UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
"JÚLIO DE MESQUITA FILHO"
FACULDADE DE CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS
CÂMPUS DE ARARAQUARA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ENGENHARIA DE BIOMATERIAIS E BIOPROCESSOS
MESTRADO PROFISSIONAL

FITORREMEDIAÇÃO EM ÁGUAS CONTAMINADAS COM O HORMÔNIO ESTRIOL

LAIS CARINE CANDIDO LAZARO

ORIENTADOR: Prof. Dr. William de Melo Silva

ARARAQUARA – SP
2020

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
"JÚLIO DE MESQUITA FILHO"
FACULDADE DE CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS
CÂMPUS DE ARARAQUARA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ENGENHARIA DE BIOMATERIAIS E BIOPROCESSOS
MESTRADO PROFISSIONAL

FITORREMEDIAÇÃO EM ÁGUAS CONTAMINADAS COM O HORMÔNIO ESTRIOL

LAIS CARINE CANDIDO LAZARO

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Engenharia de Biomateriais e Bioprocessos (Mestrado Profissional), Área de Biomateriais, Bioprocessos, Bioprodutos da Faculdade de Ciências Farmacêuticas, UNESP, como parte dos requisitos para obtenção do Título de Mestre em Engenharia de Biomateriais e Bioprocessos.

ORIENTADOR: Prof. Dr. William de Melo Silva

ARARAQUARA - SP
2020

Lazaro, Lais Carine Candido.
L432f Fitorremediação em Águas Contaminadas com o Hormônio Estriol / Lais Carine Candido Lazaro. – Araraquara: [S.n.], 2020.
55 f. : il.

Dissertação (Mestrado Profissional) – Universidade Estadual Paulista. "Júlio de Mesquita Filho". Faculdade de Ciências Farmacêuticas. Programa de Pós Graduação em Engenharia de Biomateriais e Bioprocessos. Área de Biomateriais, Bioprocessos, Bioprodutos.

Orientador: William de Melo Silva.

1. Águas residuais. 2. Biorremediação. 3. *Eichhornia crassipes*. 4. Macrófita aquática. 5. Saúde. I. Silva, William de Melo, orient. II. Título.

Diretoria do Serviço Técnico de Biblioteca e Documentação - Faculdade de Ciências Farmacêuticas
UNESP - Campus de Araraquara

CAPES: 33004030170P0
Esta ficha não pode ser modificada

CERTIFICADO DE APROVAÇÃO

TÍTULO DA DISSERTAÇÃO: FITORREMEDIAÇÃO EM ÁGUAS CONTAMINADAS COM O HORMÔNIO ESTRIOL

AUTORA: LAIS CARINE CÂNDIDO LÁZARO

ORIENTADOR: WILLIAM DE MELO SILVA

Aprovada como parte das exigências para obtenção do Título de Mestra em ENGENHARIA DE BIOMATERIAIS E BIOPROCESSOS, área: Biomateriais, Bioprocessos, Bioprodutos pela Comissão Examinadora:

Prof. Dr. WILLIAM DE MELO SILVA (Participaçao Virtual)
Departamento de Bioprocessos e Biotecnologia / Faculdade de Ciências Agronômicas de Botucatu - UNESP
(Por meio de videoconferência)

Dra. KATIANE REIS MENDES (Participaçao Virtual)
Departamento de Botânica / Instituto de Biociências de Botucatu (IBB) – Câmpus de Botucatu-UNESP

Prof. Dr. SÉRGIO CAMPOS (Participaçao Virtual)
Engenharia Rural e Socioeconomia / Faculdade de Ciências Agronômicas de Botucatu - UNESP

Araraquara, 14 de outubro de 2020

Dedicatória

Aos meus pais pelo apoio na realização deste trabalho.

Ao meu professor orientador pela oportunidade.

Aos técnicos Firmo, Marcelo e Martin pelo auxílio nas etapas experimentais.

Aos meus amigos Katiane e Mateus que não mediram esforços para me auxiliar na quarentena.

Agradecimentos

Dizer obrigado, às vezes, não é suficiente para agradecer.

Agradecimento ao apoio da secretaria do Programa de Pós-Graduação de Engenharia de Biomateriais e Bioprocessos da Faculdade de Ciências Farmacêuticas (FCFAR).

Em especial, agradeço a bolsa de estágio financiada pela Organização Pan-Americana da Saúde (OPAS) e Fundação Nacional de Saúde (FUNASA).

Aos meus pais, Cássio Lazaro e Elza Candido, e minha irmã, Ligia Caroline Candido Lazaro, que me incentivaram nos momentos difíceis e compreenderam a minha ausência enquanto eu me dedicava à realização deste trabalho.

Ao meu orientador, William de Melo Silva, sempre disponível a compartilhar todo o seu vasto conhecimento, sou grata pela oportunidade e empenho dedicado para a realização deste trabalho. Obrigada pelas críticas que contribuíram extremamente para o meu crescimento pessoal e profissional.

Aos professores Ivana Cesarino e Hélio Grassi, pelas correções e ensinamentos que me permitiram apresentar um melhor desempenho no meu processo de formação profissional ao longo do curso.

Aos amigos, que sempre estiveram ao meu lado, pela amizade incondicional e pelo apoio demonstrado ao longo de todo o período de tempo em que me dediquei a este trabalho.

Ao Departamento de Bioprocessos e Biotecnologia da Faculdade de Ciências Agronômicas da UNESP de Botucatu, pelo acolhimento. À secretária Raquel F. Rubio, por não medir esforços em me ajudar sempre que possível e solicitada. À Eva Lucia pelo empréstimo de seus materiais de trabalho.

Aos técnicos Martin, Marcelo, Firmo e Jackson por compartilharem tempo, amizade e conhecimento.

A todos os colegas e funcionários do IBTEC, que foram essenciais em boa parte da realização deste projeto.

Aos meus colegas de turma, por todo o companheirismo ao longo deste percurso.

Aos meus amigos Katiane e Mateus por toda ajuda emocional e motivacional para a conclusão deste trabalho no período de quarentena.

Por fim, a todos que participaram, direta ou indiretamente do desenvolvimento deste trabalho de pesquisa, enriquecendo o meu processo de aprendizado.

Resumo

A fitorremediação é uma técnica que se baseia no cultivo de plantas para assimilar e remover poluentes da água, do solo e do ar. Nesse processo, os vegetais devem atender a alguns requisitos, como alta biomassa, crescimento rápido e alto acúmulo de nutrientes. *Eichhornia crassipes*, vulgarmente conhecida como aguapé, é uma espécie de macrófita aquática flutuante, que tem como característica rápida proliferação, adaptação a diferentes condições ambientais e grande capacidade de absorção de nutrientes. Nos últimos anos, vários produtos farmacêuticos tornaram-se contaminantes emergentes, devido à sua liberação contínua em ambientes aquáticos através de várias maneiras, o que apresenta ameaças potencialmente sérias à saúde e ao ecossistema humano. Esses produtos são descartados e excretados em altas concentrações como metabólitos ativos e pode ter como destino sistemas de coleta de águas de mananciais. Dentre as classes de medicamentos, existem os hormônios esteroides naturais e sintéticos, nos quais encontra-se o estriol (estrogênio mais abundante nos mamíferos no período de gestação). Em formas conjugadas, presentes na urina, são rapidamente hidrolisadas, regenerando-o em sua forma livre e, consequentemente, transformando esse hormônio em poluente da água, o que pode representar uma ameaça para os seres humanos e organismos aquáticos. O objetivo deste trabalho foi desenvolver um sistema de pequena escala para a análise da eficiência de *E. crassipes* no processo de fitorremediação na presença do estriol em água, utilizando técnica de morfologia vegetal e Inteligência Artificial. Para isso, espécimes de aguapés foram coletados em um lago particular localizado no Bairro Chácara de Recreio Jardim Alvorada, Botucatu/SP e transferidas para vasos de polipropileno transparentes com 50 L, onde foram analisadas amostras para a observação de alterações morfo-anatômicas (tamanho da folha, pecíolo, raiz, pelos radiculares, massa fresca e caracterização anatômica dos tecidos). Dentre as variáveis analisadas, o tamanho do pelo radicular apresentou significativa diferenciação, uma vez que é a região de maior absorção da planta vegetal fitorremediadora. Posteriormente, foram coletadas imagens amostrais das raízes, para um treinamento e uma avaliação do poder de generalização de um modelo de Inteligência Artificial. Este demonstrou uma margem de erro, porém a tecnologia é algo relevante para facilitar análises de tamanhos de pelos radiculares de raízes expostas ao estriol. Com isso, a planta *E. crassipes* demonstrou um promissor potencial de fitorremediação em sistemas de águas contaminadas com o hormônio estriol, se mostrando uma espécie importante em processos de fitorremediação.

Palavras-chave: Águas residuais; Biorremediação; *Eichhornia crassipes*; Macrófita aquática; Saúde.

Abstract

Phytoremediation is a technique based on growing plants to assimilate and remove pollutants from water, soil and air. In this process, vegetables must meet certain requirements, such as high biomass, rapid growth and high accumulation of nutrients. Eichhornia crassipes, commonly known as water hyacinth, is a species of floating aquatic macrophyte, whose characteristic is rapid proliferation, adaptation to different environmental conditions and great capacity for absorption of nutrients. In recent years, several pharmaceutical products have become emerging contaminants, due to their continued release into aquatic environments through various ways, which presents potentially serious threats to health and the human ecosystem. These products are discarded and excreted in high concentrations as active metabolites and may be destined for spring water collection systems. Among the classes of drugs, there are the natural and synthetic steroid hormones, in which estriol (the most abundant estrogen in mammals during pregnancy) is found. In conjugated forms, present in the urine, they are rapidly hydrolyzed, regenerating it in its free form and, consequently, transforming this hormone into a water pollutant, which can pose a threat to humans and aquatic organisms. The objective of this work was to develop a small-scale system for the analysis of the efficiency of E. crassipes in the phytoremediation process in the presence of estriol in water, using the technique of plant morphology and Artificial Intelligence. For this, water hyacinth specimens were collected in a private lake located in the Chácara de Recreio Jardim Alvorada neighborhood, Botucatu/SP and transferred to 50 L transparent polypropylene vases, where samples were analyzed for the observation of morpho-anatomical changes (size of the leaf, petiole, root, root hair, fresh mass and anatomical characterization of tissues). Among the variables analyzed, the size of the root hair showed significant differentiation, since it is the region of greatest absorption of the phytoremediation plant. Subsequently, sample images of the roots were collected for training and an assessment of the generalization power of an Artificial Intelligence model. This demonstrated a margin of error, but the technology is relevant to facilitate analysis of root hair sizes of roots exposed to estriol. With this, the *E. crassipes* plant demonstrated a promising phytoremediation potential in water systems contaminated with estriol, showing itself to be an important species in phytoremediation processes.

Keywords: Aquatic macrophyte; Bioremediation; *Eichhornia crassipes*; Health; Wastewater.

Lista de Figuras

Figura 1. Adsorção de sólidos em suspensão para as raízes de Salvinia molesta D.S.Mitch.. 18
Figura 2. Salvinia biloba Raddi 22
Figura 3. Tricomas localizados nas folhas da espécie *Salvinia biloba* (aumento de 10x).....22
Figura 4. Eichhornia crassipes 25
Figura 5. Caixa plástica com suporte e planta 30
Figura 6. Suporte para planta 30
Figura 7. Lago com aguapés (*Eichhornia crassipes*).....31
Figura 8. Imagem da raiz sem estriol (a) e com estriol (b). 33
Figura 9. Fluxograma do processo de biorremediação em escala laboratorial 34
Figura 10. Cortes transversais foliar, peciolar e da raiz, após 7 dias em tratamento. A, C e E: Controle; B, D e F: com estriol. A e B: Folha; C e D: Pecíolo, região inflada; E e F: Raiz, região pilífera. 36
Figura 11. Impressões paradérmicas foliares. A e C: Controle; B e D: com estriol. A e B: abaxial; C e D: face adaxial. 37
Figura 12. Cortes transversais foliar e da raiz, após 14 dias em tratamento. A e C: Controle; B e D: com estriol. A e B: Folha; C e D: Raiz, região pilífera. 38
Figura 13. Planta após 21 dias em tratamento. A e B: Planta; C e D: Raiz; E e F: Folha; A, B e C: Controle; B, D e F: com estriol. 39
Figura 14. Planta após 21 dias em tratamento. A e B: Folha; C e D: Pecíolo; E e F: Raiz; A, B e C: Controle; B, D e F: com estriol. A e B: Folha 10x; C e D: Pecíolo, região inflada 10x; E e F: Raiz, região pilífera 20x. 40

Lista de Tabelas

Tabela 1. Valores médios (± desvio-padrão) da morfologia externa de *E. crassipes* com e sem estriol. 37

Lista de Gráficos

Gráfico 1. Estabelece a relação entre o valor da acurácia e a *epoch*. 39

Gráfico 2. Relação entre Loss e Epoch do modelo. 40

Lista de Siglas

Al	Alumínio
NA	Nitrogênio Amoniacal
As	Arsênio
Ba	Bário
Cd	Cádmio
Cl	Cloro
Co	Cobalto
Cr	Cromo
Cs	Césio
Cu	Cobre
$CuSO_4$	Sulfato de Cobre
DBO	Demanda Bioquímica de Oxigênio
DQO	Demanda Química de Oxigênio
Hg	Mercúrio
K	Potássio
Mn	Manganês
N	Nitrogênio
NH_3	Amoníaco
NH_4	Amônia
Ni	Níquel
P	Fósforo
Pb	Chumbo
ph	Potencial Hidrogeniônico
PPCPs	*Pharmaceuticals and Personal Care Products*
S	Enxofre
Sb	Antimônio
Se	Selênio
Sn	Estanho
Sr	Estrôncio
TDS	*Total Dissolver Sólids*
Ti	Titânio
TN	*Total Nitrogen*
TP	*Total Phosphorus*

TS	Total de Sólidos
TSS	Total de Sólidos em Suspensão
V	Vanádio
Zn	Zinco

Sumário

1. Introdução 13

2. Objetivo 17

2.1. Objetivos específicos 17

3. Revisão da Literatura 18

3.1. Tipos de Wetlands construídas 19

3.2. Vantagens e Desvantagens da Fitorremediação 20

3.3. Tipos de poluentes 21

3.4. Estriol 23

3.5. Eichhornia crassipes (Mart.) Solms 24

3.6. Inteligência Artificial 27

4. Material e Métodos 29

4.1. Área de Estudo 29

4.2. Aparato experimental: dispositivo de fitorremediação 29

4.3. Material Vegetal 31

4.4. Análise da Morfologia Interna 31

4.5. Análise da Morfologia Externa 32

4.6. Testes histoquímicos 32

4.7. Testes Estatísticos 32

4.8. Classificação de Imagens por meio da Inteligência Artificial 32

4.8.1. Criação do *Dataset* 34

4.9. Fluxograma da Metodologia 34

5. Resultados e Discussão 35

6. Conclusões 45

Referências 46

1. Introdução

A degradação dos recursos naturais do mundo está rapidamente ultrapassando a capacidade do planeta de absorver os danos. Isso se deve principalmente às extensas atividades antropogênicas que, juntamente com eventos naturais inevitáveis, levaram à deposição de um excesso de substâncias orgânicas e inorgânicas no meio ambiente, transformando essa questão em uma preocupação global alarmante (BEHERA *et al.*, 2018).

