kumar, M., Usman, M., Li, J., Shao, J., Wang, L. & Tsang, D. C. W. (2019). Bioremediation of water containing pesticides by microalgae: mechanisms, methods, and prospects for future research. *Science of The Total Environment*, 707, 136080.
- Nyakundi, W. O., Magoma, G., Ochora, J., & Nyende, A. B. (2012). Biodegradation of diazinon and methomyl pesticides by white rot fungi from selected horticultural farms in Rift Valley and Central Provinces, Kenya. In: Scientific Conference Proceedings. 639-654.
- Popovska-Gorevski, M., Dubocovich, M. L., & Rajnarayanan, R. V. (2017). Carbamate insecticides target human melatonin receptors. *Chemical research in toxicology*, 30, 574-582.
- Przystaś, W., Godlewska, E. Z., & Sota, E. G. (2018). Efficiency of decolorization of different dyes using fungal biomass immobilized on different solid supports. *Environmental Microbiology*, 49, 285-295.

Ruíz-Hidalgo, K., Masís-Mora, M., Barbieri, E., Carazo-Rojas, E., & Rodríguez-Rodríguez, C.E. (2016). Ecotoxicological analysis during the removal of carbofuran in fungal bioaugmented matrices. *Chemosphere*, 144, 864-871.

Salama, A. K. M. (1998). Metabolism of carbofuran by *Aspegillus níger* and *Fusarium graminearum*. *Journal of Environmental Science and Health B*, 33(3), 253-266.

Singh, R. K., Tripathi, R., Ranjan, A., & Srivastava, A. K. (2020). Fungi as potential candidates for bioremediation. *Abatement of Environmental Pollutants*. 177-191.

Szklarz, G. D., Antibus, R. K., Sinsabaugh, R. L., & Linkins, A. (1989). Production of phenoxidases and peroxidases by wood-rootting fungi. *Mycologia*, 81, 234-240.

Tamrakar, U., Pillai, A. K., & Gupta, V. K. (2007). A simple colorimetric method for the determination of carbofuran and its application in environmental and biological samples. *Journal of the Brazilian Chemical Society*, 18(2), 337-341.

Tien, M., & Kirk, T. K. (1984). Lignin-degrading enzyme from *Phanerochaete chrysosporium*: purification, characterization and catalytic properties of a unique H₂O₂ requiring oxygenase. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 81(8), 2280-2284.

Porcentagem de contribuição de cada autor no manuscrito

Regiane Kessias de Sousa Lira – 50%

José Fábio França Orlanda – 50%