Nos últimos anos, o conhecimento de gestão da qualidade da água progrediu rapidamente, uma vez que se tornou um interesse primordial de pesquisa devido ao aumento exponencial dos problemas de poluição da água (VIKRANT *et al.*, 2018).

A biorremediação é um método utilizado para transformar e degradar poluentes que envolvem o uso de plantas e/ou microrganismos. As tecnologias *in situ* (no local de tratamento) e *ex situ* (remoção da área poluída para ser tratado em outro local), são aplicadas de acordo com as avaliações do custo, características do local, o tipo e concentração de poluentes. As técnicas de biorremediação envolvem processos que exploram a remediação de poluentes utilizando microrganismos nativos da região contaminada. No entanto, existem processos que envolvem a aplicação de fluxo de ar, a fim de aumentar a atividade microbiana (DE LIMA *et al.*, 2018).

Alguns métodos de biorremediação *in situ* com microrganismos são os mais utilizados: atenuação natural, bioestimulação e bioaugmentação. A atenuação natural ocorre com os microrganismos nativos e é considerada lenta, a bioaumentação é quando microrganismos específicos são introduzidos no ambiente poluído e a biestimulação é usada para modificar os parâmetros físicos e químicos para acelerar o processo de biorremediação (DZIONEK; WOJCIESZYŃSKA; GUZIK, 2016).

Os microrganismos e as plantas utilizam enzimas, ou seja, macromoléculas biológicas complexas que atuam como catalisadores de várias reações bioquímicas na degradação de poluentes no processo de biorremediação. Alguns exemplos são as oxirredutases, lacases, hidrolases e peroxidases que muitas vezes são isoladas para obtenção de um melhor resultado, pois são produzidas em baixa quantidade em condições naturais (SHARMA; PANT, 2018).

Os microrganismos na biorremediação são diferenciados com base na fonte de carbono de que precisam. Os autótrofos são capazes de sintetizar seus próprios alimentos, utilizando a presença de substâncias inorgânicas como na fixação do carbono inorgânico, já os heterotróficos destroem ou imobilizam a matéria orgânica não viva para produzir carbono e construir suas próprias células (JASMIN *et al.*, 2020).

Segundo Wu *et al.* (2015), materiais orgânicos solúveis provavelmente aumentam a atividade bacteriana em sedimentos de lagos, o que auxilia na biorremediação. A remoção de matérias orgânicas de resíduos sólidos é relativamente fácil usando meios biológicos, químicos e físicos. No entanto, a degradação de matérias inorgânicas, especialmente aqueles compostos contendo metais pesados, é geralmente difícil. Uma técnica conhecida como biolixiviação usa microrganismos para solubilizar óxidos e sulfetos metálicos, às vezes chamado de biossolubilização, é ecologicamente correto, simples e de baixo custo, desde que o lixiviado seja contido, de forma que, água residual ácida seja neutralizada antes de ser descarregada (GU *et al.*, 2018).

Biofilmes são estruturas tridimensionais de várias bactérias que aderem as superfícies bióticas ou abióticas. Contribuem para o condicionamento bacteriano aumentando a aderência a várias superfícies, proteção contra predação, dessecação, proteção de ataques e contra a fome por meio do armazenamento de carbono (KASSINGER; VAN HOEK, 2020). As substâncias poliméricas extracelulares (EPS) são os principais componentes macromoleculares em coleções microbianas e tem como característica formação sustentável de biofilme. As paredes celulares da biomassa microbiana desempenham um papel significativo na biossorção de metais pesados e é considerada uma alternativa para a remoção destes. O estudo elucida a eficiência do EPS de diferentes microrganismos e define os fungos como os mais eficazes (RAJ *et al.*, 2018).

Os sedimentos presentes em ambientes aquáticos poluídos abrigam um ecossistema microbiano complexo que auxilia na degradação da poluição acumulada (LI *et al.*, 2017). Raízes de plantas podem promover o crescimento de grupos bacterianos específicos e criar comunidades bacterianas bem definidas ao redor da rizosfera, e assim auxiliar na biodegradação de poluentes como herbicidas (QU *et al.*, 2018). Vários estudos indicam plantas que atuam como uma superfície para a colonização microbiana e uma fonte de carbono para os micróbios, que então absorvem e utilizam nutrientes adicionais da água (XIAO *et al.*, 2016). Esse mecanismo define a planta como um biofiltro vegetal (suporte) e a adsorção dos microrganismos como biofilme. Desta forma, este biofilme preso às raízes, associado à colheita das plantas para remoção os poluentes tem sido uma abordagem atraente, pois é fácil de operar, custo efetivo, e possui valor estético visual (XIAO *et al.*, 2013).

Muitos microrganismos são capazes de biodegradar diferentes poluentes (DZIONEK; WOJCIESZYŃSKA; GUZIK, 2016). As microalgas possuem locais de ligações ativas que podem formar complexos com poluentes em águas residuais. Esse processo leva à floculação e consequentemente reduz o conteúdo de sólidos totais dissolvidos e sólidos totais em suspensão

(LEONG; CHANG, 2020). Segundo LIU *et al.* (2017), bactérias e fungos tratam a poluição combinada de hidrocarbonetos aromáticos policíclicos (HAP) e metais pesados. Isolados de protozoários e bactérias demostraram capacidade de tolerância a níquel, porém os protozoários ainda são pouco estudados para biorremediação (KAMIKA; MOMBA, 2011).

Um estudo mostrou que a biomassa de sementes de pimenta descartada pode ser uma alternativa para a biorremediação de corante e para a produção de biodiesel de maneira sustentável, pois se apresentou como material altamente eficiente e de baixo custo (DENIZ, 2019).

A eutrofização é um processo através do qual um corpo de água está contaminado com elevado índice de nutrientes, especificamente fosfatos e nitratos, provocando o posterior acúmulo de matéria orgânica em decomposição. Os métodos para tratar esse tipo de poluição são as técnicas: físicas, que são consideradas caras (como remover a lama do fundo); químicas, com alto risco de poluição secundária e; ecológicas, que possuem efeitos colaterais mínimos, fácil manejo e custo relativamente baixo (LU *et al.*, 2014).

A aquicultura consiste no estudo de técnicas para cultivo de diversos organismos que vivem em ambientes aquáticos, como peixes (também chamado de piscicultura), crustáceos, moluscos e algas para o consumo humano. Grande quantidade de resíduos é gerada por meio de alimentos enriquecidos com nitrogênio e fósforo utilizados para aumentar a produção, de forma que, a poluição nestes ambientes se torna preocupante, devido ao acúmulo de nutrientes, processo chamado de eutrofização (NI *et al.*, 2018).

O cultivo de plantas aquáticas para assimilar e remover nutrientes da água é uma abordagem atraente, visto que, possui crescimento rápido e eficiência na remoção de nitratos e fosfatos da água eutrófica. No entanto, altas concentrações destas substâncias são potencialmente tóxicas para as plantas e alterar suas características fisiológicas, de forma que, é importante monitorar a atividade da enzima peroxidase (defesa contra oxidantes) presente nas plantas para avaliar sua capacidade de resistir a danos antioxidantes (LI *et al.*, 2009).

Como dito anteriormente, a fitorremediação utiliza plantas para retirar poluentes do meio ambiente (XU *et al.*, 2019). No entanto, as plantas usadas para fitorremediação devem atender aos requisitos, como alta biomassa, crescimento rápido e alto acúmulo de nutrientes, além disso, a aplicação deste método é limitada pela sua profundidade de limpeza (profundidade de purificação da superfície da água), que é rigorosamente determinada pelo comprimento da raiz da planta (QIN *et al.*, 2016).

O acúmulo de algas nos ambientes aquáticos afeta, de forma negativa, o desenvolvimento de macrófitas submersas e sua fauna associada, ou seja, impedem que a luz passe e atinja as plantas, o que dificulta ou impossibilita o processo de fotossíntese (ZHANG *et al.*, 2014).

O tratamento flutuante *wetlands* (FTWs), como uma variante inovadora de *wetlands* construídos, que é feito com o uso de plantas em uma plataforma na superfície da água, tem sido bem aplicado para melhoria da qualidade de águas pluviais, poluídas, eutróficas e efluentes secundários devido ao baixo custo, não ocupando nenhuma área adicional (GAO *et al.*, 2017).

2. Objetivo

Desenvolver um sistema teste, a fim de analisar a eficiência de *Eichhornia crassipes* no processo de fitorremediação com o poluente estriol.

2.1. Objetivos específicos

- Realização de cortes anatômicos (raiz, folha e caule) e testes histoquímicos para identificar a localização do hormônio na planta.
- Comparação morfométrica da folha, pecíolo, raízes e pelos radiculares nos dois tratamentos.
- Uso de um modelo de inteligência artificial, a fim de identificar as possíveis diferenças das raízes com e sem estriol.

3. Revisão da Literatura

A fitorremediação é reconhecida como um processo de biorremediação que faz uso de plantas para tratar e controlar poluentes orgânicos e inorgânicos na água, no solo e no ar (XU *et al.*, 2019).

Plantas possuem a capacidade de sobreviverem em áreas poluídas e facilitar a remoção de poluentes do meio ambiente. Os estudos científicos e o desenvolvimento relevante das habilidades dos vegetais foram realizados desde o início dos anos 80 (PAZ-ALBERTO; SIGUA, 2013).

A fitorremediação é uma tecnologia antiga, porém este termo tem sido muito difundido ultimamente, onde microrganismos izosféricos servem paraimobilizar (fitoestabilização), remover (fitoextração), evaporar (fitovolatilização) ou degradar (fitodegradação, rizodegradação) poluentes do solo, meio aquático e atmosfera (KÖSESAKAL *et al.*, 2016; PLACEK *et al.*, 2016).

As plantas aquáticas também impedem o desenvolvimento de ondas de vento ou formação de ondas superficiais, fazendo com que o fluxo de águas residuais no sistema de tanques seja calmo, silencioso e com velocidade e turbulência reduzida, promovendo sedimentação e resultando em redução da ressuspensão dos sedimentos de fundo (NG; CHAN, 2017).

A Figura 1 ilustra a absorção de sólidos presentes na água pelas raízes da planta aquática *Salvinia molesta* D. S. Mitch.



Figura 1. Adsorção de sólidos em suspensão para as raízes de *Salvinia molesta* D. S. Mitch.

Fonte: (NG; JUINN; CHAN, 2017)

De acordo com o que é prescrito na literatura, as plantas utilizadas em fitorremediação são, em grande parte, de rápido crescimento, com características de remoção de nitrogênio e fósforo (substâncias utilizadas para seu desenvolvimento) presente em águas residuais. Alguns exemplos são: *Eichhornia crassipes*, também conhecida como aguapé (WANG *et al.*, 2013), espécies de Lemnaceae, conhecidas como lentilhas d'água (SHAMMOUT; ZAKARIA, 2015), extrato das folhas e cascas de *Moringa oleífera* Lam., árvore que apresenta também, potencial de biorremediação de metais pesados (GEORGE *et al.*, 2016) e também as espécies *Atriplex canescens* (Pursh) Nutt. e *Sarcobatus vermiculatus* (Ou.) Torr. (JORDAN *et al.*, 2008).

3.1. Tipos de Wetlands construídas

As *wetlands* ou zonas úmidas construídas são simples e de baixo custo sistemas de tratamento de águas residuais que utilizam processos naturais utilizando leitos ou canais rasos (geralmente com menos de 1 m de profundidade), helófitos, substrato (solo, areia e cascalho) e uma variedade de microrganismos para melhorar a qualidade das águas residuais, com a capacidade de reduzir contaminantes pelos tratamentos tradicionais incluindo sedimentação, filtração, precipitação química, adsorção, interações microbianas e absorção ou transformação por helófitos. A eficiência do tratamento destes sistemas depende principalmente de um desenvolvimento de um projeto da zona úmida, taxa de carregamento, tipo de contaminante, interações microbianas e os fatores climáticos. Para melhor eficiência do tratamento, esses sistemas requerem uma baixa taxa de carga hidráulica e um longo tempo de retenção hidráulica (CHOUDHARY; KUMAR; SHARMA, 2011).

As *wetlands* construídas são classificadas como Sistema de fluxo subterrâneo, na qual a profundidade do fluxo de água em contato com raízes e substratos é de 0,3 a 0,9 m. Este sistema fornece um ambiente para a proliferação microrganismos e para a remoção de poluentes, *Junco comum* é um exemplo de planta usada em sistemas de fluxo subterrâneo. Este tipo de sistema pode ser subdividido em: i) Sistema de fluxo horizontal, onde a água flui horizontalmente através do leito com cascalhos que auxiliam na filtragem da água, possui uma profundidade de 0,3 a 0,9 m, com vazão de 0,05 a 0,1 metros cúbicos, *Phragmites australis* é uma espécie utilizada nesse tipo de sistema; ii) Sistema de fluxo vertical, o qual o fluxo tem sentido para baixo através de um leito de substratos e não é inundado permanentemente (HUSSAIN *et al.*, 2018). Existem também os sistemas híbridos que são uma combinação de Sistema de fluxo subterrâneo horizontais e verticais para a remoção de nitrogênio e nitratos (VYMAZAL, 2013).

O tratamento flutuante com *wetlands* contruídas, como uma variante inovadora de *wetlands* construídos, que é feito com o uso de plantas em uma plataforma em na superfície da água, tem sido bem aplicado para melhoria da qualidade da água de águas pluviais, águas poluídas, águas eutróficas e efluentes secundários devido ao baixo custo, não ocupando nenhuma área adicional (GAO *et al.*, 2017).

3.2. Vantagens e Desvantagens da Fitorremediação

A principal vantagem oferecida por estes sistemas é a grande superfície de contato que as raízes têm com a água residual, o que permite uma grande atividade de purificação da matéria orgânica juntamente com os microrganismos aderidos à referida superfície. No entanto, o acúmulo de bactérias nas raízes de macrófitas pode transformar a biomassa em uma fonte de contaminação, nesse caso é necessário o manejo cuidadoso da cultura (PAVLINERI; TH; TSIHRINTZIS, 2017), isso torna o processo mais caro em termos de mão-de-obra (TING *et al.*, 2018). Outra desvantagem é a proliferação de mosquitos como vetores transmissores de doenças (MA; HUANG; LENG, 2016), o que condiciona a localização dos sistemas longe dos centros povoados.

Entre as limitações dos sistemas de macrófitas flutuantes está a capacidade limitada de acumular poluentes. Isso os força a fazer retiradas periódicas para permitir o crescimento de plantas emergentes e aperfeiçoar a captura de alguns componentes de águas residuais. Possíveis usos de biomassa têm sido relatados na literatura, tais como incorporação como fertilizante no solo ou composto, fabricação de papelão, produção de combustível, ou também o uso como material absorvente para corantes e metais pesados (TING *et al.*, 2018a).

É essencial empregar plantas jovens e saudáveis no processo de fitorremediação para melhor aproveitamento da purificação da água, já que há maior capacidade de raízes de plantas jovens de absorver contaminantes e liberar oxigênio para o suporte microbiano do que de plantas antigas (VALIPOUR; RAMAN; AHN, 2015).

Em termos de competitividade com sistemas convencionais de tratamento, é necessário não apenas entender a operação, mas também aprimorá-la. Este é o sucesso dos sistemas naturais de tratamento de águas residuais (TING *et al.*, 2018a).

3.3. Tipos de poluentes

A poluição do meio ambiente é produzida pela incorporação de qualquer tipo de energia, organismo ou substância, que afeta as características dos ecossistemas, modificando negativamente suas propriedades e sua capacidade de assimilá-las ou degradá-las. Sua entrada é feita como resultado de atividades antropogênicas, embora também possa ocorrer naturalmente. Em geral, os poluentes são classificados como orgânicos e inorgânicos. São considerados poluentes orgânicos os hidrocarbonetos aromáticos policíclicos (PAH's), PPCP's, dioxinas, solventes clorados, compostos aromáticos usados na produção de corantes, explosivos, pesticidas (herbicidas, inseticidas e fungicidas), surfactantes. Em comparação com compostos inorgânicos, estes poluentes são menos tóxicos para as plantas, uma vez que são menos reativos e se acumulam em menor grau (CHERIAN; OLIVEIRA, 2005).

Os contaminantes inorgânicos segundo DELGADILLO-LÓPEZ; GONZÁLEZ-RAMÍRES (2011), incluem metais pesados como Co, Cr ou Cu, elementos não metálicos como As e B e radio nuclídeos como ^{60}Co e ^{137}Cs. Alguns oligo elementos são importantes para o crescimento de plantas e animais. A toxicidade destes elementos depende da concentração, da forma química e da sua persistência. Os tipos de mecanismos envolvidos na remoção de poluentes são físicos (sedimentação, filtração, adsorção, volatilização), químico (precipitação, hidrólise, óxido-redução ou reações fotoquímicas) e biológico (resultado do metabolismo microbiano, metabolismo vegetal ou processos de bioabsorção).

As motivações desta pesquisa estão diretamente relacionadas com a busca e abordagem sobre os diferentes gêneros de plantas com capacidade de fitorremediação, com a finalidade de conseguir estimar a escolha da melhor planta com relação ao poluente crítico presente no meio aquático em questão. As Figuras 2 e 3 ilustram um exemplo de uma espécie e seu poluente (Pb) que é fisiologicamente visível (as setas indicam sinais de necrose nas folhas) (CASTILLO LORÍA *et al.*, 2019).

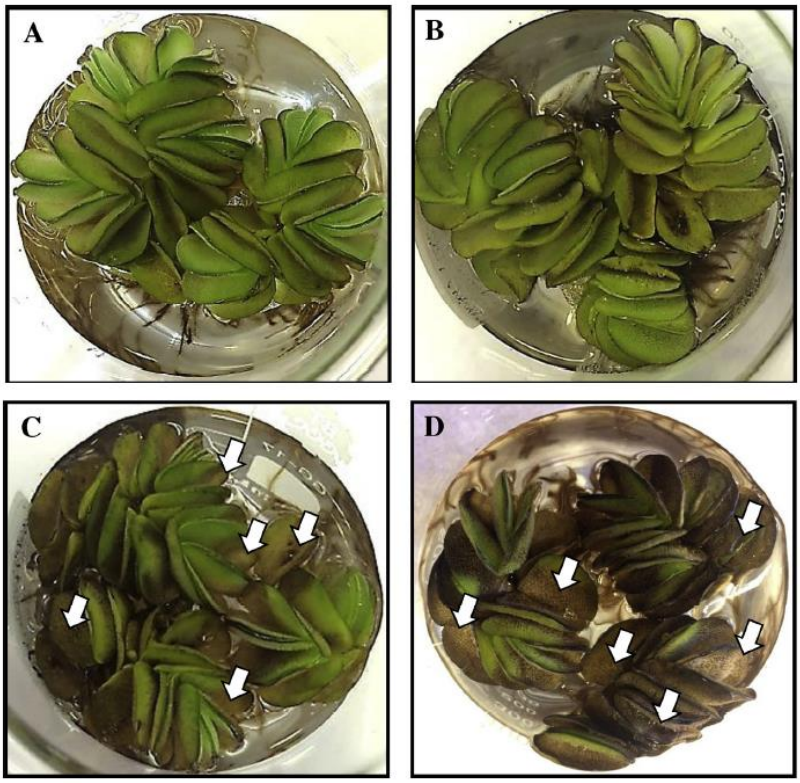


Figura 2. *Salvinia biloba* Raddi

Fonte:

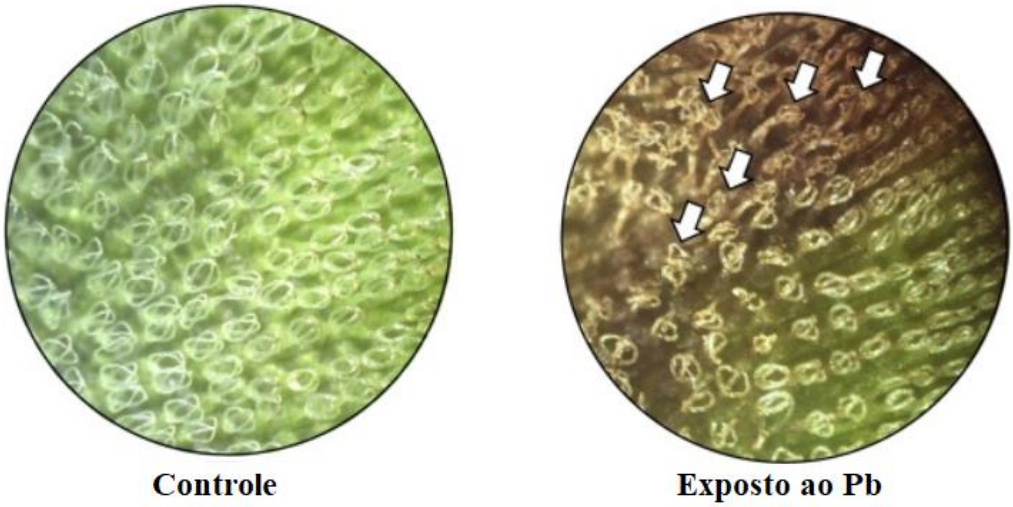


Figura 3. Tricomas localizados nas folhas da espécie *Salvinia biloba* (aumento de 10x)

Fonte: Castillo Loría *et al.* (2019).

Os produtos farmacêuticos tornaram-se contaminantes emergentes, devido à sua liberação contínua em ambientes aquáticos através de várias maneiras (DESBIOLLES *et al.*, 2018). Compostos farmacêuticos são descartados e excretados em altas concentrações como metabólitos ativos e têm como destino sistemas de coleta de águas residuais (FEKADU *et al.*, 2019). Dentre as classes de medicamentos, existem os hormônios esteroides naturais e sintéticos (OLATUNJI *et al.*, 2017), nos quais encontra-se o estriol (estrogênio mais abundante nos mamíferos prenhes) que em formas conjugadas são rapidamente hidrolisadas, regenerando-o em sua forma livre e, consequentemente, transformando esse hormônio em poluente da água, o que pode representar uma ameaça para os seres humanos e organismos aquáticos (GOMES *et al.*, 2019). O estriol é um estrogênio intracelular e desregulador endócrino que pode ser vendido como remédio para regulação hormonal de mulheres no período de gravidez, que não produzem esse hormônio. Devido à descarga de águas residuais, excreções humanas e animais e resíduos médicos, esse poluente é encontrado em águas superficiais e pode interferir nas funções normais dos hormônios, afetar a reprodução e o desenvolvimento de organismos aquáticos e ameaçar a saúde tanto das vidas aquáticas quanto dos seres humanos (DONG *et al.*, 2019).

3.4. Estriol

O estriol é um hormônio esteróide encontrado em mamíferos no periodo de gravidez e é considerado importante nos ciclos menstruais e reprodutivos das mulheres. É vendido como remédio para o tratamento de doenças urogenitais, menopausa e está presente em pílulas contraceptivas, uma vez ingerido é parcialmente eliminado pela urina, ou como outros medicamentos é descartado de forma indevida. Esse hormônio, consequentemente, é levado para as vias fluviais o que ocasiona um problema no suprimento de água, pois o tratamento de água não fornece sua degradação completa. Na água em forma de poluente se torna nocivo por interferir na função dos hormônios no corpo humano, além de afertar a vida aquática (DONINI *et al.*, 2018; GOMES *et al.*, 2019).

As fontes comuns desses estrogênios incluem a excreção humana, resíduos de animais, produtos farmacêuticos e efluentes de estações municipais de tratamento de águas residuais (RAMÍREZ-SÁNCHEZ *et al.*, 2017). Nos organismos aquáticos, leva ao câncer, indução de vitelogenina, órgãos reprodutivos feminizados, fecundidade reduzida, alterações na proporção sexual e degeneração do desenvolvimento (MANJUNATHA, 2017).

Quando comparado ao estrona e ao estradiol, o estriol é detectado com mais frequência em águas residuais, devido ao aumento do uso de estriol na terapia de reposição hormonal e sua concentração é 2,39 vezes maior que a concentração média dos outros dois estrogênios (LIU *et al.*, 2015). Muitos tipos de métodos analíticos têm sido desenvolvidos para determinar as concentrações de estriol incluindo técnicas cromatográficas, imuno-ensaios,UFLC-fluorescência, eletroforese (MANJUNATHA, 2017). Níveis elevados de estriol, o estrogênio predominante na gravidez, têm sido associados a nascimentos prematuros, particularmente aqueles que ocorrem após 35 semanas (SURI *et al.*, 2008). Assim, estrogênios têm sido recentemente encontrados em águas de esgoto em países do mediterrânio, cerca de 50 $ng \cdot L^{-1}$ e abaixo de 10 $ng \cdot L^{-1}$, em afluentes e efluentes, respectivamente (DESBIOLLES *et al.*, 2018). Quando liberados no ambiente, os estrogênios são expostos à radiação solar,Por esse motivo, a investigação do comportamento dos estrógenos sob radiação UV é extremamente importante. Dessa forma um estudo comprovou a fotodegradação do homônio estriol em água (OLIVEIRA *et al.*, 2016).

O estriol livre é hidrofóbico naturalmente, mas é conjugado com glucuronídeos e sulfatos hidrossolúveis (70-80% como 16α-glucuronides) pelo fígado materno e excretado na urina (SANTOS *et al.*, 2010). Um estudo mostrou que subprodutos de desinfecção são gerados durante adegradação do estriol,com a cloração em tubos de ferro dúctil, o que representa uma ameaça maior à segurança da água potável (DONG *et al.*, 2020). Um estudo mostrou que uma proteína conhecida como lacase purificada a partir do fungo *Pleurotus eryngii* var. tuoliensis CJ Mou possui forte atividade para remoção do estrogeno natural estriol, a qual reduziu rapidamente a quantidade de estriol e removeu a atividade estrogênica (UEDA *et al.*, 2012).

O estriol é usado para prevenir e tratar distúrbios causados por deficiência hormonal, distúrbio cardíaco, câncer, hiperandrogenismo, osteoporose e doenças urogenitais em mulheres. Também é classificado como um desregulador endócrino que apresenta riscos à saúde de seres humanos e animais selvagens porque é removido na urina e não é degradado durante o tratamento de esgoto (RAYMUNDO-PEREIRA *et al.*, 2017).

3.5. *Eichhornia crassipes* (Mart.) Solms

Eichhornia crassipes, conhecida popularmente como aguapé, é uma erva pertencente à família Pontederiaceae, típica de ambientes aquáticos, flutuante, com folhas alternas espiraladas, paralelinérvea e pecíolo ocasionalmente inflado; flores vistosas, bissexuadas e fruto do tipo cápsula (SOUZA; LORENZI, 2005).

Por apresentar proliferação a uma taxa elevada, fácil adaptação à condições ambientais e elevada capacidade de absorção de nutrientes e poluentes de ambientes aquáticos, *E. crassipes* é utilizada para o processos de fitorremediação (REZANIA *et al.*, 2015; FENG *et al.*, 2017a; TING *et al.*, 2018b). A Figura 4 ilustra a espécie *Eichhornia crassipes*.



Figura 4. *Eichhornia crassipes*

Fonte: ("Jardim Botânico UTAD | *Eichhornia crassipes*", [s.d.])

A *E crassipes* pode tolerar variações consideráveis em nutrientes, temperatura e níveis de pH. Pode crescer em uma ampla faixa de temperatura de 1 a 40 °C (crescimento ideal de 25 a 27,5 °C). O pH ideal para o crescimento do aguapé é de 6 a 8. As taxas de crescimento aumentam com o aumento das quantidades de nitrogênio da água. A salinidade é uma grande restrição ao crescimento do aguapé nas regiões costeiras, já que os níveis de salinidade de 6,0 e 8,0% são letais (MALIK, 2007). *E. crassipes* tem a capacidade de tolerar a condição de seca e pode sobreviver nos sedimentos úmidos por meses e suassementes podem sobreviver até 20 anos (REZANIA *et al.*, 2015).

Estudos mostram que *E. crassipes* é efiente na fitorremediação de águas com contaminantes, como TN, NH_4, TP, DBO, DQO, OD, TSS, TDS, TS, Nitratos, AN, fosfatos,

Cd, Ni, Hg, Pb, Coliformes totais, NH_3^+, E. Coli, Coliformes Fecais, pH, N, P, Cu, Zn, Cd, As, Zn, Cs, Cr, Al, Co, Fe, Mn, Sr, Ti, V, Sb, Sn, Zn, PPCPs, Disruptores endócrinos, Neonicotinoides (AURANGZEB *et al.*, 2014; BRES *et al.*, 2012; CARRIÓN *et al.*, 2012; DE LAET *et al.*, 2019; GUERRA *et al.*, 2016; LEÓN *et al.*, 2018; LIN; LI, 2016; PAVLINERI; TH; TSIHRINTZIS, 2017; PINAFFI; SANTOS, 2019; QIN *et al.*, 2016; RAÚL; LLANTOY; NEGRÓN, 2014; REZANIA *et al.*, 2015; RIZZO *et al.*, 2012; TING *et al.*, 2018a). Extratos de *E. crassipes* apresentam atividades antimicrobiana (bacteriana e fúngica), anti-algal (microalgas verdes e cianobactérias) e atividades antioxidantes (CARDOSO; LOPES; NASCIMENTO, 2014). Em comparação com *Pistia stratiotes* L., *Salvinia rotundifolia* Willd. e *Lemna minor*, *E. crassipes* tem a maior capacidade de remoção de nitrogênio e fósforo (ALVARADO *et al.*, 2008). É uma planta muito usada para tratar água eutrófica, esgoto doméstico e águas residuais industriais devido ao seu extenso sistema radicular, forte capacidade reprodutiva e excelente tolerância a condições e ambientes de crescimento poluído. No entanto, devido às suas características de rápida proliferação, é necessário relevar a atenção para estratégias de controle de crescimento como, por exemplo, tecnologias para restringir seu desenvolvimento e a integração de outras plantas aumentando a capacidade de despoluição (FENG *et al.*, 2017b).

A *E. crassipes* é provavelmente nativa da Bacia do Amazonas, e sabe-se que coletores de plantas espalharam essa espécie nos últimos 100 anos em mais de 80 países do mundo. É uma erva perene flutuante de água doce com belas flores e folhas, preenchida parcialmente por ar, se reproduz assexuadamente via estolões e sexualmente via semente. Sob condições ideais, o rendimento de biomassa pode dobrar em seis dias. É considerada uma erva daninhas em inimigos naturais,cresce rapidamente via reprodução assexual provocando sérios danos aos sistemas aquáticos como: fechamento de canais, diminuição do oxigênio, eliminação de microorganismos aquáticos e redução da biodiversidade. Dessa forma, entende-se que para fazer uso de sua alta capacidade de fitorremediação, é necessário encontrar maneiras viáveis para utilização da biomassa formada (FENG *et al.*, 2017a), pois ecologicamente, o aguapé pode afetar a produtividade do zooplâncton e do fitoplâncton nos ecossistemas de água doce, modificar a clareza das águas superficiais e causar hipóxia ou uma diminuição na concentração de contaminantes relacionados e nutrientes, como nitrogênio, fósforo e metais pesados (THAMAGA; DUBE, 2018). Outro estudo mostrou que a colonização com fungos micorrízicos arbusculares melhora o potencial de fitorremediação da *E. crassipes* com relação ao contaminante específico cádmio (GUNATHILAKAE; YAPA; HETTIARACHCHI, 2018).

Esta espécie possui alto teor de potássio na parte aérea que pode ser usado para a extração de potássio, e seu baixo teor de celulose cristalina naturalmente o torna uma excelente matéria-prima para material derivado e relativamente altamente eficiente para a transformação de bioenergia. Porém, seu alto teor de água leva a uma baixa densidade de energia em produtos de bioenergia ou a um alto custo para o tratamento de desidratação antes que outras tecnologias de utilização possam ser aplicadas. Portanto, uma tecnologia de anidração altamente eficaz e de baixo custo é a chave para utilização em larga escala (FENG *et al.*, 2017a).

A *E. crassipes*, além da fitorremediação de águas residuais, pode oferecer produtos úteis como alimentação de animais e peixes, energia de usinas (briquete), etanol, biogás, compostagem e fabricação de placas de fibra (REZANIA *et al.*, 2015). Segundo estudos, *E. crassipes* pode ser usada para a obtenção de biodisel de terceira geração, ou seja, a partir de óleos provenientes de algas e ervas daninhas (VENU *et al.*, 2019). As fibras das hastes da planta do aguapé podem ser usadas para fazer cordas, cestos ou até papel de boa qualidade, se misturados com resíduos de papel ou juta. A planta também pode ser usada para fazer compostagem, forragens para animais, alimentos para peixes, alcool e biogás (MALIK, 2007).

Para controlar sua propagação são usados alguns métodos de manejo de plantas daninhas manualmente, e com o uso de instrumentos, e até métodos químicos (pela utilização de herbicidas)(MALIK, 2007).Existem alguns países que testaram o besouro, *Neochetina bruchi*, para controle biológico de *E. crassipes*, que se alimenta da planta e, assim auxilia no controle da sua rápida reprodução (DAY; WITT; WINSTON, 2020). Sua alta reprodução se não controlada pode causar danos ao meio ambiente, pois pode reduzir a produção de peixes, auxiliar na reprodução de vetores de doenças como malária e esquistossomose e aumentar a deterioração da água (KUMAR RAI; SINGH, 2020). Pode dobrar seu tamanho em cinco dias e um tapete de plantas de tamanho médio pode conter dois milhões de plantas por hectare com peso de 270 a 400 toneladas (MALIK, 2007).

3.6. Inteligência Artificial

As plantas são modulares e auto-organizadas, raízes ramificadas abaixo do solo e depois folhas e botões subtendidos, acima do solo. A inteligência com um objetivo específico, utilizando um conjunto de dados específicos, é capaz de interpretar o comportamento de um ambiente específico (CALVO; TREWAVAS, 2020)

Computadores e tecnologia começaram a penetrar no setor agrícola a partir de 1983. Desde então, ocorreram muitas sugestões e propostas de sistemas para melhorias na

agricultura, desde o banco de dados até o processo de tomada de decisão. Filtrando todos os processos, apenas os sistemas baseados em IA provaram serem os mais viáveis e confiáveis. O método baseado em IA não generaliza o problema e fornece uma solução particular para um problema complexo definido particular (JHA, 2019).

Uma das áreas da inteligência artificial que vem ganhando destaque é o aprendizado de máquinas. Dentro do aprendizado de máquinas, desenvolveu-se uma subárea, denominada aprendizagem profunda de máquinas ou *deep learning*, que emprega algoritmos para processar dados e imitar o processamento feito pelo cérebro humano. A aprendizagem profunda é responsável por avanços recentes em visão computacional e na classificação de imagens, mostrando potencial na identificação botânica mediante uso de imagens digitais (MONARD; BARANAUSKAS, 2003).

4. Material e Métodos

4.1. Área de Estudo

O experimento foi desenvolvido na casa de vegetação do Departamento de Bioprocessos e Biotecnologia da Faculdade de Ciências Agronômicas da UNESP, Botucatu/SP (22°54' S e 48°27' O).

O município de Botucatu é constituído por um relevo assimétrico, chamado de Cuesta, e pelas bacias hidrográficas do Paranapanema e do Tietê. O clima local, de acordo com a classificação climática de Köppen, é do tipo Cwa (subtropical úmido), região constantemente úmida, chuvosa, inverno seco e de temperaturas amenas. O clima é dividido em duas estações de acordo com suas características: uma chuvosa e quente e outra seca e fria (CUNHA; MARTINS, 2009). No verão e primavera ocorre estação chuvosa, com elevada nebulosidade. Nesse período ocorre cerca de 80% da precipitação anual, com 246,2 mm de máxima no mês de janeiro. A precipitação média no inverno e outono é inferior a 100 mm, com mínima de 36,1 mm em agosto. Os valores máximos de temperatura e umidade relativa em fevereiro são de 23,12 °C e 78,25% respectivamente e o valor mínimo de temperatura é de 17,10 ºC em julho e a umidade relativa em agosto é de 63,97 % (INÁCIO *et al.*, 2019).

4.2. Aparato experimental: dispositivo de fitorremediação

Foi desenvolvido um suporte para apoiar plantas com a técnica de hidroponia, para que haja a possibilidade de ser utilizado diversos tipos de plantas. Foram usadas caixas plásticas transparentes de polipropileno de 50 litros. A Figura 5 mostra a caixa com a planta no suporte flutuante.



Figura 5. Caixa plástica com suporte e planta

A Figura 6 mostra o suporte flutuante feito com bambu, rolhas, madeira e revestido com tecido de juta, para que possa ser utilizada a técnica de hidroponia com plantas terrestres.



Figura 6. Suporte para planta

4.3. Material Vegetal

Indivíduos de *E. crassipes* foram coletados em um lago particular (22°57'24.9"S 48°24'09.1"W) na Chácara de Recreio Jardim Alvorada, Botucatu/SP, com auxílio de uma rede de pesca e, posteriormente, foram armazenados em uma caixa e transportados para o laboratório. Todo material vegetal coletado foi georrefenciado. A Figura 7 refere-se ao local onde os aguapés foram coletados.

A aclimatação das plantas foi realizada previamente ao teste inicial, colocando-se as macrófitas aquáticas em caixas de polietileno transparentes com água da torneira por aproximadamente 45 dias onde foram feitos monitoramentos diários quanto à sobrevivência da planta em temperatura ambiente em casa de vegetação.



Figura 7. Lago com aguapés *(Eichhornia crassipes)*

4.4. Análise da Morfologia Interna

Cortes transversais da raiz, na região pilífera, do pecíolo (região inflada) e da folha completamente expandida foram feitos em espécimes de *Eichhornia crassipes* para verificar possíveis alterações morfológicas entre os dois experimentos, controle e com estriol. Além

disso, impressões paradérmicas, feitas com Super Bonder, foram realizadas para observação de estômatos. Posteriormente, as lâminas foram analisadas em microscópio ótico.

4.5. Análise da Morfologia Externa

A análise da morfologia externa foi feita através da medição da massa fresca do indivíduo, tamanho da folha, pecíolo, raiz e pelos radiculares.

Para a medição da massa fresca, espécimes foram pesados em balança analítica de precisão antes de serem submetidos ao tratamento e, após 15 dias, foi obtida a massa fresca de 20 indivíduos de cada tratamento, conforme metodologia utilizada por LIN & LI (2016). O comprimento da folha, pecíolo, raiz e pelos radiculares nos dois tratamentos foi realizado com auxílio de uma régua milimetrada. Os pelos radiculares foram medidos após 30, 40 e 50 dias depois de serem submetidos ao estriol.

4.6. Testes histoquímicos

O estriol é um estrogênio, hormônio de natureza humana, da classe dos lipídios (SHORE; SHEMESH, 2003). Nenhum trabalho foi realizado com absorção desse hormônio por um vegetal. Sendo assim, não se sabe em qual parte da planta, esse hormônio ao ser absorvido fica localizado. Por isso, a fim de localizar esse hormônio no corpo vegetal, secções transversais da raiz, caule e folha foram obtidas com auxílio de micrótomo de Ranvier e tratadas com solução de Sudan Black para identificação de lipídios totais (PEARSE, 1980).

O laminário foi analisado ao fotomicroscópio de luz Ahvsim, sendo os resultados mais relevantes documentados através do sistema de câmera digital do celular Xiomi Mi Lite 8.

4.7. Testes Estatísticos

As médias dos parâmetros analisados foram testados com relação à normalidade através do p-caudal, utilizando o Microsoft Excel 2016. A significância estatística foi testada pelo teste T-Student ($p < 0,05$).

4.8. Classificação de Imagens por meio da Inteligência Artificial

Para o uso da Inteligência Artificial, o problema foi definido: “Existe diferença entre as imagens das plantas com e sem estriol?”. Após, foram obtidas raízes, das quais foram coletadas imagens e, posteriormente, houve o treinamento e a avaliação do poder de generalização do modelo.

A possibilidade de diferenciar visualmente raízes com e sem estriol (Figura 8) levaram ao teste de classificação de duas classes de forma autônoma. Todas as imagens, que constituem o *dataset*, foram padronizadas nas medidas de 1024x768 pixel para realização do treinamento.

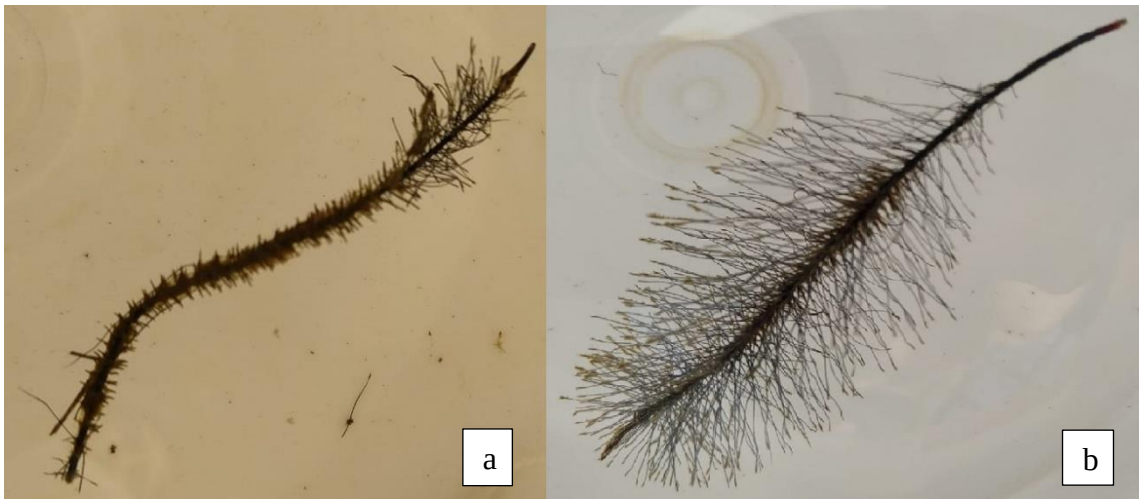


Figura 8. Imagem da raiz sem estriol (a) e com estriol (b).

Uma arquitetura de rede neural convolucional (CNN) da competição *Kaggle dogs and cats*, treinada com imagens de cachorros e gatos, foi utilizada para execução do Treinamento. Em seguida foi ajustada e treinada com as imagens das raízes para a classificação dos indivíduos.

Jupyter Notebook foi o ambiente de programação aplicado para o treinamento e obtenção dos resultados. Conhecida como notebook computacional, Jupyter é uma ferramenta interativa da web de código aberto e gratuito. O ambiente web é preparado para combinar códigos em *python* e obter de forma visual e lógica a execução dos *scripts* de programação linear, e após a execução de um código, o processo de solução iterativa é impresso (YANIV *et al.*, 2018).

Para a realização do treinamento, alguns parâmetros são importantes como: o conjunto de treino, mini *batch size* e número de épocas (*epochs*). O conjunto de treino ou *dataset* foi dividido em treino, teste e validação. Para poder avaliar a capacidade de generalização do modelo testado, as imagens utilizadas não foram repetidas, de forma que os dados utilizados diferem para cada conjunto.

4.8.1. Criação do *Dataset*

Uma das partes mais importantes na análise dos dados utilizando *deep learning* é chamada de *dataset*. As características do conjunto influenciam diretamente no processo de aprendizagem, ou seja, quanto maior o número de imagens diferentes de um mesmo dado, melhor será a generalização do modelo para o objetivo final. Nesse contexto, foram feitas 900 fotos com um smartphone, sendo 450 imagens de raízes com estriol e 450 raízes sem estriol, separadas em três conjuntos. Os conjuntos serão de treino, teste e validação, sendo 70% do conjunto para treino, 20% para teste e 10% para validação do modelo.

4.9. Fluxograma da Metodologia

A seguir (Figura 9) está sendo apresentado um fluxograma com a sequência das etapas que foram realizadas para a execução da parte experimental dessa pesquisa.

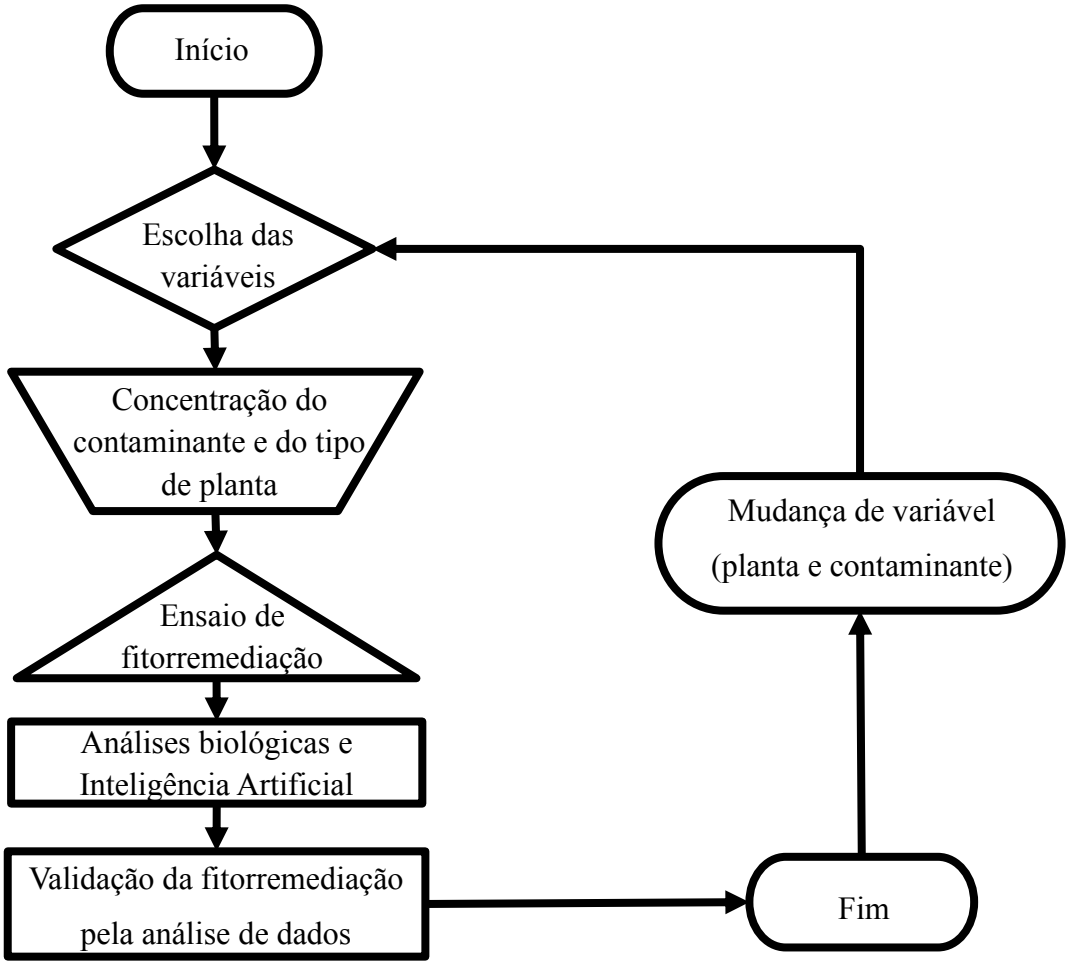


Figura 9. Fluxograma do processo de biorremediação em escala laboratorial

5. Resultados e Discussão

As folhas de *Eichhornia crassipes* são anfistomáticas, com epiderme unisseriada e mesofilo dorsiventral, com três a quatro camadas de parênquima paliçádico e aerênquimas desenvolvidos com grandes espaços intercelulares. Os feixes vasculares ficam imersos no parênquima, onde o xilema está na direção de face adaxial e o floema para a face abaxial (Figura 13). Esses feixes são envolvidos por uma bainha parenquimática, com parênquima paliçádico disposto radialmente ao redor do feixe. Os pecíolos são inflados, constituído de parênquima esponjoso, permitindo a flutuação da planta no ambiente aquático (Figuras 12C e 12D). As estruturas anatômicas de *E. crassipes* correspondem as já descritas por Ferri (1984), Raven, Evert, Eichhorn (2007) e Pereira *et al.* (2010) que identificam a presença de aerênquima em todos os órgãos vegetais. Este tecido é um tipo de parênquima que possui grandes espaços preenchidos com ar, que facilita as trocas gasosas e possibilita a flutuação da planta no ambiente aquático. Alterações morfológicas, quanto ao tamanho e volume celulares, devido à concentração de estriol não foram observadas nos tecidos foliares, peciolar e da raiz (Figura 10-12).

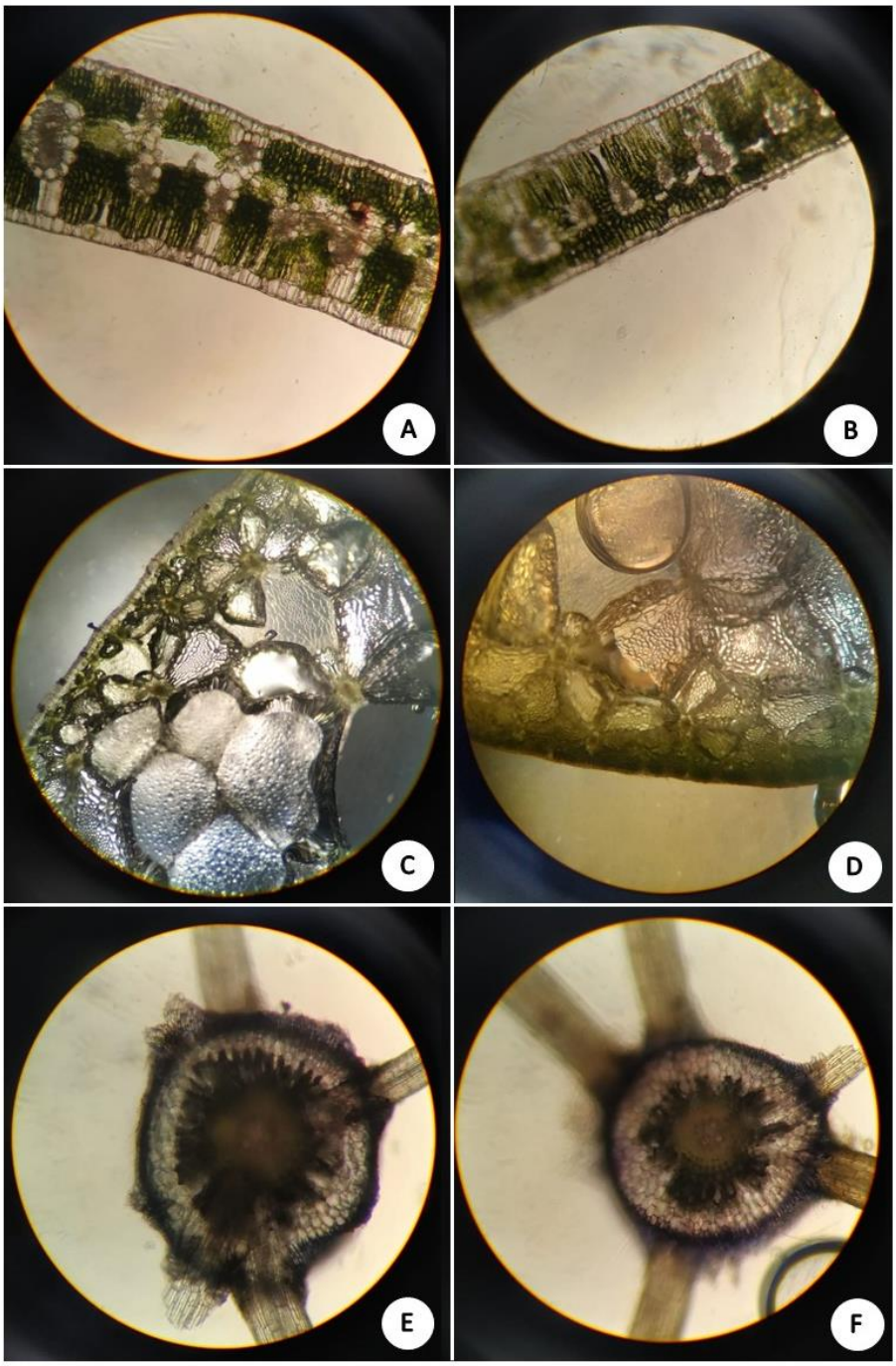


Figura 10. Cortes transversais foliar, peciolar e da raiz, após 7 dias em tratamento. A, C e E: Controle; B, D e F: com estriol. A e B: Folha; C e D: Pecíolo, região inflada; E e F: Raiz, região pilífera.

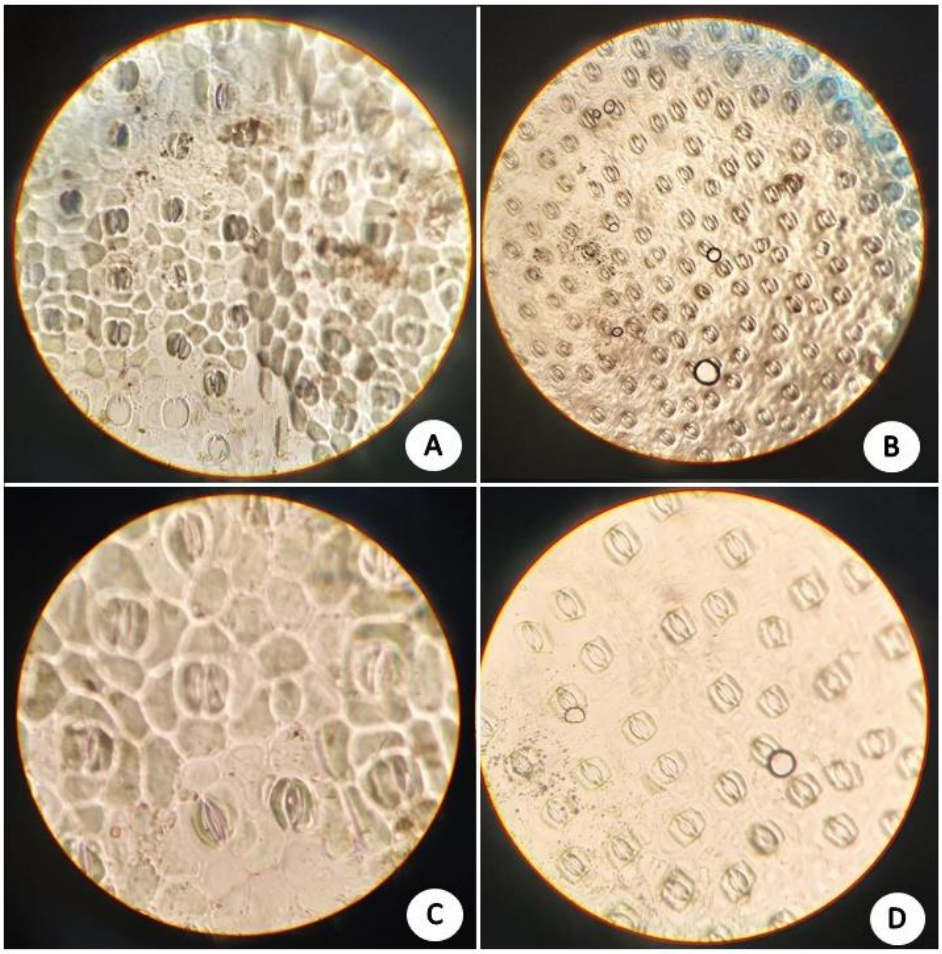


Figura 11. Impressões paradérmicas foliares. A e C: Controle; B e D: com estriol. A e B: abaxial; C e D: face adaxial.

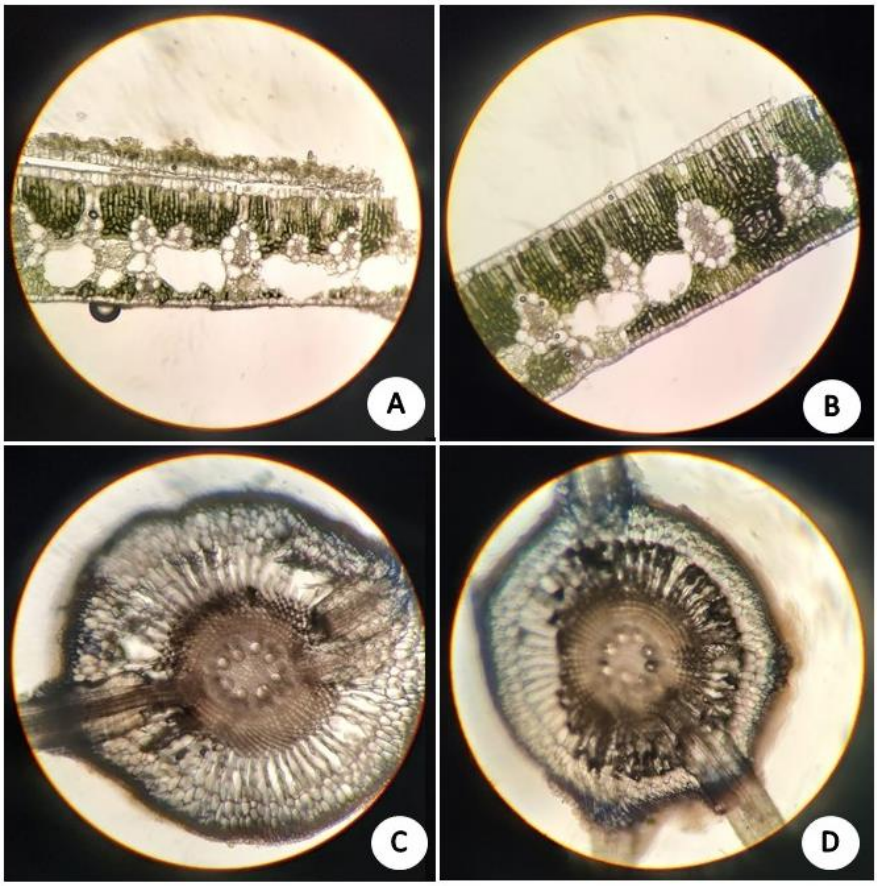


Figura 12. Cortes transversais foliares e da raiz, após 14 dias em tratamento. A e C: Controle; B e D: com estriol. A e B: Folha; C e D: Raiz, região pilífera.

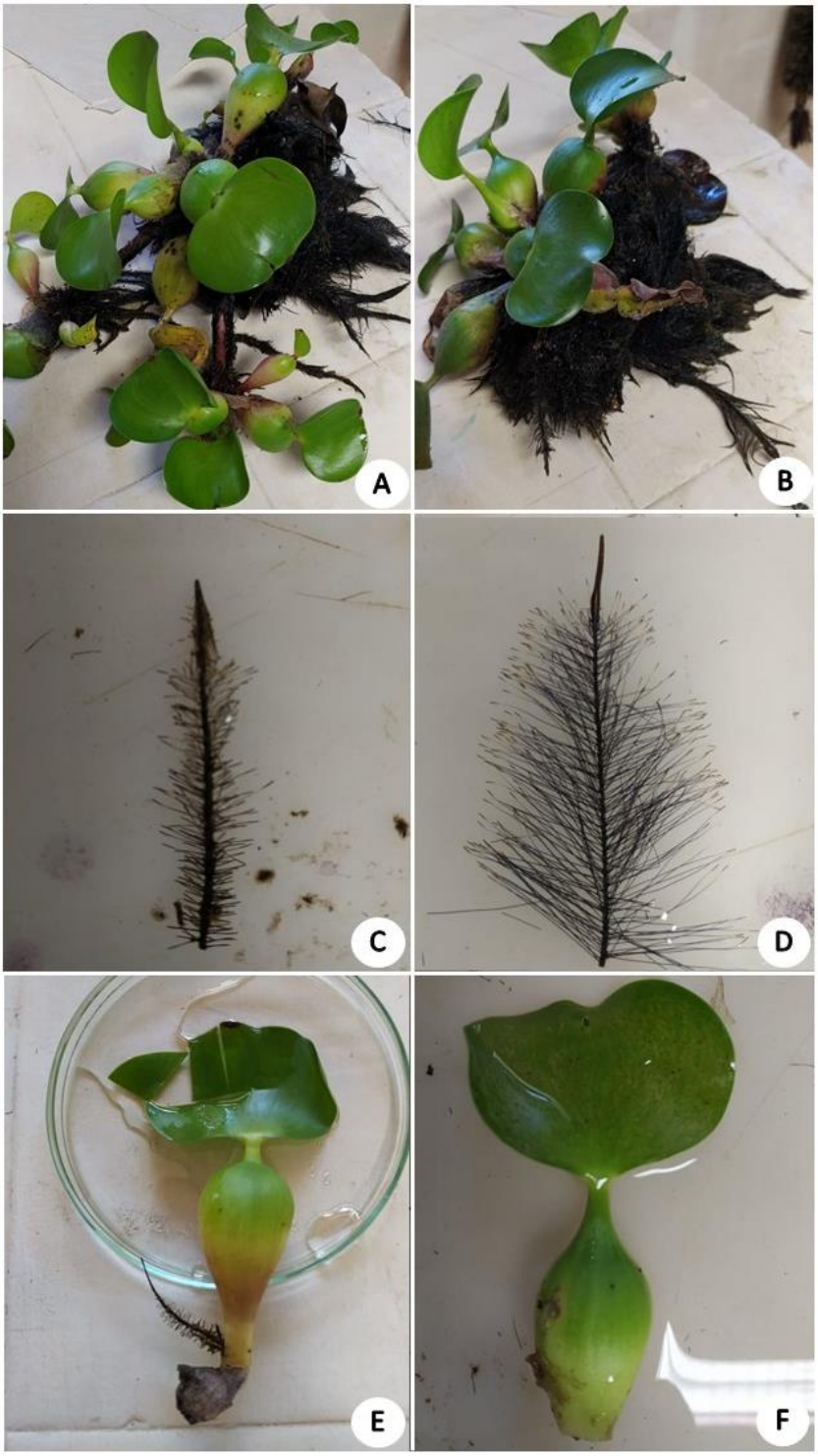


Figura 13. Planta após 21 dias em tratamento. A e B: Planta; C e D: Raiz; E e F: Folha; A, B e C: Controle; B, D e F: com estriol.

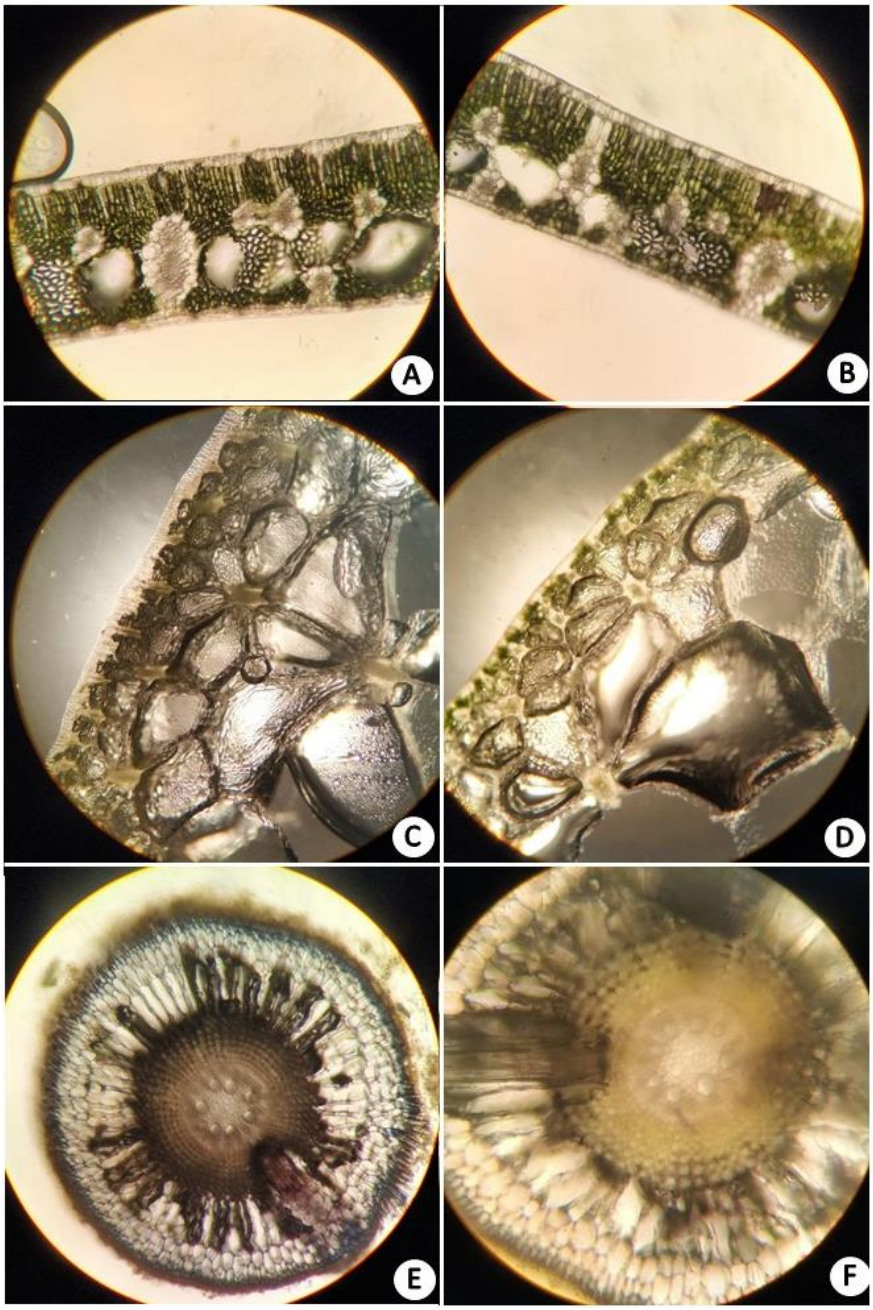


Figura 14. Planta após 21 dias em tratamento. A e B: Folha; C e D: Pecíolo; E e F: Raiz; A, B e C: Controle; B, D e F: com estriol. A e B: Folha 10x; C e D: Pecíolo, região inflada 10x; E e F: Raiz, região pilífera 20x.

Os valores médios dos caracteres da morfologia externa nos dois tratamentos estão apresentados na Tabela 1.

Tabela 1. Valores médios (± desvio-padrão) da morfologia externa de *E. crassipes* com e sem estriol. Letras diferentes para a mesma variável indicam diferenças estatisticamente significativas T-student, p<0,05, n Controle = 20; n Com Estriol = 20, GL=38).

	Características	Controle	Com Estriol	(t; P)
Tamanho	Folha	4,03 (±0,64)a	4,03 (±0,64)a	(0; 0,5)
	Pecíolo	21,05 (±5,94)a	20,90 (±5,74)a	(0,25; 0,40)
	Raiz	11,15 (±1,93)a	11,00 (±1,81)a	(0,08; 0,47)
	Pelo radicular	0,92 (±0,17)a	1,85 (±0,19)b	(-6,37; 0,002)
Massa	Massa Fresca	0,06 (±0,05)a	0,07 (±0,05)a	(-0,64; 0,26)

Os valores médios para o tamanho da folha, pecíolo, raiz e massa fresca não apresentaram diferenças significativas, enquanto o tamanho do pelo radicular foi significativamente maior quando submetidos ao estriol. Isso pode ocorrer por que as raízes, especialmente os pelos radiculares, geralmente, constituem o principal órgão da planta envolvido na absorção. Segundo CAMPANELI *et al.* (2010) a maior parte do que o aguapé absorveu ficou retido na raiz e de acordo com Souza *et al.* (2010) o aumento dos pelos radiculares está diretamente ligado com a área de superfície de contato. Em estudos desenvolvidos com metais pesados (GRANT *et al.*, 2008) e proteínas (STANISLAS; JAILLAIS, 2019), as maiores concentrações dessas substâncias foram encontradas nesta parte da planta. Além disso, de acordo com Stanislas e Jaillais (2019), ao trabalharem com *Arabidopsis*, os lipídios estão envolvidos no crescimento do pelo radicular e sabendo que o estriol pertence à classe dos lipídios, pode haver uma relação entre a presença desse hormônio e o maior aumento dos pelos radiculares nas raízes submetidas ao tratamento.

De acordo com Zhang et al. (2018) os pelos radiculares podem ser afetados por fitohormônios, como as auxinas que são consideradas as principais moléculas de sinalização envolvidas na regulação de seu crescimento.

Os pelos radiculares aumentam muito a área de superfície geral das raízes e são essenciais para a aquisição de diversos nutrientes de íons e água, bem como a interação entre plantas e micróbios da rizosfera (TAN *et al.*, 2020).

Um estudo feito com *Arabidopsis* mostra que o desenvolvimento dos pelos radiculares é influenciado por muitos fatores ambientais e genéticos, como luz, nutrientes, expressão

gênica, eventos de fosforilação e radicais livres. Existem dois tipos de células localizadas na epiderme da raiz, tricoblastos e atricoblastos, apenas os tricoblastos produzem pêlos radiculares para absorção de água e nutrientes. Plantas que continham maiores concentrações de oxigênio exibiam pelos radiculares mais longos (SHIN *et al.*, 2011).

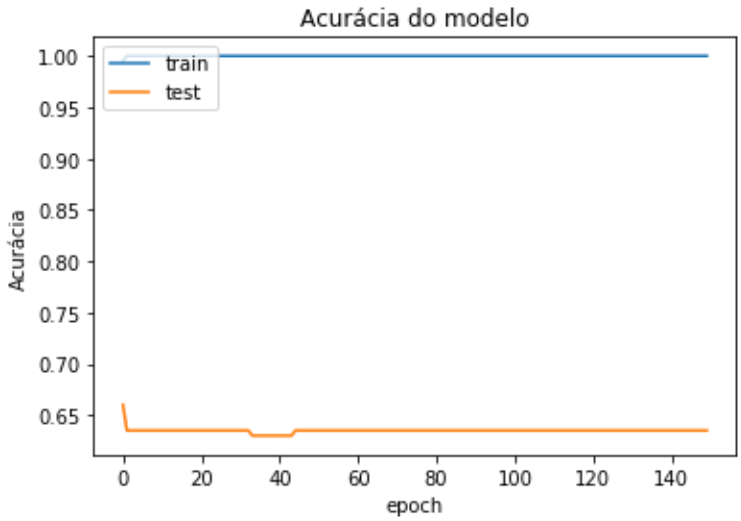
De acordo com Samaj *et al.* (2004) o crescimento da ponta dos pelos radiculares está diretamente ligado ao papel geral da polarização da actina e da sinalização via proteínas rho, íons de cálcio, fosfoinositídeos e MAPKs (proteína quinase ativada por nitrogênio). Um estudo feito com tomate, milho e *Arabidopsis thaliana*, mostra que a densidade e o comprimento do cabelo da raiz estão significativamente correlacionados com fósforo (P) e ferro (Fe), auxina e etileno (ZHANG *et al.*, 2013). Segundo Zhang *et al.* (2020) os pelos radiculares desempenham um papel importante na regulação dos sistemas enzimáticos e do crescimento microbiano para se adaptar ao aumento da temperatura. Raízes com pelos longos e grossos como o tremoço, têm uma maior atividade enzimática por área da raiz e uma extensão da rizosfera maior em relação ao raio da raiz do que em raízes com pelos curtos e finos como na lentilha (MA *et al.*, 2018). O crescimento dos pelos radiculares foram ativados pela privação de P e Ca, enquanto a privação de K teve um efeito oposto em *Poncirus trifoliata* (CAO *et al.*, 2013).

As proteínas que catalisam a quebra das ligações de hidrogênio entre os polissacarídeos da parede celular facilitam a expansão durante o crescimento do cabelo da raiz no arroz (DOLAN, 2017). De acordo com Daras *et al.* (2015) tricoblastos atuam modulando autonomamente o alongamento da raiz do cabelo através da distribuição de auxina.

No que diz respeito ao uso da Inteligência Artificial, foi possível diferenciar as raízes com e sem estriol por meio de imagens digitais e recursos computacionais. Os resultados podem ser avaliados com base no modelo testado e inferir possíveis benefícios oriundos dessa classificação autônoma.

O comportamento do algoritmo pode ser avaliado por meio das suas características preditivas. De acordo com os dados obtidos, é possível notar que após a segunda *epoch* o modelo se manteve estável (Gráfico 1), alcançando um valor de acurácia de 63,50% para a classificação binária. É possível estabelecer algumas relações sobre o dado obtido, sendo uma delas ligada diretamente a pessoa que fez o teste, pois o *dataset* formado pelo pesquisador influencia diretamente no resultado, sendo que algumas pequenas alterações no conjunto de dados causariam consequentes alterações no resultado. Outra possibilidade aparente seria o modelo em si, uma mudança de modelo também alteraria o valor. As bibliotecas utilizadas também influenciariam de maneira direta no poder do algoritmo.

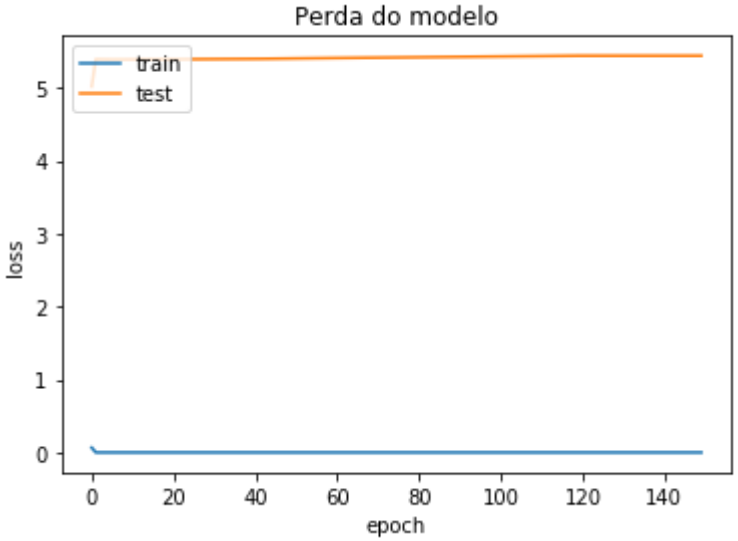
Grafico 1. Estabelece a relação entre o valor da acurácia e a *epoch*.



Fonte: do autor, 2020.

Outro fator importante nessa avaliação é a perda (*loss*) do modelo em relação à *epoch* (Gráfico 2), sendo que medida que o modelo treina durante a primeira passagem pelos dados, as perdas por treinamento e validação diminuem, indicando que o modelo está aprendendo a estrutura dos dados. Nas primeiras e consecutivas interações, a perda na validação aumentou significativamente até a segunda e em seguida se estabilizou. É possível dizer que a rede não sobrecarregou os dados de treinamento e generalizou com precisão os dados de validação não vistos. Após 2 *epochs*, a precisão de validação do modelo foi de 63,5%. Na validação do modelo (diferenciação entre raiz com estriol e sem estriol) a taxa de acerto foi de 39% (CALEFFI; ANZANELLO; CYBIS, 2017)

Gráfico 2. Relação entre Loss e Epoch do modelo.



Fonte: do autor, 2020.

6. Conclusões

O aguapé *(Eichhornia crassipes)* é uma planta promissora para fitorremediação de águas contaminadas.

Este estudo mostrou que as partes aéreas da planta não sofreram influência do estriol, enquanto as raízes, especificamente os pelos radiculares, aumentam significativamente na presença desse hormônio.

O programa de Inteligência Artificial demonstrou uma margem de erro com as imagens amostrais, entretanto a tecnologia é algo relevante para facilitar análises de tamanhos de pelos radiculares de raízes expostas ao estriol. Para estudos futuros, é sugerida uma melhor adaptação do modelo com um maior conjunto de imagens.

O aguapé possui uma grande resistência de vida em águas com poucos nutrientes, por ser uma erva daninha deve-se tomar cuidado com o seu elevado crescimento.

Para estudos futuros sugere-se a comparação de *wetland* construída utilizando outras macrófitas para avaliar a eficiência de remoção de hormônios esteróides, juntamente com testes histoquímicos que elucidam a localização dos contaminantes na planta.

Por fim, também é importante a avaliação da água fitorremediada para um reuso e, assim aumentar a eficiência desta tecnologia.

Referências

ALVARADO, S. *et al.* Arsenic removal from waters by bioremediation with the aquatic plants Water Hyacinth (*Eichhornia crassipes*) and Lesser Duckweed (*Lemna minor*). **Bioresource Technology**, v. 99, n. 17, p. 8436–8440, 2008.

AURANGZEB, N. *et al.* Phytoremediation potential of aquatic herbs from steel foundry effluent. **Brazilian Journal of Chemical Engineering**, v. 31, n. 4, p. 881–886, 2014.

BEHERA, P. *et al.* Structural and metabolic diversity of rhizosphere microbial communities of Phragmites karka in a tropical coastal lagoon. **Applied Soil Ecology**, v. 125, p. 202–212, 2018.

BRES, P. *et al.* Capacidad de las macrofitas *Lemna minor* y *Eichhornia crassipes* para eliminar el níquel. **RIA. Revista de investigaciones agropecuarias**, v. 38, n. 2, p. 153–157, 2012.

CALEFFI, F.; ANZANELLO, M. J.; CYBIS, H. B. B. A multivariate-based conflict prediction model for a Brazilian freeway. **Accident Analysis & Prevention**, v. 98, p. 295–302, 2017.

CALVO, P.; TREWAVAS, A. Cognition and intelligence of green plants. Information for animal scientists. **Biochemical and biophysical research communications**, 2020. In Press. https://doi.org/10.1016/j.bbrc.2020.07.139.

CAMPANELI, L. B. *et al.* Variação espaço-temporal de metais em aguapé [*Eichhornia crassipes* (Mart.) Solms)], material particulado aderido às raízes de aguapé e no sedimento em dois rios do sudeste brasileiro. **Biotemas**, v. 23, n. 4, p. 119–128, 2010.

CAO, X. *et al.* Influence of nutrient deficiency on root architecture and root hair morphology of trifoliate orange (*Poncirus trifoliata* L. Raf.) seedlings under sand culture. **Scientia Horticulturae**, v. 162, p. 100-105, 2013.

CARDOSO, S. F.; LOPES, L. M. X.; NASCIMENTO, I. R. *Eichhornia crassipes*: An advantageous source of shikimic acid. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 24, n. 4, p. 439–442, 2014.

CARRIÓN, C. *et al.* Aprovechamiento potencial del lirio acuático (*Eichhornia crassipes*) en xochimilco para fitorremediación de metales. **Agrociencia**, v. 46, n. 6, p. 609–620, 2012.

CASTILLO LORÍA, K. *et al.* Effect of daily exposure to Pb-contaminated water on Salvinia biloba physiology and phytoremediation performance. **Aquatic Toxicology**, v. 210, p. 158–166, 2019.

CHERIAN, S.; OLIVEIRA, M. M. Transgenic plants in phytoremediation: Recent advances and new possibilities. **Environmental Science and Technology**, v. 39, n. 24, p. 9377–9390, 2005.

CHOUDHARY, A. K.; KUMAR, S.; SHARMA, C. Constructed wetlands : an approach for

wastewater treatment. **Pollution**, v. 37, p. 3666–3672, 2011.

CUNHA, A. R.; MARTINS, D. Classificação climática para os municípios de Botucatu e São Manuel, SP. **Irriga**, v. 14, n. 1, p. 1-11, 2009.

DARAS, G. *et al.* Potassium transporter TRH1 subunits assemble regulating root-hair elongation autonomously from the cell fate determination pathway. **Plant Science**, v. 231, p. 131-137, 2015.

DAY, M.; WITT, A.; WINSTON, R. Weed biological control in low-income and middle-income countries. **Current Opinion in Insect Science**, v. 38, p. 92–98, 2020.

DE LAET, C. *et al. Eichhornia crassipes*: a Powerful Bio-indicator for Water Pollution by Emerging Pollutants. **Scientific Reports**, v. 9, n. 1, p. 1–10, 2019.

DE LIMA, D. P. *et al.* Fungal bioremediation of pollutant aromatic amines. **Current Opinion in Green and Sustainable Chemistry**, v. 11, p. 34–44, 2018.

DELGADILLO-LÓPEZ, A. E.; GONZÁLEZ-RAMÍREZ, C. A. Fitorremediación: una alternativa para eliminar la contaminación. **Tropical and Subtropical Agroecosystems**, v. 14, p. 597–612, 2011.

DENIZ, F. A combinatorial bioinnovative approach integrating synthetic dye bioremediation and bioenergy production using waste pepper seed biomass. **Progress in Biophysics and Molecular Biology**, 2019.

DESBIOLLES, F. *et al.* Occurrence and ecotoxicological assessment of pharmaceuticals: Is there a risk for the Mediterranean aquatic environment? **Science of the Total Environment**, v. 639, p. 1334–1348, 2018.

DOLAN, L. Desenvolvimento de pêlos radiculares em gramíneas e cereais (Poaceae). **Parecer atual em Genética e Desenvolvimento** , v. 45, p. 76-81, 2017.

DONG, F. *et al.* Degradation of estriol by chlorination in a pilot-scale water distribution system: Kinetics, pathway and DFT studies. **Chemical Engineering Journal**, v. 383, p. 123187, 2020.

DONINI, C. A. *et al.* Reduced graphene oxide modified with silver nanoparticles for the electrochemical detection of estriol. **Journal of Electroanalytical Chemistry**, v. 809, p. 67–73, 2018.

DZIONEK, A.; WOJCIESZYŃSKA, D.; GUZIK, U. Natural carriers in bioremediation: A review. **Electronic Journal of Biotechnology**, v. 23, p. 28–36, 2016.

FEKADU, S. *et al.* Pharmaceuticals in freshwater aquatic environments: A comparison of the African and European challenge. **Science of the Total Environment**, v. 654, p. 324–337, 2019.

FENG, W. *et al.* Analysis of utilization technologies for Eichhornia crassipes biomass harvested

after restoration of wastewater. **Bioresource Technology**, v. 223, p. 287–295, 2017a.

FENG, W. *et al.* Analysis of utilization technologies for Eichhornia crassipes biomass harvested after restoration of wastewater. **Bioresource Technology**, v. 223, p. 287–295, 2017b.

FERRI, M.G. Botânica, Morfologia Interna das Plantas. São Paulo: Nobel, 1984. 55 p

GAO, L. *et al.* Nitrogen removal by the enhanced floating treatment wetlands from the secondary effluent. **Bioresource Technology**, v. 234, p. 243–252, 2017.

GEORGE, K. S. *et al.* A Study on the Potential of Moringa Leaf and Bark Extract in Bioremediation of Heavy Metals from Water Collected from Various Lakes in Bangalore. **Procedia Environmental Sciences**, v. 35, p. 869–880, 2016.

GOMES, E. S. *et al.* Voltammetric sensor based on cobalt-poly(methionine)-modified glassy carbon electrode for determination of estriol hormone in pharmaceuticals and urine. **Journal of Pharmaceutical Analysis**, v. 9, n. 5, p. 347–357, 2019.

GRANT, C. A. *et al.* Selection and breeding of plant cultivars to minimize cadmium accumulation. **Science of the Total Environmental**, v. 390, p. 301-310, 2008.

GU, T. *et al.* Advances in bioleaching for recovery of metals and bioremediation of fuel ash and sewage sludge. **Bioresource Technology**, v. 261, p. 428-440, 2018.

GUERRA, Y. I. M. *et al.* Fitorremediación como alternativa de tratamiento para aguas residuales domésticas de la ciudad de Riohacha (Colombia). **Revista Técnica de la Facultad de Ingeniería**, v. 39, n. 2, p. 1–9, 2016.

GUNATHILAKAE, N., YAPA, N.; HETTIARACHCHI, R. Effect of arbuscular mycorrhizal fungi on the cadmium phytoremediation potential of *Eichhornia crassipes* (Mart.) Solms. **Groundwater for Sustainable Development**, v. 7, p. 465-469, 2018.

HINTON, G. E. Learning multiple layers of representation. **Trends in Cognitive Sciences**, v. 11, n. 10, p. 428-434, 2007.

HUSSAIN, Z. *et al.* Integrated perspectives on the use of bacterial endophytes in horizontal flow constructed wetlands for the treatment of liquid textile effluent: Phytoremediation advances in the field. **Journal of Environmental Management**, v. 224, p. 387–395, 2018.

INÁCIO, C. O. *et al.* **Energia no Brasil,** v.1, 10.5935, 2019.

JARDIM BOTÂNICO UTAD. **Utah Jardim Botânico**. Disponível em: <https://jb.utad.pt/especie/Eichhornia_crassipes>. Acesso em: 19 set. 2019.

JASMIN, M. Y. *et al.* Potential of bioremediation in treating aquaculture sludge: Review article. **Aquaculture**, v. 519, p. 734905, 2020. https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2019.734905.

JHA, K. *et al.* A comprehensive review on automation in agriculture using artificial

intelligence. **Artificial Intelligence in Agriculture**, v. 2, p. 1-12, 2019.

JORDAN, F. *et al.* Natural bioremediation of a nitrate-contaminated soil-and-aquifer system in a desert environment. **Journal of Arid Environments**, v. 72, n. 5, p. 748–763, 2008.

KAMIKA, I.; MOMBA, M. N. B. Comparing the tolerance limits of selected bacterial and protozoan species to nickel in wastewater systems. **Science of The Total Environment**, v. 410–411, p. 172–181, 2011.

KASSINGER, S. J.; VAN HOEK, M. L. Biofilm architecture: An emerging synthetic biology target. **Synthetic and Systems Biotechnology**, v. 5, n. 1, p. 1–10, 2020.

KÖSESAKAL, T. *et al.* Phytoremediation of petroleum hydrocarbons by using a freshwater fern species *Azolla filiculoides* Lam. **International Journal of Phytoremediation**, v. 18, n. 5, p. 467-476, 2016.

KUMAR RAI, P.; SINGH, J. S. Invasive alien plant species: Their impact on environment, ecosystem services and human health. **Ecological Indicators**, v. 111, p. 106020, 2020.

LEÓN, R. *et al.* Potencial de plantas acuáticas para la remoción de coliformes totales y *Escherichia coli* en aguas servidas (Evaluation of the potential of acuatic plants to remove total coliforms and *Escherichia coli* from wastewater). **Enfoque UTE**, v. 9, n. 4, p. 131–144, 2018.

LEONG, Y. K.; CHANG, J.-S. Bioremediation of heavy metals using microalgae: Recent advances and mechanisms. **Bioresource Technology**, v. 303, p. 122886, 2020.

LI, H. *et al.* Pilot-scale benthic microbial electrochemical system (BMES) for the bioremediation of polluted river sediment. **Journal of Power Sources**, v. 356, n. 73, p. 430–437, 2017.

LI, M. *et al.* Enhanced nitrogen and phosphorus removal from eutrophic lake water by *Ipomoea aquatica* with low-energy ion implantation. **Water Research**, v. 43, n. 5, p. 1247–1256, 2009.

LIN, Y. L.; LI, B. K. Removal of pharmaceuticals and personal care products by *Eichhornia crassipe* and *Pistia stratiotes*. **Journal of the Taiwan Institute of Chemical Engineers**, v. 58, p. 318–323, 2016.

LIU, S.-H. *et al.* Bioremediation mechanisms of combined pollution of PAHs and heavy metals by bacteria and fungi: A mini review. **Bioresource Technology**, v. 224, p. 25–33, 2017.

LIU, Z. *et al.* Do we underestimate the concentration of estriol in raw municipal wastewater? **Environmental Science and Pollution Research**, v. 22, n. 6, p. 4753–4758, 2015.

LU, H. *et al.* Integrated water quality, emergy and economic evaluation of three bioremediation treatment systems for eutrophic water. **Ecological Engineering**, v. 69, p. 244–254, 2014.

MALIK, A. Environmental challenge vis a vis opportunity: The case of water hyacinth.

Environment International, v. 33, n. 1, p. 122–138, 2007.

MANJUNATHA, J. G. Electroanalysis of estriol hormone using electrochemical sensor. **Sensing and Bio-Sensing Research**, v. 16, p. 79–84, 2017.

MONARD, MC; BARANAUSKAS, JÁ. **Sistemas inteligentes-Fundamentos e aplicações**. Barueri, SP: Ed. Manole, 2003. p. 89-114.

SOUZA, S. M. *et al*. Importância da morfologia radicular na eficiência da aquisição de fósforo. Sete Lagoas: Embrapa Milho e Sorgo, 2010. 33 p. : il. (Documentos/Embrapa Milho e Sorgo 105).

MA, M.; HUANGA, M.; LENGC, P. School Abundance and distribution of immature mosquitoes in urban rivers proximate to their larval habitats. **Acta Tropica**, v. 163, p. 121–129, 2016. ;

MA, X. *et al.* Spatial patterns of enzyme activities in the rhizosphere: Effects of root hairs and root radius. **Soil Biology and Biochemistry**, v. 118, p. 69-78, 2018.

NG, Y. S.; CHAN, D. J. C. Wastewater phytoremediation by *Salvinia molesta*. **Journal of Water Process Engineering**, v. 15, p. 107–115, 2017.

NG, Y. S.; JUINN, D.; CHAN, C. Wastewater phytoremediation by Salvinia molesta. **Journal of Water Process Engineering**, v. 15, p. 107–115, 2017.

NI, Z. *et al.* Combination of aquifer thermal energy storage and enhanced bioremediation: Biological and chemical clogging. **Science of the Total Environment**, v. 613–614, p. 707–713, 2018.

OLATUNJI, O. S. *et al.* Determination of selected steroid hormones in some surface water around animal farms in Cape Town using HPLC-DAD. **Environmental Monitoring and Assessment**, v. 189, n. 7, Article number: 363, 2017. https://doi.org/10.1007/s10661-017-6070-8.

OLIVEIRA, C. *et al.* Photodegradation behaviour of estriol: An insight on natural aquatic organic matter influence. **Chemosphere**, v. 159, p. 545–551, 2016.

PAVLINERI, N.; TH, N.; TSIHRINTZIS, V. A. Constructed Floating Wetlands : A review of research , design , operation and management aspects , and data meta-analysis. **Chemical Engineering Journal**, v. 308, p. 1120–1132, 2017.

PAZ-ALBERTO, A. M.; SIGUA, G. C. Phytoremediation: A Green Technology to Remove Environmental Pollutants. **American Journal of Climate Change**, v. 02, n. 01, p. 71–86, 2013.

PEARSE, A. G. E. **Histochemistry, theoretical and applied: preparative and optical technology**. 4th. ed. Edinburgh: Churchill Livingston, 1980. v. 1. 439 p.

PEREIRA, F. J. *et al.* Atividade do sistema antioxidante e desenvolvimento de aerênquima em raízes de milho 'Saracura'. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 45, n. 5, p. 450-456, 2010.

PINAFFI, C. D.; SANTOS, C. H. Volatilization of ammonia in systems of treatment of swine manure with aquatic macrophytes. **Brazilian Journal of Biology**, v. 79, n. 3, p. 423–431, 2019.

PLACEK, A. *et al.* Improving the phytoremediation of heavy metals contaminated soil by use of sewage sludge. **International journal of phytoremediation**. v. 18, n. 6, p. 605-618. 2016.

QIN, H. *et al.* Site test of phytoremediation of an open pond contaminated with domestic sewage using water hyacinth and water lettuce. **Ecological Engineering**, v. 95, p. 753–762, 2016.

QU, M. *et al.* Phytoextraction and biodegradation of atrazine by *Myriophyllum spicatum* and evaluation of bacterial communities involved in atrazine degradation in lake sediment. **Chemosphere**, v. 209, p. 439–448, 2018.

RAJ, K. *et al.* Advances in exopolysaccharides based bioremediation of heavy metals in soil and water: A critical review. **Carbohydrate Polymers**, v. 199, p. 353–364, 2018.

RAMÍREZ-SÁNCHEZ, I. M. *et al.* Resource efficiency analysis for photocatalytic degradation and mineralization of estriol using TiO2 nanoparticles. **Chemosphere**, v. 184, p. 1270–1285, 2017.

RAÚL, V.; LLANTOY, P.; NEGRÓN, A. C. V. Estudio de los parámetros fisicoquímicos para la fitorremediación de cadmio (II) y mecurio (II) com la especie *Eichhornia crassipes* (jacinto de agua). **Revista de la Sociedad Química del Perú**, v. 80, n. 3, p. 164–173, 2014.

RAYMUNDO-PEREIRA, P. A. *et al.* Sensitive detection of estriol hormone in creek water using a sensor platform based on carbon black and silver nanoparticles. **Talanta**, v. 174, p. 652–659, 2017.

RAVEN, P. H.; EVERT, R. F.; EICHHORN, S. E. Biologia Vegetal. 7ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2007. 830 p.

REZANIA, S. *et al.* Perspectives of phytoremediation using water hyacinth for removal of heavy metals , organic and inorganic pollutants in wastewater. **Journal of Environmental Management**, v. 163, p. 125–133, 2015.

RIZZO, P. F. *et al.* Remediation of feedlot effluents using aquatic plants. **Revista de la Facultad de Ciencias Agrarias**, v. 44, n. 2, p. 47–64, 2012.

SAMAJ, J. BALUŠKA, F.; MENZEL, D.. New signalling molecules regulating root hair tip growth. **Trends in plant science**, v. 9, n. 5, p. 217-220, 2004.

SANTOS, K. D. *et al.* Electroanalytical determination of estriol hormone using a boron-doped

diamond electrode. **Talanta**, v. 80, n. 5, p. 1999–2006, 2010.

SHAMMOUT, M. W.; ZAKARIA, H. Water lentils (duckweed) in Jordan irrigation ponds as a natural water bioremediation agent and protein source for broilers. **Ecological Engineering**, v. 83, p. 71–77, 2015.

SHARMA, V.; PANT, D. Structural basis for expanding the application of bioligand in metal bioremediation: A review. **Bioresource Technology**, v. 252, p. 188–197, 2018.

SHORE, L. S.; SHEMESH, M. Naturally Produced Steroid Hormones and Their Release Into the Environment. **Pure and Applied Chemistry**, v. 75, p. 1859-1871, 2003.

SHIN, Lung-Jiun *et al.* Ectopic ferredoxin I protein promotes root hair growth through induction of reactive oxygen species in Arabidopsis thaliana. **Journal of plant physiology**, v. 168, n. 5, p. 434-440, 2011.

SOUZA, V. C.; LORENZI, H. **Botânica sistemática**: guia ilustrado para identificação das famílias de Angiospermas da flora brasileira, baseado em APG II. Nova Odessa, SP: Instituto Plantarum, 2005. 640 p.

SOTHE, C. *et al.* Comparative performance of convolutional neural network, weighted and conventional support vector machine and random forest for classifying tree species using hyperspectral and photogrammetric data. **GIScience & Remote Sensing**, v. 57, n. 3, p. 369-394, 2020.

SURI, R. *et al.* Saliva Estriol Levels in Women with and Without Prenatal Antidepressant Treatment. **Biological psychiatry**. v. 64, p. 533-537. 2008.

STANISLAS, T.; JAILLAIS, Y. Plant Cell Biology: How to Give Root Hairs Enough ROPs? **Current Biology**, v. 29, n. 11, p. 405-407, 2019.

TAN, Y. *et al.* Three CNGC family members, CNGC5, CNGC6, and CNGC9, are required for constitutive growth of Arabidopsis root hairs as Ca2+-permeable channels. **Plant Communications**, v. 1, n. 1, p. 100001, 2020.

THAMAGA, K. H.; DUBE, T. Remote sensing of invasive water hyacinth (*Eichhornia crassipes*): A review on applications and challenges. **Remote Sensing Applications: Society and Environment**, v. 10, p. 36–46, 2018.

TING, W. H. T. *et al.* Application of water hyacinth (*Eichhornia crassipes*) for phytoremediation of ammoniacal nitrogen: A review. **Journal of Water Process Engineering**, v. 22, p. 239–249, 2018a.

TING, W. H. T. *et al.* Application of water hyacinth (*Eichhornia crassipes*) for phytoremediation of ammoniacal nitrogen: A review. **Journal of Water Process Engineering**,

v. 22, p. 239–249, 2018b.

UEDA, M. *et al.* A protein from *Pleurotus eryngii* var. *tuoliensis* C.J. Mou with strong removal activity against the natural steroid hormone, estriol: Purification, characterization, and identification as a laccase. **Enzyme and Microbial Technology**, v. 51, n. 6–7, p. 402–407, 2012.

VALIPOUR, A.; RAMAN, V. K.; AHN, Y. H. Effectiveness of domestic wastewater treatment using a Bio-hedge water hyacinth wetland system. **Water (Switzerland)**, v. 7, n. 1, p. 329–347, 2015.

VENU, H. *et al. Eichhornia crassipes* biodiesel as a renewable green fuel for diesel engine applications: performance, combustion, and emission characteristics. **Environmental Science and Pollution Research**, v. 26, n. 18, p. 18084–18097, 2019.

VIKRANT, K. *et al.* Recent advancements in bioremediation of dye: Current status and challenges. **Bioresource Technology**, v. 253, p. 355–367, 2018.

VYMAZAL, J. The use of hybrid constructed wetlands for wastewater treatment with special attention to nitrogen removal: A review of a recent development. **Water Research**, v. 47, n. 14, p. 4795–4811, 2013.

WANG, Z. *et al.* Nitrogen removal from Lake Caohai, a typical ultra-eutrophic lake in China with large scale confined growth of *Eichhornia crassipes*. **Chemosphere**, v. 92, n. 2, p. 177–183, 2013.

WU, X. *et al.* Evaluation of the potential of anoxic biodegradation of intracellular and dissolved microcystins in lake sediments. **Journal of Hazardous Materials**, v. 286, p. 395–401, 2015.

XIAO, J. *et al.* Dynamic remediation test of polluted river water by Eco-tank system. **Environmental Technology**, v. 34, n. 4, p. 553–558, 2013.

XIAO, J. *et al.* An Eco-tank system containing microbes and different aquatic plant species for the bioremediation of N,N-dimethylformamide polluted river waters. **Journal of Hazardous Materials**, v. 320, p. 564–570, 2016.

XU, X. *et al.* Eutrophication triggers the shift of nutrient absorption pathway of submerged macrophytes: Implications for the phytoremediation of eutrophic waters. **Journal of Environmental Management**, v. 239, p. 376–384, 2019.

YANIV, Z. *et al.* Cadernos de análise de imagem SimpleITK: um ambiente colaborativo para educação e pesquisa reproduzível. **Journal of digital imaging** , v. 31, n. 3, p. 290-303, 2018.

ZHANG, X. *et al.* Temporal pattern in the bloom-forming macroalgae *Chaetomorpha linum* and *Ulva pertusa* in seagrass beds, Swan Lake lagoon, North China. **Marine Pollution**

Bulletin, v. 89, n. 1–2, p. 229–238, 2014.

ZHANG, De-Jian *et al.* Auxin modulates root-hair growth through its signaling pathway in citrus. **Scientia Horticulturae**, v. 236, p. 73-78, 2018.

ZHANG, D. *et al.* Root hair development of *Poncirus trifoliata* grown in different growth cultures and treated with 3-indolebutyric acid and ethephon. **Scientia Horticulturae**, v. 160, p. 389-397, 2013.

ZHANG, X. *et al.* Rhizosphere hotspots: Root hairs and warming control microbial efficiency, carbon utilization and energy production. **Soil Biology and Biochemistry**, v. 148, 107872, 2020. https://doi.org/10.1016/j.soilbio.2020.107872.